



THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : Sciences pour l'Environnement Gay Lussac.

Secteur de Recherche : Physiologie, biologie des organismes, populations, interactions

Présentée par :

Maxime LE HENANFF

Stratégie reproductrice d'une espèce de lézard à pontes multiples (*Podarcis muralis*) dans un environnement contraignant

Directeur de Thèse : Olivier LOURDAIS

Soutenue le 05 Décembre 2011

devant la Commission d'Examen

JURY

Manuel MASSOT (CR, UPMC, UMR 7625).....Rapporteur
Yann VOITURON (Professeur, LEHNA, UMR 5023).....Rapporteur
Pierre GREVE (Professeur, Université de Poitiers, UMR 6556).....Examineur
Jean-François LE GALLIARD (CR, UPMC, UMR 7625).....Examineur
Olivier LOURDAIS (CR, CEBC, UPR 1934).....Directeur de Thèse
Xavier BONNET (DR, CEBC, UPR 1934).....Co-directeur

Remerciements

J'avais prévu d'écrire ces quelques lignes avant la rédaction complète du manuscrit c'est-à-dire avant plusieurs nuits grises et ainsi limiter les risques d'oubli mais c'est raté ! Avant de passer à des remerciements plus personnels, je voudrais remercier l'ensemble des personnes que j'ai croisées pendant toutes ces années et qui ont contribué à la bonne ambiance qui a accompagné cette thèse.

Lors de mon arrivée au CEBC, un jour d'octobre 2005 pour une semaine de « découverte » avec la promotion du Master 1 (Biologie des Organismes et des Populations) de Poitiers, je ne pensais vraiment pas être encore là 6 ans après ! C'est avec émotion, nostalgie, joie, peine que je vais tenter de me souvenir de toutes les personnes côtoyées.

J'adresse tout d'abord (hiérarchie oblige !) mes remerciements aux 2 directeurs du CNRS-CEBC qui m'ont successivement accueilli au sein de leur laboratoire : Patrick Duncan puis Vincent Bretagnolle.

Ensuite (toujours d'un point de vue hiérarchique !), je tiens tout particulièrement à remercier Olivier pour m'avoir renouvelé sa confiance à plusieurs reprises : stages de Master 1 et Master 2 ainsi que pour ce doctorat. Merci également pour ton implication totale dans ce projet et pour l'ensemble des choses que j'ai apprises à tes côtés. Merci à Xavier d'avoir accepté de prendre la direction officielle de cette thèse, pour ses conseils avisés et sa bonne humeur. Enfin, un grand merci également à Sandrine Meylan qui malgré la distance, les cours, la recherche, la vie de famille et des contacts irréguliers a toujours su prendre du temps pour m'aider et s'investir profondément dans ce travail de thèse.

Merci à José Martin et surtout Gabriel Blouin-Demers pour les rares échanges que nous avons eu ensemble mais toujours très appréciés.

Je remercie les rapporteurs : Manuel Massot et Yann Voituron ainsi que les examinateurs : Jean-François Le Galliard et Pierre Grève pour avoir accepté de relire et corriger ce travail malgré les multiples changements...

Je remercie également Sylvie Perez de l'université de Poitiers et Sabrina Biais de l'école doctorale Gay Lussac pour leur disponibilité, leur gentillesse et avoir toujours facilité les démarches administratives malgré la distance.

Merci aux personnes qui ont contribué à la relecture du manuscrit : Miches, Thibaut, Sophie, Alex, Andréaz et Mathieu et un grand merci à Chou pour la mise en forme et l'aide bibliographique

Je tiens maintenant à remercier vivement l'ensemble des stagiaires qui ont participé à ce travail : Salomé, Benjamin, Gersende, Nathanaël, Sébastien, Emeline, Olivier, Abel, Auriane, Marie, François, Alice, Thomas et plus récemment Abdellah qui ont fortement contribué à la capture des individus et la récolte des données. Sans leur aide précieuse, la qualité de cette thèse aurait été impactée.

Je tiens à remercier les personnes suivantes pour leur aide logistique et scientifique :

Un très grand merci à Pierre, Nicole et Patrice Quistinic qui ont fourni une aide considérable dans la réalisation des enclos. Merci également à Christian qui a contribué à leur conception. Merci pour ses différents bricolages en tous genre, ses conseils judicieux et la construction des meubles d'élevage des lézards.

André Mariani m'a fourni une aide précieuse au niveau électronique et informatique et je le remercie pour sa patience et le prêt de matériel divers et variés (fer à souder, étain, batteries, gaine thermorétractable...).

Merci également à Bernard et surtout Antoine du Zoodyssée pour ses conseils vétérinaires précieux et les dépannages en foin et grillons.

Merci à Micheline pour ses talents culinaires et Christophe pour sa bonne humeur... à moins que ce soit l'inverse !

Merci également à Yanis, mon boulanger préféré, qui par ses fantastiques viennoiseries m'aidait le matin à bien commencer la journée !

Merci aux filles du laboratoire d'analyses biochimiques : Charline, Colette et Stéphanie pour leur aide dans le dosage des taux de corticostérone et les différentes commandes de matériel.

Murielle Richard a effectué un travail conséquent dans les analyses génétiques de multipaternité.

Merci à David pour son aide dans les analyses statistiques.

Voici venu le temps de remercier la A-Team :

Afin d'éviter les jalousies, je vais procéder par ordre chronologique. Même si je l'ai déjà fait plus haut, merci au chef (I love it when a plan comes together !). Merci à Roger, parce que les routiers c'est sympa !

Merci beaucoup à Sophie, voilà maintenant plus de 3 ans que dure cette colloc' de bureau ! Merci de m'avoir supporté tout ce temps malgré mon sens de l'humour et mes blagues parfois « ras des pâquerettes ». Les chamailleries thermiques et trophiques que nous avons eues coïncident avec les

compromis auxquels doivent faire face les lézards des murailles, j'y vois là un signe ! En principe il y aura des variations ontogéniques... Bonne chance pour la suite !

Merci à Miches pour son aide sans limites et son sens de l'humour qui rivalise fortement avec le mien. J'espère connaître Charlotte bientôt, si j'ai une perm' à Nantes !

Merci à Amine, j'ai bien apprécié le terrain « geckos » et les divers moments passés ensemble, au baby notamment, lors des passages à Chizé.

Enfin merci aux nouvelles recrues Alex et Andréaz pour leur bonne humeur, leur volonté de toujours aider et leur sympathie. Tâchez de poursuivre le travail de qualité de vos prédécesseurs...

Enfin d'autres personnes n'ont pas la chance d'appartenir à l'équipe Ecophy mais ont pris une place importante dans mon cœur au fil de ces années. Je pense bien sûr à Thibaut, seule personne avec qui j'ai mangé des alouettes ! Merci pour les gueuletons en tous genre (je sais c'est pas très original) et pour tous ces bons moments passés ensemble et à venir. Merci à Hélène pour sa joie de vivre, ses gadennades, allez « Faut savoir mettre du sucre dans son café ! ». Merci à Matthieu pour sa gentillesse, les merveilleux repas passés ensemble, encore il n'y a pas si longtemps...

Enfin merci aux « extérieurs » : Zézette, Cocotte, Greg... pour leur amitié et soutien.

Merci aux adeptes du Chizé Poker Tour : Roger, Cocotte, Virginie, Philippe, Marie, Cyril, Miches, Frankoï pour les sympathiques soirées passées ensemble à la conquête du bracelet ! Je sais pas vous mais moi ça me manque...

Merci aux foteux du mercredi que ce soit sur les terrains ou devant la télé. J'avoue le canapé c'est plus confortable !

Merci également aux différents partenaires du labo pour leur bonne humeur et leur sympathie. Merci à Cyril, Hervé, Jean-Marie et Sophie de l'ONCFS, merci à Marie, Elodie, Annie & co de l'IFREE et l'équipe du Zoodyssée : Laurent, Patrice, Guillaume, Sébastien, Estelle, Bernard et Antoine.

Merci à mes différents voisins chizéens qui se sont succédés pendant 4 années pour leur entraide, les dépannages alimentaires et leur gentillesse. Merci donc à Olive, Thomas, Marie, Thibaut, Vincent et Emilie.

Bien entendu mes pensées vont également à mes amis et ma famille, tout particulièrement mes parents pour avoir compris et adhéré à mes choix. Merci beaucoup pour votre soutien... et toutes mes excuses pour cette thèse déjà incompréhensible mais en plus écrite à moitié en anglais ! Merci également au p'tit fréro Antoine et à la Bell's Sandrine pour leur soutien.

Merci également à la belle famille (Anne-Marie, Yves, Naïg, Youna et Ghislain) pour avoir autant facilité mon intégration.

Merci enfin à toi Chou pour ton amour sans faille (et aussi de m'avoir supporté ces dernières semaines pas toujours très drôles), merci pour l'aide à la mise en forme de la thèse et bibliographique. Promis j'arrive bientôt à Lyon... Je t'aime !

Merci à vous tous...

RESUME

Stratégie reproductrice d'une espèce de lézard à pontes multiples (*Podarcis muralis*) dans un environnement contraignant

Les êtres vivants sont exposés aux variations environnementales (notamment thermiques) à l'échelle journalière, saisonnière ou annuelle. Chez les ectothermes, la température du milieu affecte directement la température corporelle et donc la physiologie, les performances locomotrices, l'activité et de façon ultime la « fitness » des individus. Le développement embryonnaire est une étape très sensible aux fluctuations thermiques et les ectothermes ont déployé une diversité de moyens pour en atténuer les effets. Chez les espèces à pontes annuelles multiples, la reproduction s'étale sur une période étendue pendant laquelle les conditions thermiques saisonnières varient fortement. Ces fluctuations peuvent profondément contraindre l'activité des individus et affecter les trajectoires de développement. Les déterminants du succès reproducteur impliquent donc la prise en compte des contraintes environnementales mais aussi de l'ontogénie des individus. En effet, chez les espèces à croissance indéterminée, la nature des compromis d'allocation devrait fortement dépendre de la taille et de l'âge des individus. Des changements ontogéniques dans les stratégies d'allocation de la ressource sont attendus en permettant une optimisation du succès reproducteur.

Au cours de cette thèse, nous avons examiné les stratégies de reproduction chez une espèce à pontes multiples, le lézard des murailles (*Podarcis muralis*) dans un contexte thermique contraignant (climat océanique, Centre Ouest de la France). A l'aide d'une approche expérimentale, nous avons mis en évidence le fort impact des conditions thermiques sur la qualité du développement embryonnaire et l'importance de la phénologie (date de ponte) sur les trajectoires individuelles. Les dates de ponte précoces et les températures d'incubation élevées favorisent la survie des jeunes. Le suivi CMR lancé en 2006 a permis de mettre en évidence l'importance de l'âge et de la taille corporelle des femelles dans le compromis d'allocation. Ainsi les individus âgés cessent d'allouer leurs ressources dans la croissance et favorisent la capitalisation de l'énergie. Cette transition permet de soutenir un effort reproducteur plus élevé et un engagement plus précoce dans la reproduction. Des contraintes énergétiques induites par la reproduction ont également pu être révélées en étudiant les variations saisonnières des taux de corticoïdes et de l'ectoparasitisme. Enfin l'étude de la multipaternité souligne l'influence de la taille des femelles et de la séquence de ponte sur la stratégie de reproduction.

Mots-clés : compromis d'allocation, corticostérone, développement embryonnaire, ectotherme, plasticité phénotypique, qualité individuelle, température, trajectoire ontogénique.

SUMMARY

Reproductive strategy of a species of lizard with multiple clutches (*Podarcis muralis*) in a challenging environment

Living organisms are exposed to environmental fluctuations (including temperature) at the daily, seasonal or annual scale. In ectotherms, environmental temperature directly affects body temperature and thus the physiology, locomotory performance, activity and ultimately the fitness of individuals. Embryonic development is a very sensitive step to thermal fluctuations and ectotherms have deployed a variety of means to buffer its effects. In annual multiple clutches species, reproduction spread over an extended period during which the seasonal thermal conditions vary widely. These fluctuations can profoundly constrain the activity of the individuals and affect developmental trajectories. Determinants of reproductive success thus involve the consideration of environmental constraints as well as ontogenetic trajectories. Indeed, in indeterminate growth species, the nature of allocation trade-offs should strongly depend on the size and age of the individuals. Ontogenetic changes in strategies for resource allocation are expected to optimize reproductive success.

In this thesis, we examined the reproductive strategies in a species with multiple clutches, the wall lizard (*Podarcis muralis*) in a thermally challenging context (oceanic climate, Central West of France). Using an experimental approach, we demonstrated the strong impact of thermal conditions on the quality of embryonic development and the importance of phenology (laying date) on individual trajectories. Early laying dates and incubation temperatures promote high survival of juveniles. The population monitoring initiated in 2006 has highlighted the importance of age and body size of females in the allocation trade-offs. Thus older individuals cease to allocate their resources in growth and encourage the capitalization of energy. This ontogenic shift supports a higher reproductive effort and an earlier engagement in reproduction. Energy constraints induced by reproduction have also been revealed by studying the seasonal variations in levels of corticosteroids and ectoparasites. Finally the study of multipaternity emphasizes the influence of female size and laying sequence on the reproductive strategy.

Keywords: Allocation trade-offs, corticosterone, embryonic development, ectothermic, phenotypic plasticity, individual quality, temperature, ontogenetic trajectory.

Cette thèse a été conduite au Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (Unité Propre de Recherche 1934 du Centre National de la Recherche Scientifique), dans l'équipe Ecophysiologie Evolutive, grâce à un contrat ANR (Projet ECTOCLIM).

Elle a été effectuée dans l'Ecole Doctorale Gay Lussac - Sciences pour l'Environnement, à l'Université de Poitiers (département Sciences Fondamentales et Appliquées).



SOMMAIRE

TABLE DES FIGURES	13
INTRODUCTION.....	18
1. LES FLUCTUATIONS ENVIRONNEMENTALES	19
1.1 Influences des fluctuations environnementales.....	19
1.2 Les réponses aux changements	20
2. CONTRAINTES REPRODUCTRICES ET ALLOCATION DE L'ÉNERGIE	21
2.1 Théorie des traits d'histoire de vie et modèle d'optimalité	21
2.2. Cas des espèces à croissance indéterminée.....	24
2.3. Compromis d'allocation énergétique.....	25
2.4. Croissance déterminée et indéterminée	29
3. DIVERSITÉ DES STRATÉGIES REPRODUCTRICES	29
3.1. Cadre écophysiological.....	29
3.2. Le continuum "income" et "capital"	31
4. LES ECTOTHERMES	32
4.1. Notions d'ectothermie	32
4.2. Dépendance thermique	32
4.3. Stratégies de thermorégulation.....	34
4.4. Sensibilité embryonnaire	35
4.5. Phénologie et contraintes environnementales	35
4.6. Le modèle Squamate	36
5. PROBLÉMATIQUE DE LA THÈSE ET PRÉDICTIONS GÉNÉRALES	37
Chapitre 1 : Influence des conditions de développement sur les trajectoires individuelles.....	37
Chapitre 2 : Stratégies reproductrices et ontogénie.....	38
Chapitre 3 : Contraintes de reproduction : variations saisonnières des taux de corticostérone et de l'ectoparasitisme.....	39
MATÉRIEL D'ÉTUDE ET MÉTHODES.....	42
1. MODÈLE D'ÉTUDE : LE LEZARD DES MURAILLES (PODARCIS MURALIS, LAURENTI 1768).....	43
1.1. Morphologie	43
1.2. Biogéographie et habitat.....	44
1.3 Comportement.....	45
1.4. Cycle d'activité et reproduction	46

2. SITE D'ETUDE	50
2.1 Situation géographique	50
2.2 Localisation de la population	51
2.3 Climat.....	53
2.4 Contraintes de thermorégulation et intérêt des plaques refuges.....	54
3. METHODES D'ETUDE	57
3.1 Suivi de population	57
3.2. Maintien en captivité et manipulation des conditions de développement.....	60
3.3. Variables collectées	62
RESULTATS	68
CHAPITRE 1	70
Résumé du chapitre	71
Manipulation des conditions de développement et impact sur les trajectoires individuelles	73
CHAPITRE 2	94
Résumé du chapitre	95
1) Etude des compromis d'allocation.....	97
2) La phénologie comme déterminant de la stratégie de reproduction (monoandrie vs. polyandrie) chez le lézard des murailles, <i>Podarcis muralis</i>	113
3) Article méthodologique : développement de 14 nouveaux microsatellites chez le lézard des murailles (<i>Podarcis muralis</i>)	124
CHAPITRE 3	128
Résumé du chapitre	129
1) Modulation de la réponse adrénocorticale	131
2) Déterminants de l'ectoparasitisme chez le lézard des murailles, <i>Podarcis muralis</i> : influences saisonnières et contraintes reproductrices.....	144
DISCUSSION.....	154
REPRODUCTION EN MILIEU TEMPERE.....	155
COUTS ET BENEFICES DE LA THERMOREGULATION.....	156
CONDITIONS THERMIQUES LOCALES	157
1. CONTRAINTES THERMIQUES ET SUCCES REPRODUCTEUR	158
1.1. Sensibilité embryonnaire	158
1.2. Effets à long terme.....	159
1.3. Possibilités de réponses compensatoires.....	160

2. ONTOGENIE DES COMPROMIS ET STRATEGIE D'ALLOCATION	161
2.1. <i>Changement ontogénique dans les priorités d'allocation et la phénologie de la reproduction</i>	161
2.2. <i>Importance des réserves</i>	162
2.3. <i>Part relative des stratégies d'allocation (« income » vs. « capital ») selon la condition corporelle initiale et la séquence de ponte</i>	163
3. CONTRAINTES REPRODUCTRICES ET STRATEGIE D'APPARIEMENT	163
3.1. <i>Variations hormonales</i>	163
3.2. <i>Variations dans le parasitisme</i>	165
3.3. <i>Stratégies d'appariement</i>	166
4. BILAN	167
4.1. <i>Déterminants de la survie : influence de la saison, de l'âge et de l'investissement reproducteur</i>	167
4.2. <i>Importance des trajectoires individuelles</i>	168
4.3. <i>Limites dans l'exploration ontogénique</i>	169
5. PERSPECTIVES	170
5.1 <i>La queue comme support énergétique ?</i>	170
5.2. <i>Influence des réserves sur la date d'émergence et la thermorégulation</i>	173
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	174
 ANNEXE 1 : SELECTIONS DE SITES DE PONTES ET CONDITIONS D'INCUBATION	207
 ANNEXE 2 : PLANCHE DE DETERMINATION DU SEXE	210

Table des figures

<u>Figure 1</u> : Diagramme de l'optimisation du compromis entre survie adulte annuelle et fécondité annuelle. L'aire à l'intérieur de la courbe représente l'éventail des phénotypes possibles, parmi lesquels ceux ayant la valeur sélective potentielle maximale sont représentés à la périphérie. La pente de la droite ($-1/T$) est la valeur négative de l'inverse de l'âge moyen (T) d'une femelle au moment de la production de sa descendance. Source : Ricklefs 2000.....	22
<u>Figure 2</u> : Modèle de production reproductrice en fonction de l'âge à maturité. Dans cet exemple, l'âge optimal à maturité est de 70 jours. Source : Stearns 1992.....	23
<u>Figure 3</u> : (A) Influence de l'âge sur la taille de portée chez une population d'élans. Les triangles indiquent la taille de portée moyenne. Les barres verticales correspondent à l'erreur standard. (B) Valeur reproductrice de Fisher chez cette même population. Source : Ericsson <i>et al.</i> 2001.....	23
<u>Figure 4</u> : Relation entre la fécondité absolue et la longueur totale chez des sardinelles rondes (<i>Sardinella aurita</i>) âgées de 2 (cercles blancs), 3 (cercles gris) et 4 ans (cercles noirs). Source : Tsikliras <i>et al.</i> 2007.....	24
<u>Figure 5</u> : Principe d'allocation selon Williams 1966.....	26
<u>Figure 6</u> : Preuve d'un compromis d'allocation évolutif entre les armes (cornes) et les testicules chez le scarabée du genre <i>Onthophagus</i> (Coléoptère : Scarabidé). (A) Au sein de l'espèce <i>O. nigriventris</i> , les mâles produisent 2 cornes thoraciques. (B) Les mâles cautérisés pour ne pas développer de cornes (□) sont plus grands et ont développé des testicules disproportionnellement larges en comparaison avec des mâles contrôle qui ont développé des cornes (●). La régression linéaire est présentée avec son intervalle de confiance à 95%. (Encart B) Masse résiduelle des testicules des scarabées cautérisés et contrôles après ajustement par la masse corporelle. Photo : O. Helmy. Source : Simmons & Emlen 2006.....	27
<u>Figure 7</u> : Compromis entre la taille (masse moyenne) et le nombre d'œufs chez <i>Rana dalmatina</i> . La figure montre la régression linéaire et les intervalles de confiance à 95%. Source : Weddelling <i>et al.</i> 2005.....	28
<u>Figure 8</u> : Modèle conceptuel décrivant les effets physiologiques au niveau populationnel à travers leurs actions sur l'activité et le budget énergétique. Ce modèle assume que les ressources (eau, énergie) nécessaires à la croissance et la reproduction constituent des déterminants majeurs de la valeur sélective et que l'accumulation de ces ressources peut être utilisée comme un indice du succès écologique des individus. Le succès d'alimentation et le taux d'assimilation déterminent le taux net de ressource assimilée (énergie, eau, nutriments, etc.) disponible pour la croissance (G), la maintenance (M), la mise en réserve (S) et la reproduction (R). Cette allocation influence les budgets énergétiques, les risques de prédation, les taux de croissance et le succès reproducteur. Source : O'Connor <i>et al.</i> 2006 (d'après Dunham <i>et al.</i> 1989).....	30
<u>Figure 9</u> : Courbe de performance en fonction de la température chez un ectotherme. Source : Angilletta <i>et al.</i> 2002.....	33
<u>Figure 10</u> : Illustration du dimorphisme sexuel : photographies d'une femelle (à gauche) et d'un mâle (à droite).....	43

<u>Figure 11</u> : Aire de répartition du lézard des murailles, <i>Podarcis muralis</i> . Source : Gasc <i>et al.</i> 1997.....	44
<u>Figure 12</u> : Comportement de thermorégulation chez un lézard des murailles adulte. Ce mâle présente un ajustement postural (ventre décollé du substrat) afin de capter au mieux les rayons du soleil.....	45
<u>Figure 13</u> : Mâle de lézard des murailles en position de vigilance ou "scanning".....	46
<u>Figure 14</u> : Cycle d'activité des mâles.....	47
<u>Figure 15</u> : Photographie d'un lézard des murailles mâle illustrant les ocelles bleus sur la face ventrale.....	47
<u>Figure 16</u> : Cycle d'activité des femelles (exemple d'une femelle présentant deux épisodes de reproduction).....	48
<u>Figure 17</u> : Photographies d'une femelle gravide (à gauche) et d'une femelle post-ponte (à droite), les plis sur les flancs sont bien visibles.....	48
<u>Figure 18</u> : Relation entre la température d'incubation (constante) et la durée d'incubation chez le lézard des murailles (<i>Podarcis muralis</i>). Source : Braña & Ji 2007, d'après les données de Van Damme <i>et al.</i> 1992 et Ji & Braña 1999.....	49
<u>Figure 19</u> : Localisation du site d'étude.....	50
<u>Figure 20</u> : Plan du site d'étude. Une maille de 5 m de côté ainsi qu'un système de repérage ont été appliqués afin de faciliter le relâcher des individus.....	52
<u>Figure 21</u> : Diagramme ombrothermique présentant les conditions environnementales au sein du site d'étude sur l'année.....	53
<u>Figure 22</u> : Plan du labo présentant les 6 transects.....	54
<u>Figure 23</u> : Pourcentage d'individus sur les plaques en caoutchouc en fonction de la température environnementale. Chaque point correspond à un transect.....	55
<u>Figure 24</u> : Photographie de 4 femelles gravides en thermorégulation sur un tapis de carrière (Flexbelt).....	56
<u>Figure 25</u> : A gauche : Capture d'un lézard des murailles par la technique de « noosing » ou lasso. A droite : Nœud coulant fixé sur une canne à pêche et utilisé pour de la capture des lézards...57	57
<u>Figure 26</u> : Cautère Aaron basse température utilisé pour le marquage des lézards.....	58
<u>Figure 27</u> : Scans réalisés au CEBC montrant l'évolution du marquage du mâle 1195. (A) Marquage à la 1ère capture (26 février 2009) ; (B) 2ème capture (environ 2 mois après le marquage, 4 mai 2009) et (C) 3ème capture (environ 4.5 mois après le marquage, 10 juillet 2009.....	59
<u>Figure 28</u> : Incubateur utilisé pour manipuler les conditions d'incubation des œufs.....	60
<u>Figure 29</u> : Eclosion d'un œuf de lézard des murailles.....	60

<u>Figure 30</u> : Aménagement des enclos extérieurs utilisés afin d'explorer les effets long-terme du développement.....	61
<u>Figure 31</u> : Exemple de mesures individuelles réalisées sur un scan.....	62
<u>Figure 32</u> : Exemple de mesures effectuées pour adresser l'état des réserves caudales chez une femelle de lézard des murailles.....	63
<u>Figure 33</u> : Echographie de la femelle 1333 du 21 avril 2010. L'examen révèle la présence d'œufs clairement formés et calcifiés. Cette femelle pondra 7 œufs en captivité le 5 mai et tous écloreont.....	64
<u>Figure 34</u> : Scans de la femelle 1686 (à gauche) et de la femelle 1420 (à droite) illustrant la présence de tiques.....	65
<u>Figure 35</u> : A gauche : Réalisation d'une prise de sang dans le sinus orbital chez un lézard des murailles. A droite : le sang récolté est transféré dans un Eppendorf et sera ensuite centrifugé afin de prélever le plasma.....	67
<u>Figure 36</u> : Conditions thermiques enregistrées par la station météorologique de Niort sur la période 1990-2010. La ligne continue représente les maximales mensuelles moyennes et les lignes en pointillés représentent les températures maximales mensuelles extrêmes.....	157
<u>Figure 37</u> : Variations du volume caudal au cours des épisodes de pontes. NR : non reproductrice, GR : gravidité, PP : post-ponte.....	170
<u>Figure 38</u> : Variations du volume caudal au cours de l'année chez les femelles adultes.	171
<u>Figure 39</u> : Influence de l'âge sur la perte des réserves caudales lors de la première ponte. GR : gravide, PP : post-ponte.....	172

« Les espèces qui survivent ne sont pas les espèces les plus fortes, ni les plus intelligentes, mais celles qui s'adaptent le mieux aux changements. »

Charles Darwin



Introduction





1. Les fluctuations environnementales

L'environnement est caractérisé par de profondes variations, d'origine biotique ou abiotique (Meyers & Bull 2002). Les fluctuations biotiques se traduisent par des variations dans l'abondance des parasites et des prédateurs, la disponibilité en ressources trophiques, les compétitions intra et interspécifique. Les fluctuations abiotiques concernent les variations de traits chimiques ou physiques et les variations des conditions climatiques (Konstantinov *et al.* 2003). Toutes ces fluctuations peuvent intervenir sur des intervalles de temps plus ou moins longs.

1.1 Influences des fluctuations environnementales

Si les fluctuations environnementales interviennent à chaque étape de la vie, du développement embryonnaire à la vie adulte, les effets de telles perturbations sont d'autant plus forts que l'individu est impacté tôt dans son développement (Lindström 1999). En effet, les variations environnementales peuvent orienter à la fois les trajectoires ontogéniques et les performances individuelles et sont donc d'importants déterminants de la variation phénotypique. Notamment, les conditions de développement (climat, ressources trophiques, densité) peuvent avoir des effets immédiats sur le poids à la naissance et la croissance (Saether 1997 ; Forchhammer *et al.* 2001) ainsi que des effets à plus long terme sur la survie et les performances de reproduction (Albon *et al.* 1987 ; Gaillard *et al.* 1997 ; Lindström 1999 ; Forchhammer *et al.* 2001 ; Lindström & Kokko 2002). De tels effets peuvent induire des variations de cohortes (Albon *et al.* 1987 ; Gaillard *et al.* 1997 ; Descamps *et al.* 2008).

Les variations de températures sont certainement les plus perceptibles et les plus fréquentes en milieu tempéré. Elles interviennent à l'échelle de la journée (contraste jour/nuit), de la saison ou des années. C'est un paramètre physique fondamental qui affecte à la fois l'écologie, le comportement, la physiologie des organismes (Pörtner 2002), le calage de reproduction (Crick & Sparks 1999) mais aussi la répartition des espèces (Nishiguchi 2000), les densités de populations (Buckley *et al.* 2008) et les besoins en énergie des êtres vivants (Hare *et al.* 2010).



1.2 Les réponses aux changements

En climat tempéré, les fluctuations environnementales telles que la photopériode ou la température sont des séquences prédictibles de changements mais peuvent aussi correspondre à des variations aléatoires de certains paramètres (pic de nourriture, pression de prédation). Grâce à ces indices perceptibles, les organismes peuvent anticiper le meilleur moment pour initier la saison de reproduction, la migration, l'hivernage, etc., tout ceci afin de faire coïncider au mieux leur phénotype (ou celui de leur descendance) avec les conditions attendues (Reed *et al.* 2010).

Par exemple, la plasticité phénotypique est la capacité pour un même génotype d'exprimer une variété de phénotypes en réponse aux variations de l'environnement (Fordyce 2006). La variation d'un trait peut être mesurée et donc exprimée et analysée par une analyse de variance (ANOVA) (Pigliucci 2001). Elle s'exprime sous la forme : $V_P = V_G + V_E + V_{G \times E} + V_{\text{erreur}}$ où V_P correspond à la variance phénotypique totale, V_G la variance génétique, V_E la variance environnementale, $V_{G \times E}$ l'interaction entre le génotype et l'environnement et V_{erreur} la variance inexpliquée. Même si les auteurs attribuent majoritairement la plasticité phénotypique aux traits morphologiques (Schlichting & Pigliucci 1998), elle peut être appliquée à n'importe quel autre trait (biochimique, physiologique ou comportemental) (Agarwala 2007).

La plasticité phénotypique peut être divisée en deux sous-catégories selon le stade où elle est exprimée et son caractère plus ou moins labile. On distingue :

- la flexibilité phénotypique qui consiste en une variation réversible d'un trait phénotypique durant la phase adulte sous l'action de l'environnement (Piersma & Drent 2003 ; West-Eberhardt 2003).
- la plasticité développementale qui résulte d'une orientation, généralement irréversible, d'un trait phénotypique lors du développement embryonnaire, de la croissance juvénile ou de l'apprentissage.

La température environnementale influence la dépense énergétique (Beuchat *et al.* 1979 ; van Marken Lichtenbelt *et al.* 1997) et l'activité (Ernst 1986) de tous les organismes. Une réponse possible à ces variations thermiques est l'acclimatation. L'acclimatation est définie comme l'ajustement de traits physiologiques ou comportementaux en réponse aux changements d'une variable environnementale. L'hypothèse de l'acclimatation bénéfique prédit que des animaux acclimatés à une certaine température ont des meilleures performances ou une meilleure valeur sélective à cette température que d'autres animaux acclimatés à une autre température (Leroi *et al.* 1994). Cette acclimatation aux changements de température a été aussi bien observée chez les



embryons (Du *et al.* 2010), les juvéniles (Guderley & Seebacher 2011) que les adultes (Huey & Berrigan 1996 ; Angilletta 2009).

Tous les individus d'une même population ne sont pas amenés à réagir de la même façon face à ces variations. En effet, les individus diffèrent dans leur capacité à trouver de la nourriture, échapper aux prédateurs, se reproduire... etc. Cette notion de qualité individuelle est au centre de la théorie de la sélection naturelle (Darwin 1859 ; Williams 1966). Certains facteurs tels que l'âge ou l'expérience peuvent influencer la qualité individuelle. Ces différences de qualité individuelle peuvent être exprimées ou non en fonction des conditions environnementales. En effet, seules des conditions défavorables devraient rendre apparentes ces variations (Ardia & Clotfelter 2006 ; Lescroël *et al.* 2009). Ainsi, lors de conditions environnementales fluctuantes et contraignantes, les individus de meilleure qualité devraient se distinguer par une plus grande acquisition de la ressource, une meilleure survie et par des performances reproductrices élevées.

2. Contraintes reproductrices et allocation de l'énergie

2.1 Théorie des traits d'histoire de vie et modèle d'optimalité

Les traits d'histoire de vie désignent l'ensemble des caractères mesurables relatifs aux événements importants de la vie d'un individu et qui contribuent directement à la production et la survie de ses descendants (Lessells 1991 ; Roff 1992 ; Stearns 1992). Si l'objectif ultime de chaque être vivant est de se reproduire afin d'assurer la transmission de ses gènes, des variations majeures dans l'expression de ces traits existent entre les organismes. Par exemple, le nombre d'événements de reproduction au cours de la vie ou d'une année donnée peuvent considérablement varier selon les espèces. Ainsi, le voltinisme traduit le nombre de générations (ou d'événements de reproduction) réalisées par une espèce en une année. Une espèce peut donc être : semivoltine (une génération est produite en plus d'un an), univoltine (une seule génération par an), bivoltine (deux générations par an) ou multivoltine (trois générations par an ou davantage). Il est intéressant de noter qu'une même espèce peut présenter des différences de voltinisme en fonction des années ou de l'âge des individus.



De même, l'effort reproducteur qui peut être défini comme la masse allouée à la reproduction par unité de temps proportionnellement à la masse adulte (Williams 1966) varie entre les espèces (Samson & Werk 1986) et les individus (Williams 1996) et peut impacter la probabilité de survie des organismes. Si les organismes longévifs devraient présenter un effort reproducteur plus faible, il devrait être compensé par une espérance de vie plus importante (Fig. 1) (Charnov *et al.* 2007).

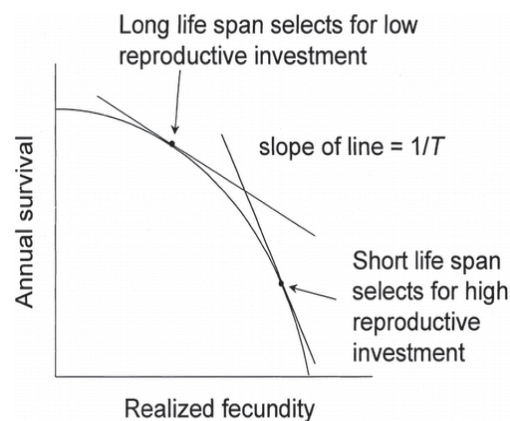


Figure 1 : Diagramme de l'optimisation du compromis entre survie adulte annuelle et fécondité annuelle. L'aire à l'intérieur de la courbe représente l'éventail des phénotypes possibles, parmi lesquels ceux ayant la valeur sélective potentielle maximale sont représentés à la périphérie. La pente de la droite ($-1/T$) est la valeur négative de l'inverse de l'âge moyen (T) d'une femelle au moment de la production de sa descendance.

Source : Ricklefs 2000.

La valeur reproductrice (Fisher 1958) représente l'influence combinée de l'âge sur la survie et la fécondité. Williams (1996) divisa la valeur reproductrice en fécondité actuelle et valeur reproductrice résiduelle. Le compromis entre reproduction actuelle et reproduction future dépend de la valeur reproductrice résiduelle. Une hypothèse centrale est que la reproduction implique des coûts dont la nature dépend de l'âge de l'organisme (Reznick 1992). Les contraintes écologiques et énergétiques orientent ainsi une allocation optimale dans la reproduction. Les jeunes femelles devraient allouer moins dans la reproduction actuelle pour augmenter la croissance et la probabilité de survie et une fécondité future plus importante alors que les vieilles femelles devraient plus allouer dans la fécondité courante et présenter une plus faible probabilité de survie (hypothèse de l'investissement terminal, Williams 1966 ; Clutton-Brock 1984). Ainsi de nombreuses études ont tenté de modéliser l'âge optimal à maturité (Fig. 2).

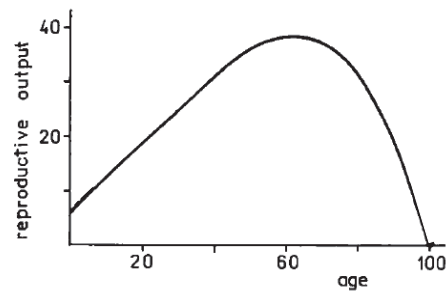


Figure 2 : Modèle de production reproductrice en fonction de l'âge à maturité. Dans cet exemple, l'âge optimal à maturité est de 70 jours.

Source : Stearns 1992.

Chez la plupart des êtres vivants, les performances de reproduction sont très fortement dépendantes de l'âge : le succès reproducteur augmente rapidement au début de la vie, se stabilise puis diminue si un phénomène de sénescence est observé (Fitzpatrick & Wolfenden 1988 ; Kruijt & de Vos 1988 ; McCleery & Perrins 1988 ; Newton 1988 ; Smith 1988 ; Olsson & Shine 1996 ; Massot *et al.* 2011) (Fig. 3).

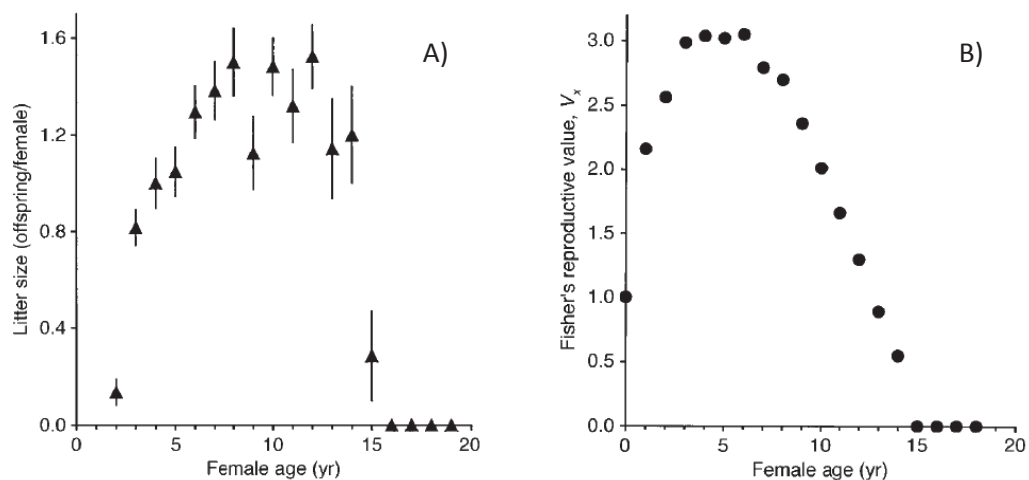


Figure 3 : (A) Influence de l'âge sur la taille de portée chez une population d'élans. Les triangles indiquent la taille de portée moyenne. Les barres verticales correspondent à l'erreur standard. (B) Valeur reproductive de Fisher chez cette même population.

Source : Ericsson *et al.* 2001.

La sénescence correspond à des changements physiologiques et métaboliques liés à l'âge et qui se traduisent par une augmentation de la mortalité et une diminution du taux de reproduction (Abrams

1991 ; Gaillard *et al.* 1994 ; Finch & Rose 1995 ; Ericsson *et al.* 2001). Une hypothèse associée est celle de l'investissement terminal qui prédit que l'effort reproducteur augmente à mesure que la valeur reproductrice diminue avec l'âge (Clutton-Brock 1984 ; Langley and Clutton-Brock 1998 ; Bonneaud *et al.* 2004 ; Descamps *et al.* 2007 ; Massot *et al.* 2011). Les tailles corporelles adultes étant constantes après la maturité sexuelle, il est présumé que les changements ontogéniques de l'effort et du succès reproducteur sont directement liés à l'âge (via des processus d'apprentissage et d'expérience) plutôt qu'à des changements de taille corporelle.

2.2. Cas des espèces à croissance indéterminée

Si les effets de l'âge et de l'expérience sur la reproduction sont clairement établis chez les espèces à croissance déterminée, la situation est plus complexe chez les organismes à croissance indéterminée. En effet, si une augmentation de l'effort reproducteur avec l'âge est également observée chez ces organismes (Fig. 4), il est possible que cette corrélation résulte d'un effet de la croissance et non d'un effet direct de l'âge.

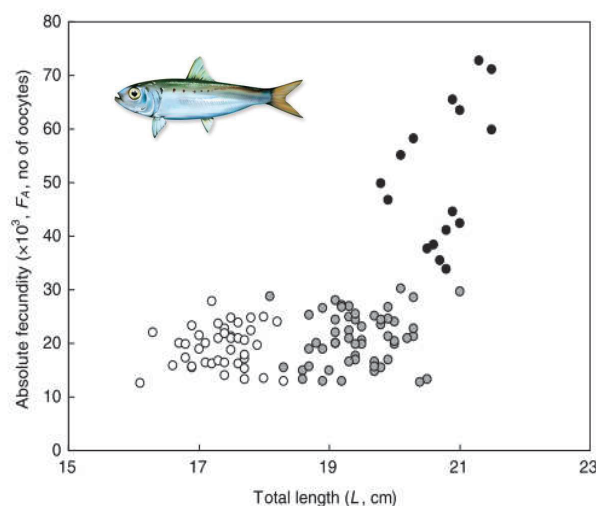


Figure 4 : Relation entre la fécondité absolue et la longueur totale chez des sardinelles rondes (*Sardinella aurita*) âgées de 2 (cercles blancs), 3 (cercles gris) et 4 ans (cercles noirs).
Source : Tsikliras *et al.* 2007.

Chez ces organismes, des variations ontogéniques dans les priorités d'allocation sont attendues. En effet, les besoins énergétiques pour la croissance réduisant avec l'âge, la ressource



acquise en dehors de la période de reproduction peut être stockée en réserves corporelles pour alimenter les besoins futurs liés à la reproduction. La capitalisation de la ressource pourrait ainsi améliorer le succès reproducteur en fournissant au moins deux bénéfices. Premièrement, de la même manière que pour la taille corporelle, une condition corporelle élevée pourrait augmenter la fécondité et l'effort reproducteur. Deuxièmement, déconnecter temporellement l'acquisition de l'allocation de la ressource peut être particulièrement avantageux lors de contraintes marquées que se soient biotiques (disponibilité en nourriture) ou abiotiques (période d'activité) (Warner & Shine 2007). Une étude récente chez le lézard à collier (*Crotaphytus collaris*) a révélé un effet positif de la condition corporelle initiale (avant l'engagement en reproduction) sur l'effort reproducteur (Telemeco & Baird 2011). Les auteurs suggèrent un changement ontogénique d'un mode de reproduction basé sur une stratégie « income » en début de vie vers une stratégie « capital » sans toutefois en apporter la preuve. Si un tel changement ontogénique dans les stratégies d'allocation semble cohérent avec les prédictions de la théorie des traits d'histoire de vie pour des organismes à croissance indéterminée (Stearns 1992 ; Shine 2005), il reste encore difficile à révéler (Wessels *et al.* 2010 ; Telemeco & Baird 2011).

2.3. Compromis d'allocation énergétique

Les compromis d'allocation sont des éléments centraux de la théorie des traits d'histoire de vie (Cole 1954 ; Stearns 1992 ; Roff 2002). Un compromis est réalisé lorsque deux traits sont liés et limités par la même ressource (principe de l'allocation, Williams 1966 ; Levins 1968). La ressource énergétique notamment est généralement limitée ou fluctuante et les pressions de sélection ont favorisé des stratégies d'allocation optimales entre des voies métaboliques compétitives (maintenance somatique, croissance et reproduction) (Levins 1968 ; Sibly & Calow 1986 ; Stearns 1992 ; Zera 2001 ; Roff 2002 ; Fig. 5). L'environnement, à travers les conditions climatiques notamment, influence la quantité de ressources disponibles. Les individus prélèvent cette ressource limitée et vont réaliser des compromis dans l'allocation de cette énergie dans les différents compartiments. Ces stratégies d'allocation devraient être façonnées par les pressions de sélection et un changement ontogénique dans ces stratégies peut être attendu afin d'optimiser la valeur sélective des individus.

Lorsqu'un organisme favorise un de ses traits aux dépens d'un autre, on parle alors de compromis évolutif (Fig. 6). Cette étude révèle un conflit entre le développement de traits morphologiques (cornes) favorisant les accouplements et l'investissement dans la production de sperme chez une espèce de scarabée. En effet, une manipulation expérimentale visant à inhiber le

développement des cornes des mâles entraîne une augmentation de la croissance de leurs testicules par rapport aux mâles contrôle (qui eux peuvent développer des cornes).

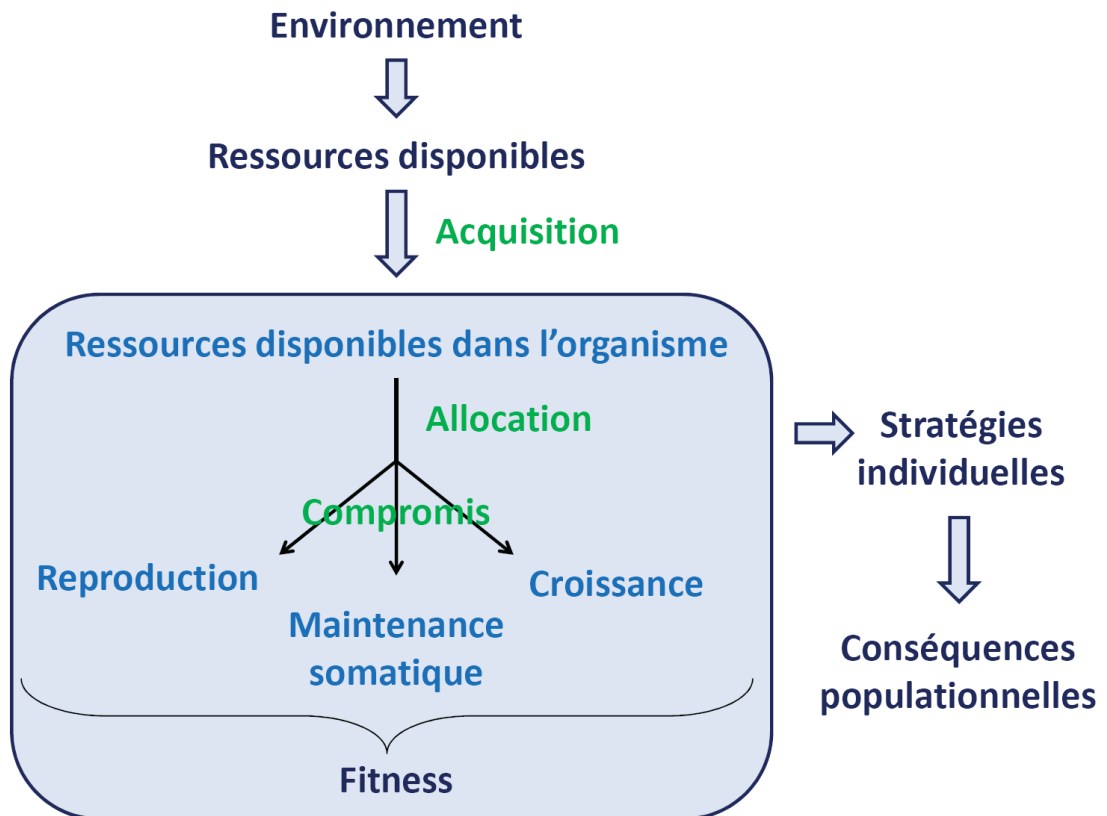


Figure 5 : Principe d'allocation selon Williams 1966 et Levins 1968.

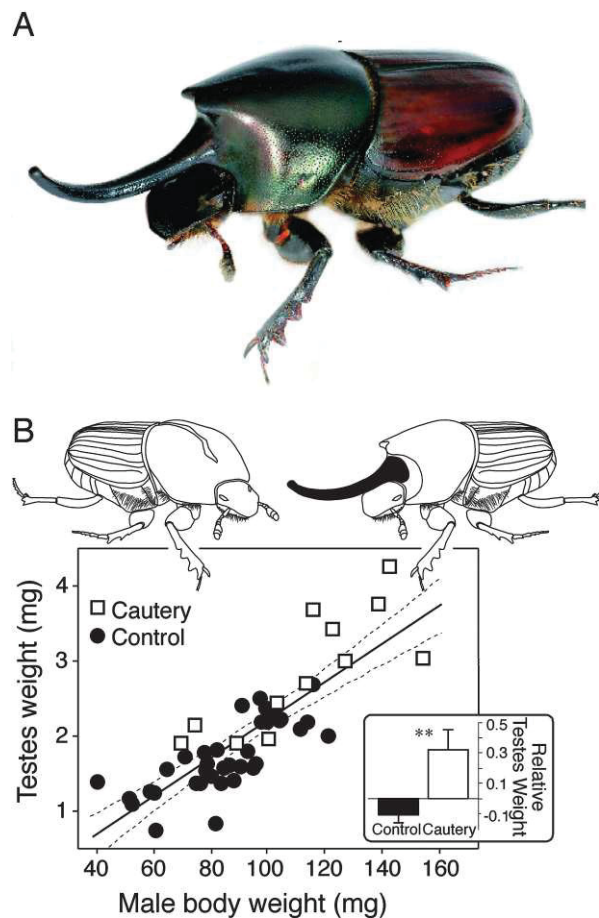


Figure 6 : Preuve d'un compromis d'allocation évolutif entre les armes (cornes) et les testicules chez le scarabée du genre *Onthophagus* (Coléoptère : Scarabidé). (A) Au sein de l'espèce *O. nigriventris*, les mâles produisent 2 cornes thoraciques. (B) Les mâles cautérisés pour ne pas développer de cornes (□) sont plus grands et ont développé des testicules disproportionnellement larges en comparaison avec des mâles contrôle qui ont développé des cornes (●). La régression linéaire est présentée avec son intervalle de confiance à 95%. (Encart B) Masse résiduelle des testicules des scarabées cautérisés et contrôles après ajustement par la masse corporelle. Photo : O. Helmy. Source : Simmons & Emlen 2006.

La reproduction peut avoir un effet négatif sur les autres traits d'histoire de vie (Williams 1966), ceci aboutissant à deux compromis évolutifs majeurs. Tout d'abord, la reproduction impose des besoins énergétiques particulièrement élevés de sorte que tout évènement reproducteur entraîne l'utilisation d'une grande partie des réserves énergétiques et réduit ainsi la fécondité future mais également la survie (et donc les probabilités de reproduction future). Ce compromis est résumé sous le nom de "coût de la reproduction" (Williams 1966 ; Shine 1980 ; Reznick 1985 ; Gustafsson & Sutherland 1988). Ce compromis d'allocation essentiel implique l'investissement d'énergie vers la

croissance ou la reproduction (Cohen 1971 ; Kozłowski & Wiegert 1986 ; Heino & Kaitala 1996 ; Katsukawa *et al.* 2002). Chez la plupart des espèces, la taille corporelle à la maturité est un déterminant majeur de la fécondité et de l'effort reproducteur (Wootton 1998 ; Massot *et al.* 2011). Par conséquent, les individus doivent faire face à un dilemme entre se reproduire maintenant ou investir dans la croissance pour améliorer une potentielle reproduction future.

Un autre compromis majeur intervient au niveau de la division de l'effort reproducteur entre les différents descendants. Il s'agit du compromis « nombre vs. taille des descendants » ou « quantité vs. qualité » (Fig. 7). Lorsque le nombre de descendants augmente, et à même quantité de ressources énergétiques allouée (même effort reproducteur), la part relative d'énergie attribuée à chacun d'eux diminue, ce qui est susceptible d'affecter leur survie (Lack 1947 ; Godfray 1987).

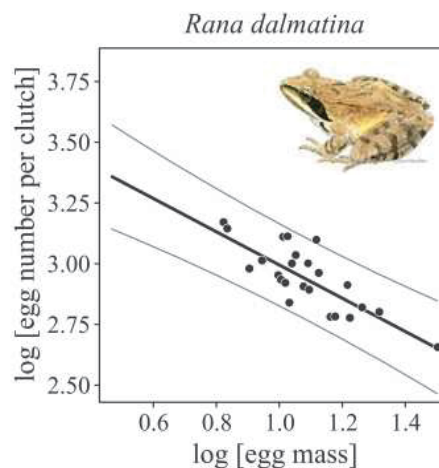


Figure 7 : Compromis entre la taille (masse moyenne) et le nombre d'œufs chez *Rana dalmatina*. La figure montre la régression linéaire et les intervalles de confiance à 95%.

Source : Weddelling *et al.* 2005.

Les besoins énergétiques des femelles reproductrices sont tellement importants que la part qui peut être allouée à la maintenance est très faible. Il en résulte bien souvent une suppression du système immunitaire (Saad & Elridi 1984 ; Adamo *et al.* 2001 ; French *et al.* 2007). Dans de nombreuses études, cette suppression du système immunitaire se traduit par une augmentation de la charge en parasites (Veiga *et al.* 1998).



2.4. Croissance déterminée et indéterminée

Les patrons de croissance sont classiquement divisés en 2 catégories : déterminée et indéterminée. Chez les organismes à croissance déterminée, la croissance stoppe généralement lorsque la maturité sexuelle est atteinte. Au contraire, chez les organismes à croissance indéterminée, la croissance continue après la maturation et peut même théoriquement se poursuivre tout au long de la vie (Heino & Kaitala 1999). La définition de croissance indéterminée peut être soumise à confusion et peut laisser penser que ces organismes ne cessent jamais de grandir. En réalité, la différence principale entre ces deux stratégies est que les organismes à croissance indéterminée ne stoppent pas leur croissance juste après avoir atteint leur taille à maturité. Une augmentation de la taille est alors très généralement associée à une augmentation de la fécondité. Au sein de ces organismes, le compromis d'allocation entre la croissance et la reproduction est particulièrement important car il intervient tout au long de la vie. La sélection a favorisé un âge et une taille optimaux à la maturité qui dépendent à la fois des relations âge-fécondité et âge-taux de survie (Stearns 1992). Par exemple, des espèces présentant des taux de mortalité élevés devraient avoir une maturité plus précoce mais présenter des taux de croissance post-maturité importants (Kozlowski 1996).

3. Diversité des stratégies reproductrices

3.1. Cadre écophysiologique

L'acquisition de ressources telles que l'eau et l'énergie est essentielle pour la survie, la croissance et la reproduction mais peut être contrainte par le temps d'activité. L'accumulation de ces ressources par un organisme peut donc être considérée comme un estimateur de sa qualité (Fig. 8) (O'Connor *et al.* 2006).

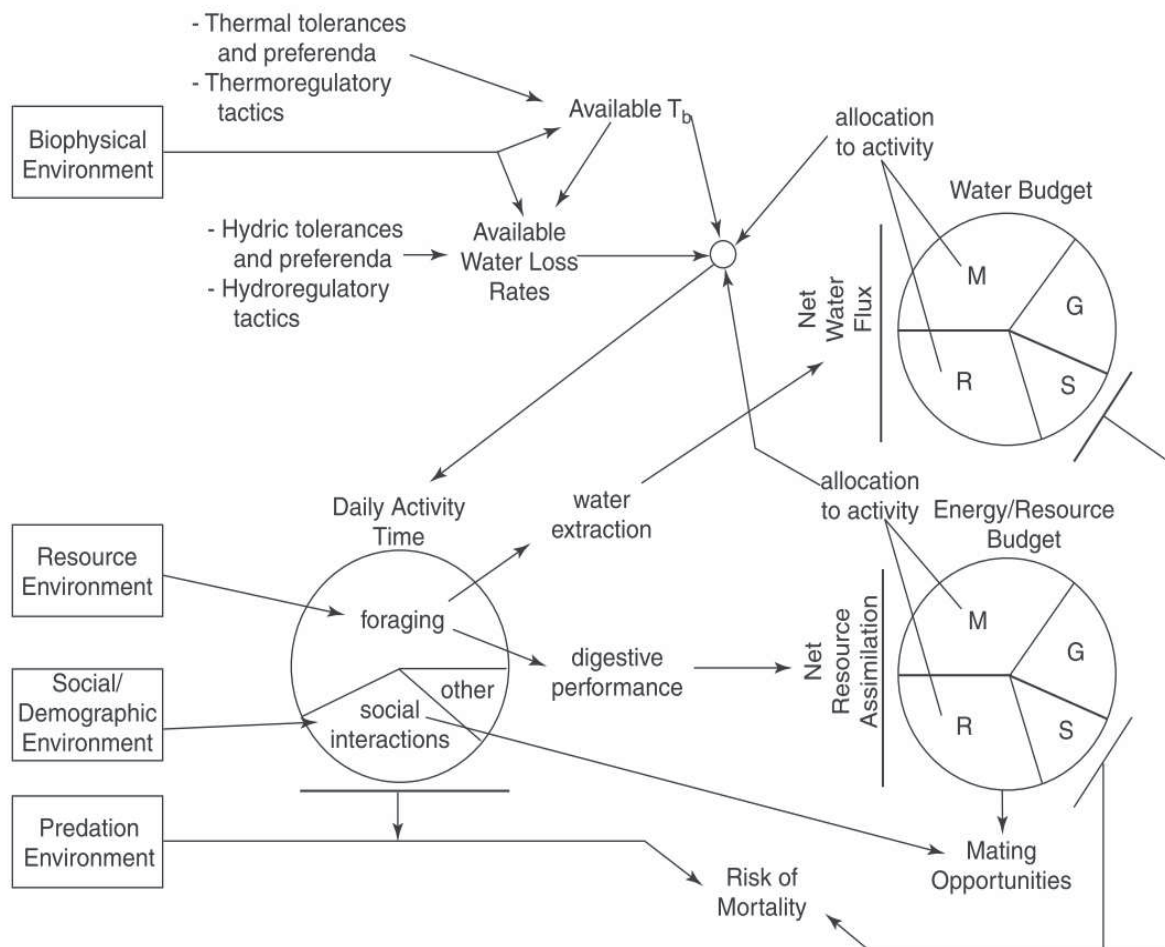


Figure 8 : **Modèle conceptuel décrivant les effets physiologiques au niveau populationnel à travers leurs actions sur l'activité et le budget énergétique.** Ce modèle assume que les ressources (eau, énergie) nécessaires à la croissance et la reproduction constituent des déterminants majeurs de la valeur sélective et que l'accumulation de ces ressources peut être utilisée comme un indice du succès écologique des individus. Le succès d'alimentation et le taux d'assimilation déterminent le taux net de ressource assimilée (énergie, eau, nutriments, etc.) disponible pour la croissance (G), la maintenance (M), la mise en réserve (S) et la reproduction (R). Cette allocation influence les budgets énergétiques, les risques de prédation, les taux de croissance et le succès reproducteur.

Source : O'Connor *et al.* 2006 (d'après Dunham *et al.* 1989).

Cette approche écophysiologique peut permettre de comprendre les mécanismes précis qui relient l'écologie biophysique et physiologique des individus à la dynamique de la population (Dunham *et al.* 1989). Quatre taux fondamentaux sont particulièrement intéressants : le taux de naissance, le taux de mortalité, le taux d'émigration et le taux d'immigration. Ces taux sont notamment dépendants de l'âge des organismes et de leur stratégie d'allocation dans 3 catégories distinctes : 1) l'allocation de leur budget temps dans différentes activités comme la recherche de



partenaire ou la recherche alimentaire qui va déterminer les ressources disponibles pour les allocations futures ; 2) l'allocation des ressources assimilées (eau, énergie, protéines...) dans des compartiments en compétition (croissance, stockage, maintenance et reproduction) (Congdon *et al.* 1982) et 3) l'utilisation de la part allouée à la reproduction qui détermine la taille de portée, la taille des descendants et la fréquence de reproduction. Ces différentes allocations sont spécifiques de l'état physiologique de l'individu, des contraintes imposées par sa physiologie, des contraintes environnementales et de la disponibilité des ressources. Ces décisions d'allocations sont dynamiques tout au long de la vie de l'individu et la sélection devrait favoriser celles qui optimisent l'effort reproducteur global le plus élevé (Dunham *et al.* 1989).

3.2. Le continuum "income" et "capital"

Afin de subvenir aux besoins importants nécessaires à la reproduction, une grande diversité de stratégies d'acquisition et d'allocation de la ressource a été mise en évidence. Classiquement, une dichotomie est faite entre les espèces qui accumulent des réserves énergétiques pour supporter l'effort reproducteur (« capital breeders ») et les espèces qui investissent l'énergie récemment acquise dans la reproduction (« income breeders ») (Stearns 1992 ; Jönsson 1997 ; Bonnet *et al.* 1998). La reproduction sur capital impose des coûts qui peuvent être d'ordre énergétique (coûts métaboliques associés au stockage des réserves) et démographique (diminution des performances locomotrices) (Jönsson 1997 ; Bonnet *et al.* 1998). Les bénéfices associés à chacune de ces stratégies dépendent à la fois de la disponibilité en ressource et de la prédictibilité de l'environnement (Warner *et al.* 2008). Les espèces à reproduction sur capital sont favorisées dans les environnements caractérisés par une productivité basse et des conditions de recherche alimentaire incertaines alors que les espèces à reproduction sur la nourriture courante sont avantagées quand les ressources trophiques sont abondantes (Jönsson 1997 ; Warner *et al.* 2008 ; Telemeco & Baird 2011). En réalité, plutôt qu'une dichotomie, il existe un continuum entre ces deux stratégies extrêmes d'allocation allant d'une utilisation immédiate de l'énergie à un stockage long-terme (Doughty & Shine 1997 ; Bonnet *et al.* 1998 ; Meijer & Drent 1999). De plus, une même espèce peut combiner ces deux stratégies en fonction de la disponibilité en ressource (Bonnet *et al.* 2001 ; Lourdais *et al.* 2002b ; Warner *et al.* 2008).



4. Les ectothermes

4.1. Notions d'ectothermie

Le maintien d'une température corporelle appropriée est essentiel pour la réalisation de nombreux mécanismes physiologiques (digestion, reproduction...). Ce processus par lequel la température du corps est contrôlée et maintenue dans une fenêtre de températures donnée est appelé thermorégulation. Chez les ectothermes, la température corporelle dépend presque exclusivement de l'environnement physique, le taux de production de chaleur d'origine endogène étant négligeable. Chez ces organismes, la thermorégulation comportementale est le mécanisme prépondérant du contrôle de la température corporelle. Cette stratégie possède l'avantage que les dépenses énergétiques au repos restent donc très limitées car la part qui revient à la régulation thermique est infime. Par conséquent, pour une même masse, un ectotherme aura un métabolisme entre 12 et 20 fois inférieur à celui d'un endotherme (Nagy 2005), qui lui régule sa température corporelle principalement par la voie métabolique. Au sein de chacune de ces classes taxonomiques, la masse corporelle est le facteur principal des besoins en énergie quotidiens. Les ectothermes peuvent donc investir une grande partie de leur budget énergétique dans la croissance ou la reproduction (principe d'allocation exposé précédemment). L'ectothermie est la stratégie la plus répandue chez les êtres vivants regroupant 99% des espèces animales (l'ensemble des espèces, excepté les oiseaux et les mammifères).

4.2. Dépendance thermique

Chez les ectothermes la température corporelle, elle-même dépendante de la température extérieure, est certainement le paramètre le plus important puisqu'elle affecte profondément leur écologie en influençant à la fois leur physiologie et leur comportement (Huey & Stevenson 1979 ; Angilletta *et al.* 2002). La locomotion (Bennett 1980), la capacité à trouver de la nourriture (Greenwald 1974 ; Ayers & Shine 1997), la digestion (Hopkins *et al.* 2004), les taux de croissance (Dutton *et al.* 1975), la fonction immunitaire (Mondal & Rai 2001), la reproduction (Schwarzkopf & Shine 1991), le développement embryonnaire (Bull 1980 ; Shine & Harlow 1993), l'utilisation de l'habitat et les patterns d'activité saisonnière (Whitaker & Shine 2002), la distribution géographique (Castonguay *et al.* 1999) ou le taux métabolique (Beyer & Spotila 1994 ; Dorcas *et al.* 2004), sont tous

influencés par les températures de l'environnement (Litzgus & Hopkins 2003). Le taux métabolique est un taux biologique fondamental car c'est le taux d'acquisition, de transformation et d'allocation de l'énergie (Brown *et al.* 2004). Connaître comment la température affecte les taux métaboliques est fondamental pour le développement de modèles décrivant les budgets énergétiques des organismes (Lillywhite 1987 ; Secor & Nagy 1994 ; Litzgus & Hopkins 2003), ce qui influence fortement les traits d'histoire de vie (Congdon *et al.* 1982 ; Webb *et al.* 2003).

Les ectothermes présentent des plages de températures corporelles pour lesquelles leur physiologie et donc leur performance est optimale. En fait, face à une large gamme de températures, la relation entre la température du corps et un type spécifique de performance (locomotion ou digestion par exemple) est décrite par une fonction asymétrique au cours de laquelle la performance est maximale à une température intermédiaire, on parle de courbe de performance (Fig. 9).

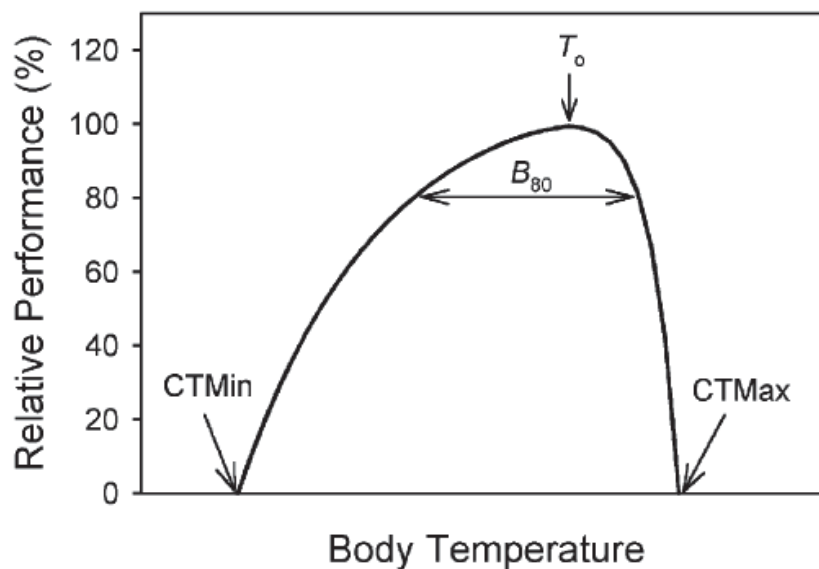


Figure 9 : Courbe de performance en fonction de la température chez un ectotherme.

Source : Angilletta *et al.* 2002.

Même si leur température corporelle est directement contrôlée par l'environnement, les ectothermes peuvent exprimer des besoins et des affinités thermiques différentes. Ils peuvent contrôler leur température interne à des niveaux et des degrés de précision différents. Les exigences de température varient donc considérablement d'une espèce à l'autre et peuvent même changer pour une même espèce aux différentes périodes de l'année, de la journée ou du statut physiologique



(Peterson 1987 ; Shine & Madsen 1996). Par exemple, la thermophilie postprandiale est un phénomène bien connu chez de nombreux taxons (Sievert 1989 ; Sievert & Andreadis 1999 ; Gvoždík 2003).

L'hypothèse de la coadaptation thermique prédit que la température préférée d'un individu correspond à la température optimale de fonctionnement de l'organisme (Angilletta *et al.* 2002). La température préférée est celle que choisit spontanément un animal lorsque s'offre à lui une large gamme de températures. Huey et Slatkin (1976) ont proposé que le maintien à une température précise du corps par un reptile implique généralement à la fois un bénéfice à l'animal (performance physiologique augmentée) et un coût (en temps, énergie et risques dus aux comportements nécessaires pour maintenir cette température). Un compromis doit alors se faire entre performance optimale et limitation des risques. Le modèle de coûts-bénéfices développé par Huey & Slatkin prédit des variations intra et inter spécifiques dans la stratégie de thermorégulation en fonction des coûts, des bénéfices et de la qualité thermique de l'environnement. Dans un environnement contraignant, le maintien d'une température corporelle élevée et constante est particulièrement coûteux car le temps consacré à la thermorégulation est de fait très élevé. De plus, des températures corporelles élevées impliquent une augmentation du métabolisme et donc de la dépense énergétique. Ainsi, en milieu tempéré, la thermorégulation et la recherche alimentaire sont deux besoins vitaux en compétition dans un environnement où le temps d'activité est contraint.

4.3. Stratégies de thermorégulation

Même si les ectothermes présentent différentes adaptations physiologiques ou morphologiques afin de contrôler leur température corporelle, la thermorégulation est principalement de type comportemental. Pour atteindre et maintenir une température corporelle optimale, ces animaux expriment des comportements variés tels que l'exposition directe au soleil (« basking »), la sélection de substrats chauds (thigmothermie), l'alternance comportementale entre zones de « basking » et zones fraîches (« shuttling behaviour ») (Snucins & Gunn 1995 ; Bauwens *et al.* 1996 ; Dubois *et al.* 2009) ou des ajustements posturaux destinés à faciliter les échanges thermiques (Heinrich 1990 ; Bauwens *et al.* 1996 ; Ayers & Shine 1997). La taille et la forme de l'animal influencent également son inertie thermique et son efficacité de thermorégulation (Bishop & Armbruster 1999 ; Seebacher & Shine 2004). En milieu tempéré, les espèces de petite taille sont avantagées car les vitesses de gains thermiques sont plus importantes. Une grande variété de stratégies de thermorégulation a été décrite (Heath 1964) et forment un continuum entre « thermoconformité » (absence totale de



régulation de la température) et « thermorégulation parfaite » (maintien constant d'une température stable indépendamment des fluctuations extérieures).

4.4. Sensibilité embryonnaire

Si les embryons d'ectothermes sont bien plus tolérants aux variations de température que ceux des endothermes, ils présentent néanmoins une sensibilité thermique marquée (Deeming & Ferguson 1991 ; Andrews, Mathies & Warner 2000 ; Birchard 2004 ; Lourdais *et al.* 2004). Tout d'abord, la température influence négativement la durée du développement embryonnaire. Chez les reptiles, en moyenne, une diminution de la température d'incubation de 10°C multiplie par 2 ou 3 la durée du développement (Shine 2004). Outre ces différences de phénologie, les conditions thermiques de développement ont des effets profonds sur le phénotype des descendants et affectent aussi bien des traits morphologiques que physiologiques ou comportementaux (Deeming & Ferguson 1991 ; Shine *et al.* 1997 ; Wapstra 2000 ; Blouin-Demers *et al.* 2004 ; Watkins & Vraspir 2006). L'un des effets les plus marquants est la détermination du sexe des nouveau-nés par la température. Ce phénomène a notamment été observé chez l'ensemble des espèces de crocodiles étudiées, chez la plupart des tortues et certains lézards (Shine 2004). La plupart de ces traits affectés sont en lien avec la valeur sélective des individus (Braña & Ji 2000 ; Andrews *et al.* 2000 ; Du & Ji 2003 ; Andrews 2008). Ainsi, la gravidité ou la gestation sont associées à une modification de la thermorégulation maternelle qui peut être positive ou négative sur la température corporelle sélectionnée (Charland & Gregory 1990 ; Daut & Andrews 1993 ; Robert *et al.* 2006 ; Braña 1993 ; Mathies & Andrews 1997). Quelque soit le sens de ce changement, un contrôle plus précis de la température corporelle semble omniprésent (Lourdais *et al.* 2008).

4.5. Phénologie et contraintes environnementales

Les organismes doivent ajuster leurs décisions de reproduction à la saisonnalité de leur environnement (Hau 2001). La naissance doit coïncider avec les meilleures conditions environnementales possibles (température, disponibilité en nourriture, faible pression de prédation) pour le développement des jeunes (Rutberg 1987). Le calage de la reproduction est donc particulièrement important pour la production d'une descendance viable et donc la valeur sélective



des individus (Varpe *et al.* 2007). Des facteurs endogènes et exogènes (variations hormonales, photopériode) permettent de moduler ce calage (Bronson 1989). Les fluctuations saisonnières augmentent avec la latitude et conduisent à une période de reproduction relativement courte.

De précédentes études (Olsson & Shine 1997 ; Wapstra *et al.* 2010) ont montré que la phénologie de la reproduction peut être corrélée avec la qualité de la femelle. Ainsi, les meilleures performances des individus éclos de façon précoce pourraient résulter d'effets maternels. Cependant, d'autres éléments en dehors du contrôle de la mère peuvent intervenir comme des facteurs biotiques (ressources trophiques) ou abiotiques (conditions environnementales).

Les conditions climatiques exercent une influence majeure sur la phénologie de la reproduction et notamment la date de naissance (Qualls & Shine 2000 ; Cadby *et al.* 2010), un déterminant majeur du succès reproducteur. Une date d'éclosion précoce coïncide avec des ressources trophiques élevées, une compétition intra spécifique plus faible et des environnements thermiquement plus favorables (Qualls & Shine 2000). Ces facteurs peuvent notamment orienter les trajectoires individuelles (Olsson & Shine 1997 ; Qualls & Shine 2000) en favorisant la croissance. Chez les espèces à pontes multiples, les contraintes environnementales sont particulièrement importantes car elles interviennent à tous les niveaux : 1) chez l'adulte avant l'engagement en reproduction lors de la phase de constitution des réserves ; 2) au moment de la période de gravidité des femelles ; 3) chez les embryons, lors de l'incubation des œufs ; 4) chez les juvéniles lors de la période de croissance pré-hivernale. Des réponses physiologiques ou comportementales sont attendues à ces différents niveaux afin d'optimiser les conditions de développement et la valeur sélective des individus.

4.6. Le modèle Squamate

Les squamates (lézards et serpents) sont des ectothermes particulièrement dépendants des conditions thermiques pour accomplir l'ensemble de cycle biologique. En climat tempéré, la température environnementale est une variable qui va fortement contraindre leur temps d'activité. Les lézards et les serpents sont des organismes à croissance indéterminée et dont la taille corporelle influence fortement l'effort reproducteur.

Au sein des squamates, il existe une grande diversité dans les stratégies d'acquisition et d'allocation de l'énergie. On peut évoquer un continuum entre des systèmes extrêmes basés sur une économie drastique de l'énergie (boas, vipères) à des systèmes très dynamiques aux besoins énergétiques particulièrement élevés (lézards de petite taille). Ces différences de stratégies



d'allocation sont bien souvent corrélées à leurs stratégies de recherche alimentaire (chasse à l'affut vs. chasse active).

Les squamates ont développé une diversité de stratégies pour tamponner l'impact des conditions thermiques pendant le développement embryonnaire telles que la viviparité, la couvaison, la rétention prolongée, la sélection de sites de ponte. La plupart des squamates ovipares retiennent leur œufs dans l'oviducte jusqu'à ce qu'un tiers du développement soit effectué (Shine 1983). La gravidité est souvent associée à un changement du comportement de thermorégulation maternel avec des températures corporelles qui varient soit positivement soit négativement mais avec un contrôle plus précis (Lourdais *et al.* 2008). Alors que les fluctuations thermiques extrêmes sont pathologiques ou même fatales pour les embryons (Shine & Elphick 2001 ; Shine 2003) la tolérance thermique est bien plus grande que chez les endothermes. Une telle plasticité procure une excellente opportunité pour manipuler de façon expérimentale les températures de développement et examiner les effets sur la qualité de la descendance

Un système ectothermique basé sur de fortes dépenses énergétiques (événements de reproduction multiples) dans un contexte où les conditions environnementales contraignent le temps d'activité offre donc une opportunité unique pour explorer les variations individuelles dans les stratégies de reproduction.

5. Problématique de la thèse et prédictions générales

Le but de cette thèse est d'examiner les stratégies individuelles de reproduction chez une espèce de lézard à ponte multiple soumise à des contraintes thermiques saisonnières, le lézard des murailles (*Podarcis muralis*). Nos résultats ont été partagés en 3 chapitres complémentaires qui sont présentés ci-dessous :

Chapitre 1 : Influence des conditions de développement sur les trajectoires individuelles

La température est une ressource clé pour les ectothermes terrestres qui leur permet de maintenir une température corporelle adaptée et satisfaire leurs besoins énergétiques, physiologiques ou comportementaux. Chez l'adulte, la reproduction est un événement majeur au



cours duquel l'ensemble de ces besoins peut être profondément modifié. Les embryons en développement sont particulièrement sensibles aux variations de l'environnement (thermiques notamment) et des stratégies ont été mises en place pour tamponner ces fluctuations (viviparité, rétention prolongée). Les conditions subies par les embryons peuvent donc être d'importants déterminants des trajectoires ontogéniques (effets cohortes). Dans ce cadre, la date d'éclosion, liée à la date d'engagement en reproduction, représente un bon prédicateur du succès de reproduction (Olsson & Shine 1997 ; Warner & Shine 2007) et de l'orientation future des individus.

Dans ce contexte, nos prédictions sont les suivantes :

- (1) Les conditions de développement vont fortement influencer la durée du développement embryonnaire et la qualité phénotypique.
- (2) Pour des conditions de développement identiques, une date de naissance précoce devrait être plus avantageuse en procurant notamment une période de croissance pré hivernale plus importante.
- (3) Lors de conditions de développement très contraignantes, des mécanismes de compensation devraient être mis en jeu.

Chapitre 2 : Stratégies reproductrices et ontogénie

Les contraintes sur le temps d'activité imposent aux organismes d'optimiser ce temps en faisant des choix et donc en adressant certaines priorités. Toutefois, les priorités peuvent varier en fonction du sexe, de l'âge ou de la saison. La reproduction est une période où les contraintes énergétiques sont maximales. Ainsi découpler l'acquisition de l'allocation des ressources devrait être particulièrement avantageux dans un contexte où le temps est limité. Chez les espèces à pontes multiples, les épisodes de reproduction se succèdent sur de longues périodes et sont par conséquent susceptibles d'offrir un gradient relativement élevé dans les stratégies individuelles de reproduction. Chez une espèce à croissance indéterminée, l'âge et la taille corporelle sont deux paramètres influençant fortement la fécondité et devraient orienter les stratégies de reproduction.



Dans ce contexte, nous prédisons que :

- 1) Les priorités d'allocation de l'énergie devraient être dépendantes de l'âge des femelles avec notamment une augmentation de l'effort reproducteur chez les individus âgés.
- 2) L'énergie acquise en dehors des périodes de reproduction devrait être stockée afin d'alimenter les besoins futurs liés à la reproduction.
- 3) Une anticipation des besoins énergétiques pourrait permettre un engagement reproducteur plus précoce et ainsi favoriser la production de pontes additionnelles.
- 4) Des variations dans l'effort reproducteur et dans la phénologie pourraient induire des stratégies d'appariement contrastées.

Chapitre 3 : Contraintes de reproduction : variations saisonnières des taux de corticostérone et de l'ectoparasitisme

Les fortes variations des conditions environnementales impliquent des réponses physiologiques et comportementales appropriées. L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien est particulièrement important dans la régulation de ces fonctions majeures et dans l'allocation des ressources. Des contraintes importantes sont associées à la reproduction comme l'augmentation des besoins thermiques et la saisonnalité des coûts de thermorégulation qui peuvent influencer la modulation adrénocorticale de cet axe. Une augmentation des taux basaux de corticostérone a notamment été mise en évidence pendant la reproduction (Wilson and Wingfield 1994 ; Moore *et al.* 2001, Jessop *et al.* 2002). De tels taux sont susceptibles de faciliter des aspects physiologiques et comportementaux spécifiques du statut reproducteur en mobilisant par exemple les réserves énergétiques (Moore & Jessop 2003).

Par ailleurs, l'investissement énergétique dans la reproduction étant particulièrement élevé, une altération du système immunitaire est souvent observée.



Dans ce contexte, nos prédictions sont les suivantes :

- 1) Une augmentation des taux basaux de corticostéroïdes devrait être observée en période de reproduction.
- 2) Les femelles devraient présenter des taux de corticostéroïdes plus élevés que les mâles du fait d'un effort reproducteur plus important.
- 3) L'engagement dans un épisode de reproduction devrait altérer le système immunitaire et ainsi augmenter la prévalence à l'ectoparasitisme. Ces contraintes devraient être différentes selon les sexes.



Matériel d'étude et Méthodes





1. Modèle d'étude : le lézard des murailles (*Podarcis muralis*, Laurenti 1768)

Le lézard des murailles est un reptile de petite taille et de forme élancée, faisant partie de la famille des Lacertidés. La longueur museau-cloaque moyenne des adultes est de 5.8cm (4.8 - 6.9) et la longueur totale dépasse rarement 19 cm avec une masse corporelle n'excédant pas 8 grammes (Vacher & Geniez 2010). Le lézard des murailles est une espèce ovipare très féconde, les femelles peuvent réaliser jusqu'à trois pontes par an. Les femelles peuvent se reproduire après leur premier hivernage (dans la première année). La longévité moyenne du lézard des murailles est de 5 à 7 ans (Mou 1987).

1.1. Morphologie

Il existe une grande variabilité des phénotypes avec des couleurs allant du brun clair au gris, voire verdâtre sur le dos et pouvant être tacheté de noir ou de marron. Le milieu du dos est souvent parcouru par une ligne longitudinale brun foncé ou noirâtre. Concernant la face ventrale, trois morphes distincts ont été définis (Calsbeek *et al.* 2010) : blanc, jaune et orange avec des morphes intermédiaires. Cette espèce présente un léger dimorphisme en faveur des mâles avec une taille plus importante (Fig. 10 et annexe 2) et une tête plus massive que les femelles. Le patron de coloration est également dimorphe : les femelles présentent deux lignes claires longitudinales délimitant une bande sombre. Elles sont généralement de couleurs plus ternes que les mâles. Les mâles sont réticulés et leurs flancs arborent des ocelles bleus dont l'intensité augmente avec l'avancée de la saison de reproduction. On observe deux renflements à la base de la queue chez les mâles, correspondant aux hémipénis. Les pores fémoraux (présents chez les deux sexes) sont nettement plus marqués chez eux.



Figure 10 : Illustration du dimorphisme sexuel. Photographies d'une femelle (à gauche) et d'un mâle (à droite).



1.2. Biogéographie et habitat

Podarcis muralis est une espèce méridionale étendue (Vacher & Geniez 2010) dont l'aire de distribution s'étend au Nord jusqu'au Sud des Pays-Bas (Maastricht), la Vallée du Rhin, Tchécoslovaquie et Roumanie, et au Sud jusqu'au centre de l'Espagne, Sud de l'Italie et Balkans (Fig. 11). C'est l'espèce de lézard la plus commune en France (Naulleau 1980).

Il existerait 6 sous-espèces de *Podarcis muralis* dont 2 en France : *Podarcis m. brongniardii* et *Podarcis m. merremius* (Schulte 2008). La population du site d'étude appartiendrait à la sous espèce *brongniardii*.

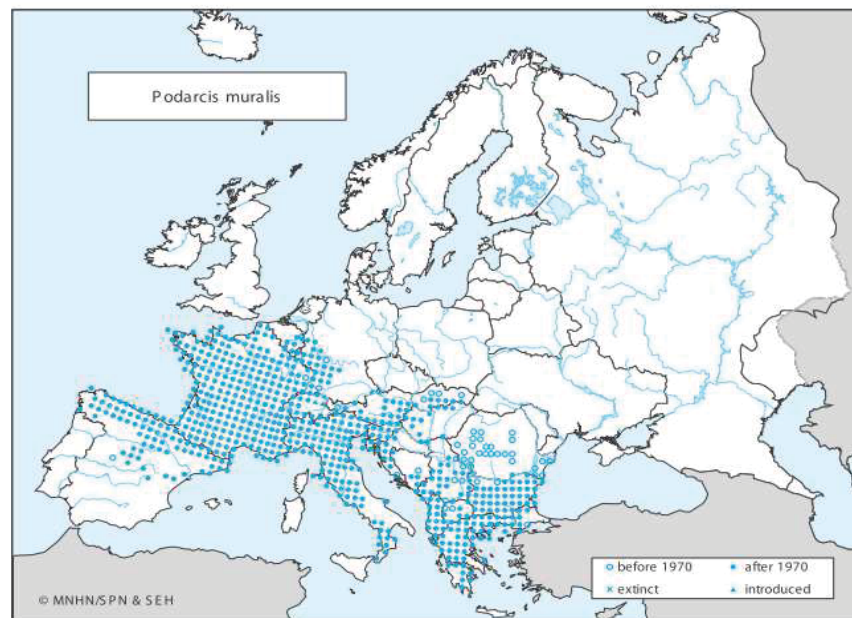


Figure 11 : Aire de répartition du lézard des murailles, *Podarcis muralis*.
Source : Gasc *et al.* 1997.

Le lézard des murailles fréquente des biotopes pierreux et ensoleillés : carrières, talus, murs de pierres sèches (Hussin & Parent 1996). Cette espèce fréquente souvent les zones anthropisées (bords de chemins de fer, ruines, dalles). Des structures verticales telles que rochers, éboulis et murs lui conviennent particulièrement bien. La présence de refuges à proximité immédiate des emplacements de thermorégulation est primordiale contre le risque de prédation (Amo *et al.* 2003). Des fissures et cavités entre des pierres ou des murs ainsi que des galeries de micromammifères ou des fentes dans le sol sont également utilisés comme abris nocturne, site d'hivernage ou site de ponte. La surface du domaine vital d'un individu (plus grande chez le mâle) varie de 3 à 50m² en

fonction de la densité de la population, de la structure de l'habitat et de la végétation ainsi que de l'exposition (Günther 1996).

1.3 Comportement

C'est une espèce très thermophile principalement héliotherme (exposition au soleil) (Fig. 12) mais un comportement de thigmothermie (contact avec un substrat chaud) a également été mis en évidence. Le maintien d'une température corporelle stable se fait de façon active grâce principalement à un « comportement de navette » (« shuttling behavior ») entre des zones exposées au soleil et des zones d'ombre. La température préférée (T_{set}) est de 34.0°C chez les femelles non gravides et 33.6°C chez les mâles (Branã 1993).



Figure 12 : Comportement de thermorégulation chez un lézard des murailles adulte. Ce mâle présente un ajustement postural (ventre décollé du substrat) afin de capter au mieux les rayons du soleil.

Cette espèce très active est très vigilante. Des comportements d'observations (« scanning ») (Avery *et al.* 1993) ont été mis en évidence avec une immobilisation pendant laquelle le museau est décollé du substrat d'une hauteur au moins égale à sa longueur de crâne (environ 1cm) (Fig. 13).



Figure 13 : Mâle de lézard des murailles en position de vigilance ou "scanning".

Le lézard des murailles est exposé à une diversité de prédateurs naturels (oiseaux, serpents) ou introduits (chat domestique). Les stratégies d'échappement aux prédateurs ont été largement étudiées chez cette espèce (Martín & López 1999, 2005 ; Amo *et al.* 2003, 2004). Ces travaux ont montré que les lézards ajustaient leur réponse anti-prédatrice selon divers facteurs tels que leur vulnérabilité (dépendant par exemple de la température de l'air ou de la hauteur du mur) ou des coûts de l'utilisation du refuge (coût thermique et éventuelle prédation par des serpents). *P. muralis* possède la faculté d'autotomie, c'est-à-dire de la perte (partielle ou totale) volontaire de sa queue lors d'une tentative de prédation. La longueur totale des individus n'est donc pas vraiment représentative de leur âge. Les parties régénérées se reconnaissent par l'uniformité de leurs motifs ainsi qu'à leurs jonctions anormales avec la partie d'origine.

Le régime alimentaire du lézard des murailles varie légèrement selon la saison et l'âge des individus. Il se nourrit essentiellement de petits invertébrés : arachnides, coléoptères, orthoptères, lépidoptères, mais aussi isopodes, hyménoptères et gastéropodes. Il peut également ingurgiter des fruits charnus (baies etc.). La grande variabilité de son régime alimentaire montre le caractère opportuniste de l'espèce (Mou & Barbault 1986 ; Mou 1987).

1.4. Cycle d'activité et reproduction

La période d'activité de l'espèce dépend des zones géographiques et de l'altitude (Vacher & Geniez 2010). En plaine, elle est d'environ 8 mois et s'échelonne de mars à octobre. Il existe un

décalage d'émersion avec des sorties plus précoces chez les mâles en comparaison avec les femelles. Cette différence d'activité est liée à des contraintes reproductrices contrastées. Elles sont détaillées ci-dessous :

- Les mâles :

Les mâles présentent une période d'activité beaucoup plus longue avec notamment des épisodes de thermorégulation au cœur de l'hiver (mi-décembre ou janvier). Ces épisodes de thermorégulation en conditions suboptimales sont imposées par la spermatogénèse afin d'initier une maturation précoce des spermatozoïdes et assurer la fertilisation des femelles ayant également démarré une vitellogénèse tardive.

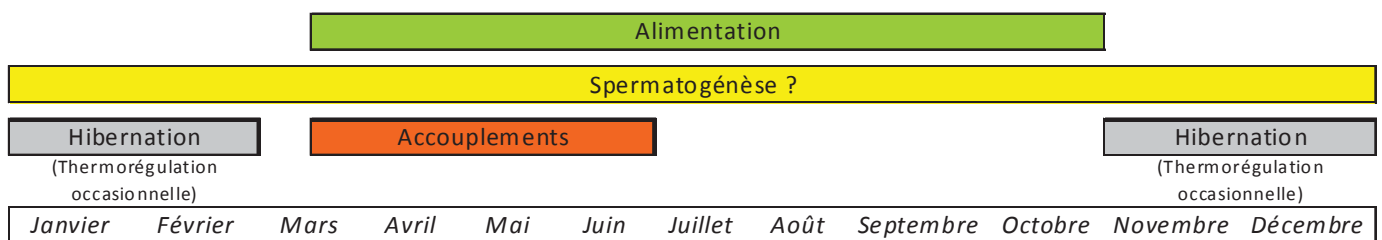


Figure 14 : Cycle d'activité des mâles

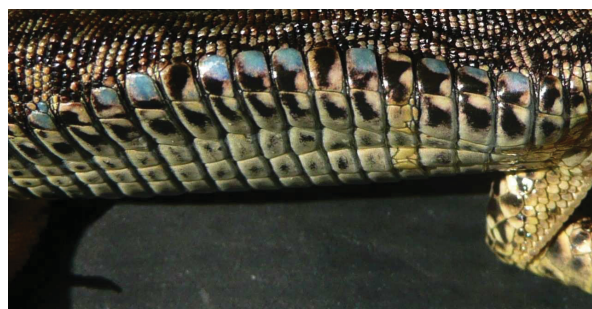


Figure 15 : Photographie d'un lézard des murailles mâle illustrant les ocelles bleus sur la face ventrale.

- Les femelles :

Le cycle reproducteur femelle se compose d'une première étape d'allocation des réserves (vitellogénèse) dans les œufs, puis de l'ovulation (début du développement embryonnaire) de la

phase de gravidité (d'environ 2 semaines) et de l'incubation. Les femelles peuvent réaliser jusqu'à trois pontes par an entre avril et juillet. La température préférée est légèrement plus basse chez les femelles en période de gravidité (32.6°C) en comparaison avec des femelles non gravides (34.0°C) ou des mâles (33.6°C) (Braña 1993 ; Tosini & Avery 1996).

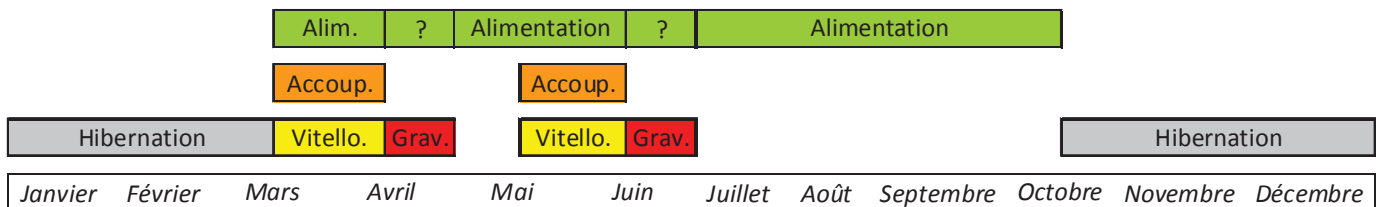


Figure 16 : Cycle d'activité des femelles (exemple d'une femelle présentant deux épisodes de reproduction).

Les pontes sont composées de 2 à 12 œufs longs en moyenne de 11.6 millimètres et de masse 0.340g (Ji & Braña 2000). La masse de la ponte peut représenter entre un tiers et la moitié de la masse corporelle de la femelle (Ji & Braña 2000) et se traduit par un état d'amaigrissement marqué (Fig. 17) qui disparaît au bout de quelques jours.



Figure 17 : Photographies d'une femelle gravide (à gauche) et d'une femelle post-ponte (à droite), les plis sur les flancs sont bien visibles.

De nombreuses études se sont intéressées à l'impact des conditions d'incubation sur la morphologie, les performances locomotrices, la croissance chez cette espèce (Van Damme *et al.* 1992 ; Ji & Braña 1999 ; Braña & Ji 2000 ; Braña & Ji 2007). La durée du développement

embryonnaire est très dépendante de la température d'incubation (Fig. 18) (Van Damme *et al.* 1992 ; Ji & Braña 1999 ; Braña & Ji 2007).

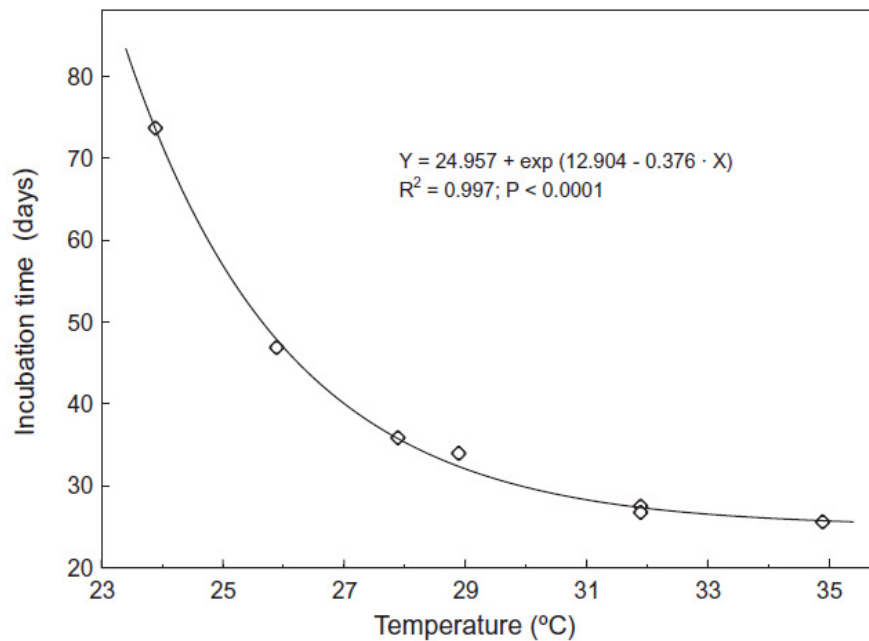


Figure 18 : Relation entre la température d'incubation (constante) et la durée d'incubation chez le lézard des murailles (*Podarcis muralis*).
Source : Braña & Ji 2007, d'après les données de Van Damme *et al.* 1992 et Ji & Braña 1999.

Cependant, ces études n'ont pas abordé les effets long-terme de ces perturbations thermiques pendant le développement embryonnaire.

Par ailleurs, l'influence de l'âge sur les caractéristiques et stratégies de reproduction n'a pas été étudiée.

2. Site d'étude

2.1 Situation géographique

Située au sud du département des Deux Sèvres, à 20 kilomètres de Niort, la forêt de Chizé est un des grands massifs domaniaux de la région Poitou-Charentes (Fig. 19). Sa superficie de 4800 hectares la place en tête des forêts de cette région devant la forêt de la Coubre (4277 ha, Charente-maritime), la forêt de Scevolles (4000 ha, Vienne) et la forêt de la Braconne (3946 ha, Charente). L'étude a été réalisée sur l'ensemble de la Réserve Nationale Intégrale de Forêt et de Chasse d'une superficie de 2614 hectares isolés par un grillage et divisés en parcelles, d'environ 17 hectares, laissées en évolution libre.



Figure 19 : Localisation du site d'étude



La forêt domaniale de Chizé porte le nom de la commune sur laquelle elle est située en partie et dont le chef-lieu est situé à son extrémité orientale. Le Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (CEBC) occupe l'emplacement d'un ancien camp militaire ouvert en 1952. L'OTAN y installa un dépôt de munitions et abrita jusqu'à environ 4 000 militaires américains et civils français. Ce camp ferma le 13 mars 1967 et le départ de l'armée américaine engagea l'ONF à réviser l'aménagement du massif forestier. Celui-ci fût dès lors divisé en deux parties : hors réserve et en réserve. La création d'une réserve de chasse mit à l'écart les préoccupations de gestion forestière.

2.2 Localisation de la population

Le site d'étude, d'une superficie d'environ 4 hectares, est fortement anthropisé. Les lézards des murailles sont principalement localisés au niveau des haies et des trottoirs dont les fissures représentent des refuges particulièrement bien exploités.

Un plan du site d'étude, sur lequel une maille de 5m de large a été appliquée, a été mis en place afin de déterminer le lieu exact de la capture des individus et ainsi permettre de les relâcher au même endroit (Fig. 20).

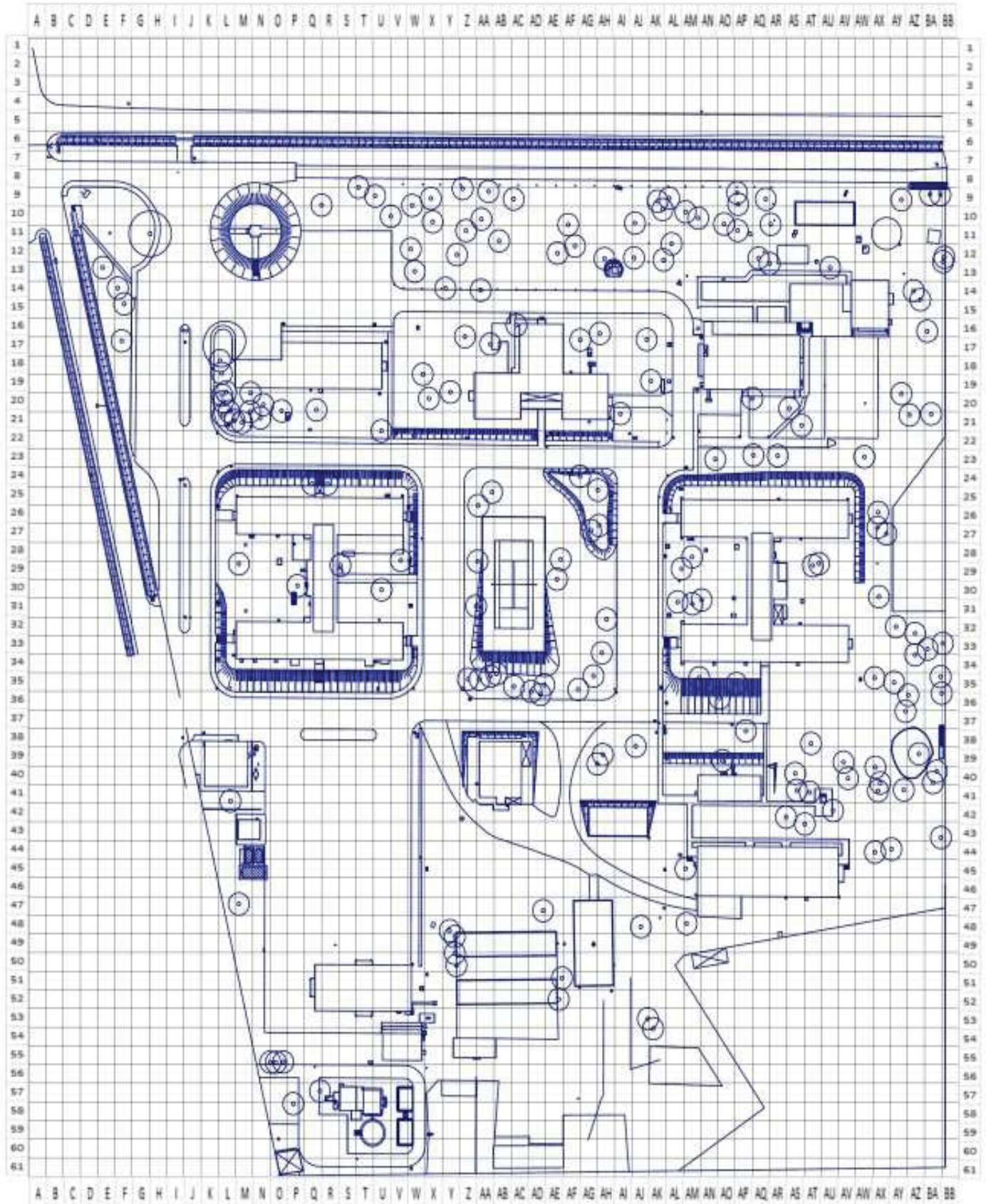


Figure 20 : Plan du site d'étude. Une maille de 5 m de côté ainsi qu'un système de repérage ont été appliqués afin de faciliter le relâcher des individus.

2.3 Climat

La proximité de la côte atlantique confère à ce site un climat de type océanique. Cela se traduit par des hivers doux et des étés assez chauds mais le printemps est contraignant avec une forte nébulosité (Fig. 21). Les données de température et de précipitation ont été dérivées de modèles climatiques AURELHY développés par Météo-France et correspondant à la période 1971-2000. La nébulosité correspond à : $1 - \text{radiation solaire interpolée} / \text{radiation solaire potentielle}$.

La somme des précipitations annuelles atteint 874 mm. La moyenne des températures annuelles est de 12,2°C avec une moyenne hivernale de 6.6°C et une moyenne estivale de 18.5°C. Avec une moyenne annuelle des températures inférieure à 20°C et des précipitations annuelles comprises entre 500 et 1000 mm, le site se trouve dans une zone tempérée.

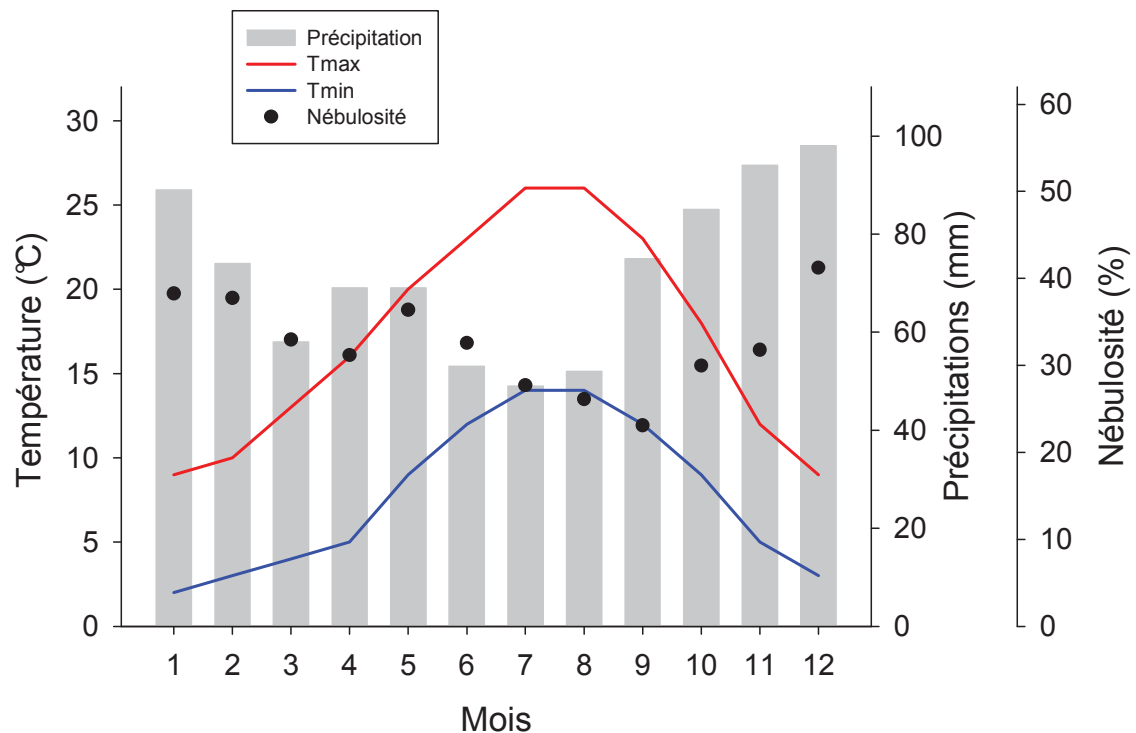


Figure 21 : Diagramme ombrothermique présentant les conditions environnementales au sein du site d'étude sur l'année.

2.4 Contraintes de thermorégulation et intérêt des plaques refuges

Afin d'adresser la nature des contraintes environnementales, nous avons mesuré la qualité thermique de l'habitat. Pour cela, nous avons créé des modèles opératifs mimant la taille, la forme et la couleur du lézard. Ces modèles sont des tubes de cuivre de 18 mm de diamètre et 50 mm de long peints en marron mat et que nous avons aplati. Un enregistreur de température (I-button, Maxim Dallas) a été placé à l'intérieur du tube de cuivre qui a ensuite été rebouché de colle thermique. La fréquence d'enregistrement de la température est de 20 minutes. La réalisation des modèles et la validation de leur utilisation s'est faite par une analyse des températures d'un lézard mort exposé aux mêmes conditions que le modèle opératif afin que ce dernier corresponde parfaitement aux propriétés d'un lézard ($r^2 > 0.90$). 100 plaques en caoutchouc (FlexBelt 500x300x15mm, issues de tapis de carrière) ont été disposées le long de 6 transects (Fig. 22).

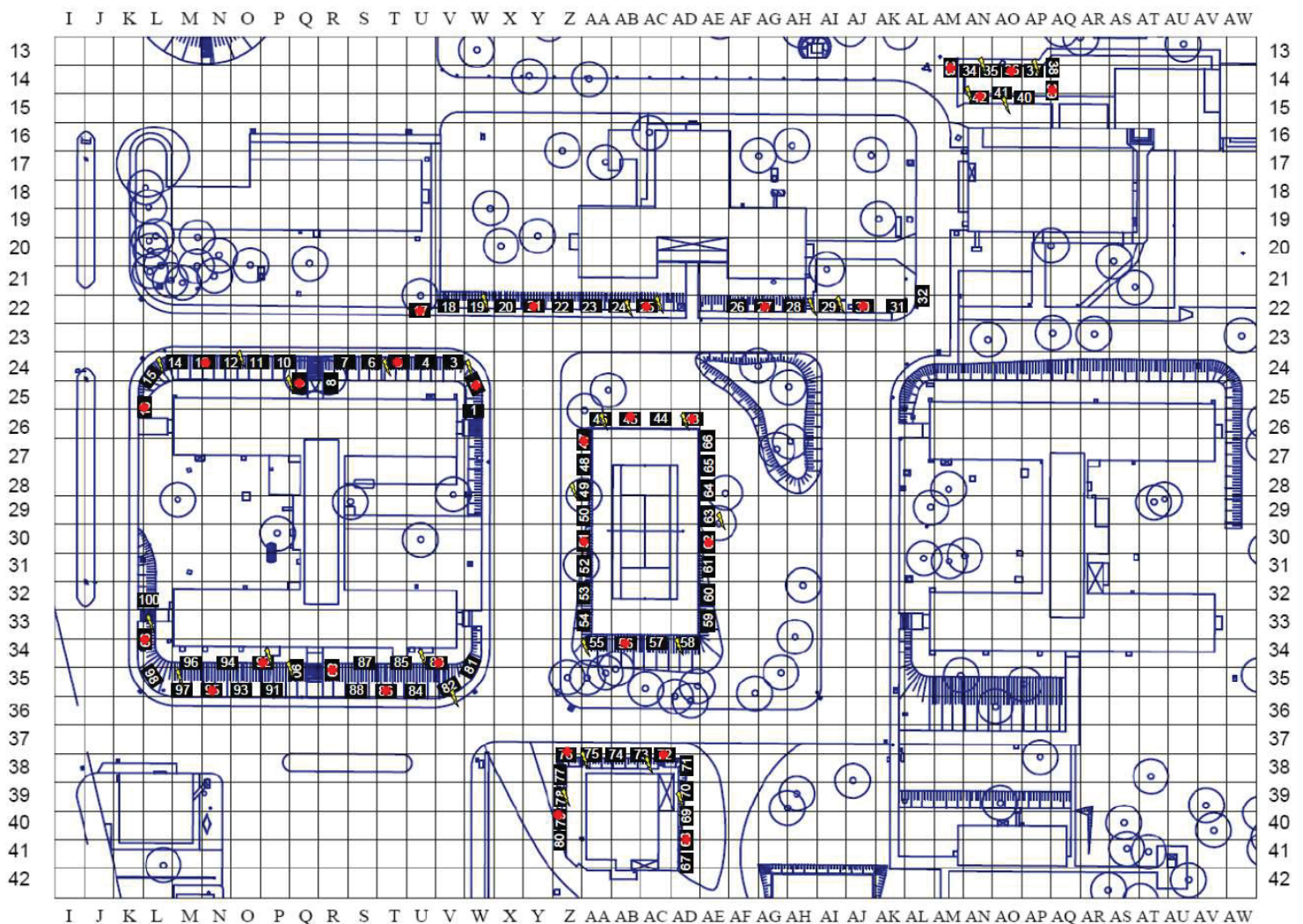


Figure 22 : Plan du labo présentant les 6 transects.



30 couples de modèles ont été installés et répartis au sein des 6 transects. Un couple de modèles est constitué d'un modèle placé sur une plaque en caoutchouc et d'un autre modèle placé sur un substrat de l'habitat périphérique et dans les mêmes conditions d'exposition. Le substrat de l'habitat périphérique pouvait être de trois types : béton, herbe et sol nu. A ces 30 couples, s'ajoutent 30 autres modèles dits « habitat » et qui ont été répartis aléatoirement dans types d'habitat : haie, fissure, terrier de micromammifères ou verticalement sur un mur

L'activité de thermorégulation des lézards a été adressée par des sorties quotidiennes sur les 6 transects répartis sur le site. Ces transects ont été parcourus dans un ordre aléatoire à chaque sortie. Au cours de chacun des transects, nous avons relevé le nombre d'individus, le sexe, le statut reproducteur des femelles (gravide, post-ponte ou non reproducteur), l'âge (adulte ou juvénile). Les sorties sont réalisées sur une période courte (environ 30 minutes) afin de multiplier les réplicas et varier les conditions météorologiques. Deux sorties bornent la journée et les autres sont réalisées lors de conditions météorologiques optimales pour la thermorégulation sur plaque afin d'obtenir un maximum d'observation de lézards et de clarifier les déterminants de la présence/ absence et abondance.

Nous présentons ici simplement un résultat obtenu sur l'utilisation des plaques en fonction de la température environnementale (Fig. 23).

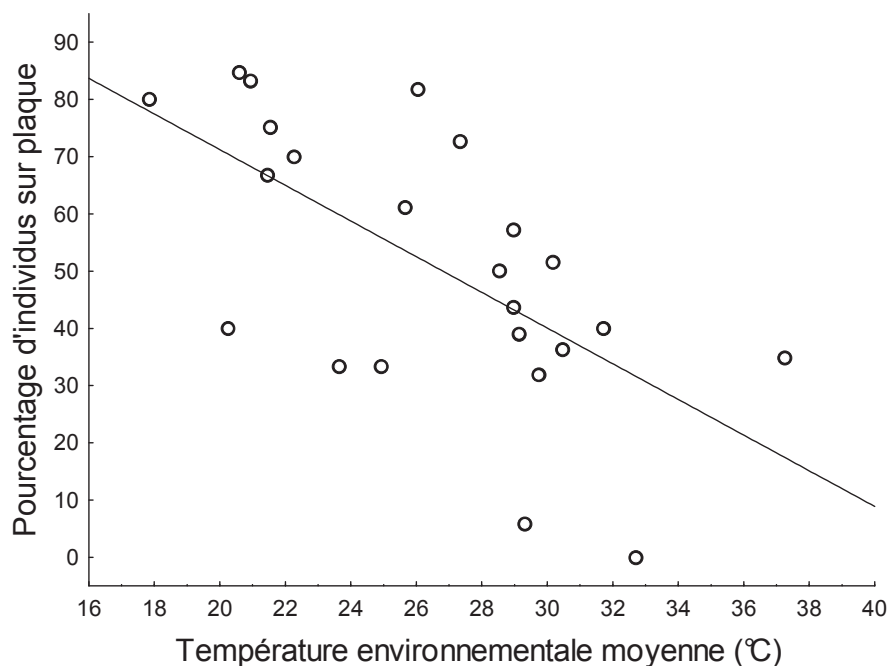


Figure 23 : Pourcentage d'individus sur les plaques en caoutchouc en fonction de la température environnementale. Chaque point correspond à un transect.

Ce résultat révèle le caractère attractif des plaques en caoutchouc en fonction des contraintes thermiques environnementales (Fig. 24). Les plaques en caoutchouc sont de bons supports pour la capture des individus (meilleure visibilité, support plat et absence de végétation).



Figure 24 : Photographie de 4 femelles gravidas en thermorégulation sur un tapis de carrière (Flexbelt).

3. Méthodes d'étude

3.1 Suivi de population

3.1.1 Capture

La technique de capture employée est celle du lasso ou "noosing" (Blomberg & Shine 1996) qui consiste à passer un nœud coulant autour du cou de l'animal. Le nœud coulant est fixé au bout d'une canne à pêche de 3m, distance relativement importante qui limite les tentatives de fuite (Fig. 25).



Figure 25 : A gauche : Capture d'un lézard des murailles par la technique de « noosing » ou lasso. A droite : Nœud coulant fixé sur une canne à pêche et utilisé pour de la capture des lézards.

Par ailleurs, un réseau de plaques en caoutchouc a été installé afin de faciliter les captures. En effet, de par leurs propriétés physiques, ces plaques permettent d'augmenter la qualité thermique de l'habitat car leur cinétique de variation de température est très élevée. Les individus utilisent majoritairement ces plaques comme substrat de thermorégulation. Le bénéfice de ces plaques est maximal lorsque les conditions météorologiques sont nébuleuses. Les individus en thermorégulation sur une plaque sont alors plus faciles à repérer à distance. De plus, ces plaques peuvent également servir de refuge ou d'abri nocturne et peuvent donc permettre d'augmenter les opportunités de capture des individus.



Ce suivi démographique initié en 2006 est capital pour adresser efficacement les variations ontogéniques dans l'investissement reproducteur et la phénologie des dates de pontes. Sur les 5 années d'étude, 1800 individus ont été marqués sur le site du CEBC.

3.1.2 Marquage

Les individus capturés étaient ramenés au laboratoire afin de collecter plusieurs mesures individuelles. Un marquage permanent est réalisé au CEBC selon la méthode dite du "Hot Branding" depuis 2006 (Vervust & Van Damme 2009). Cette technique consiste à brûler superficiellement certaines écailles ventrales et à attribuer ainsi un code individuel à chaque lézard. Les avantages de cette méthode sont divers, notamment car elle se substitue à l'ablation de doigts, bien plus invasive pour l'individu marqué (Winne *et al.* 2006). Ce code est réalisé sur les 4 colonnes ventrales principales. Une ligne horizontale est tout d'abord marquée à la base, représentant la ligne de référence. Ensuite, (de gauche à droite) la première rangée représente la rangée des « milliers », la seconde celle des « centaines », la troisième celle des « dizaines » et enfin la dernière celle des « unités ». Le marquage restera lisible malgré les différents épisodes de mue, toute la vie de l'individu.

Nous utilisons un cautère Aaron basse température (environ 700°C) pour marquer tous les individus (jeunes comme adultes) (Fig. 26). Ce type de cautère a déjà été utilisé avec succès dans de précédentes études (Winne *et al.* 2006 ; Vervust & Van Damme 2009). L'écaille doit devenir bleue (Fig. 27). Pour les nouveau-nés (environ 350mg) obtenus en captivité, nous attendons qu'ils aient environ 1 mois avant de les marquer afin que les écailles soient un peu plus visibles.

Il est possible que le marquage s'estompe au bout de plusieurs mois ou années. Dans ce cas le marquage est alors « rafraîchi » avec le cautère.



Figure 26 : Cautère Aaron basse température utilisé pour le marquage des lézards.

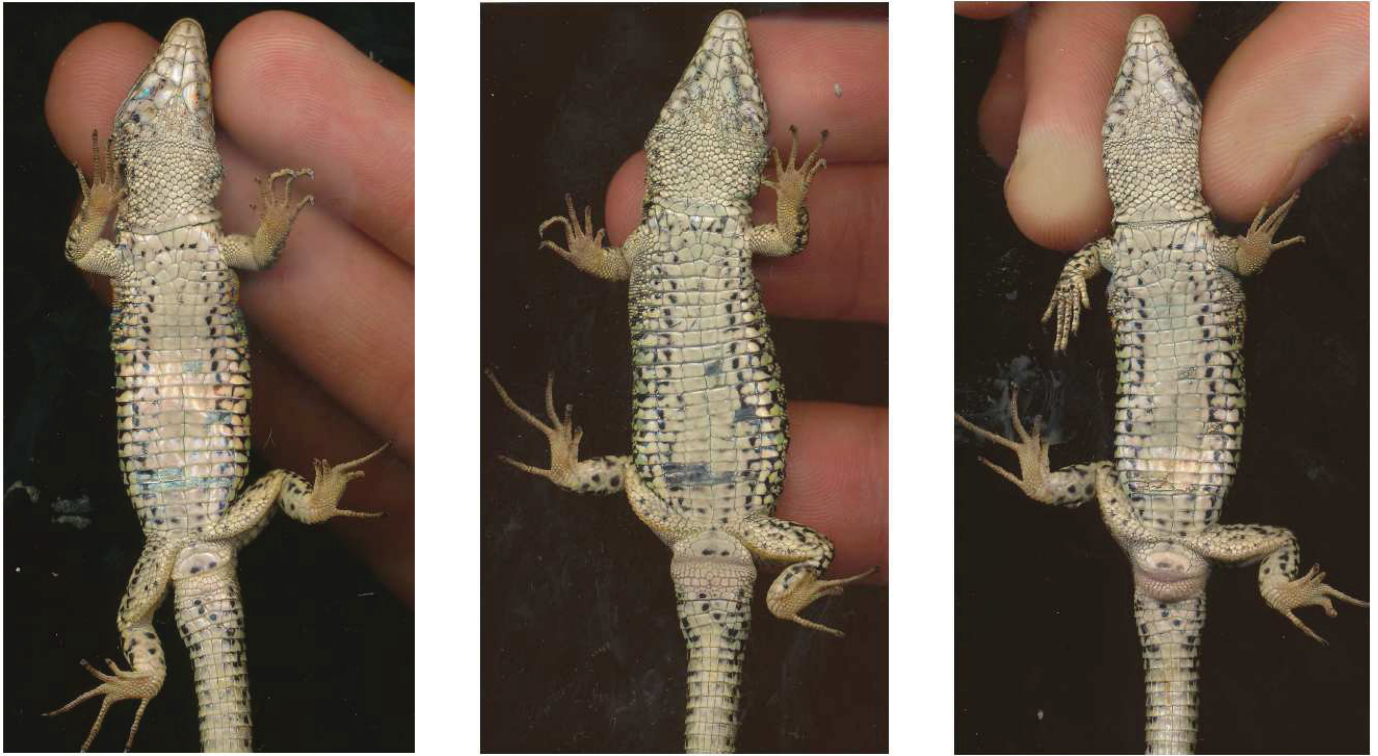


Figure 27 : Scans réalisés au CEBC montrant l'évolution du marquage du mâle 1195. (A) Marquage à la 1ère capture (26 février 2009) ; (B) 2ème capture (environ 2 mois après le marquage, 4 mai 2009) et (C) 3ème capture (environ 4.5 mois après le marquage, 10 juillet 2009).

3.1.3 « Scans » individuels

Les individus récemment capturés ont été systématiquement scannés (CanoScan 8800F, Canon) afin de répondre à plusieurs objectifs. Outre la constitution d'une bibliothèque de photos, la réalisation de ces scans permet un nombre important de mesures corporelles précises tout en limitant le temps de manipulation des individus et donc le stress induit (cf. détails ci-après).

Nous avons utilisé le logiciel Inkscape qui permet de mesurer la distance d'un tracé sur une image après avoir préalablement calibré avec le facteur de conversion (pixels vers cm).

3.2. Maintien en captivité et manipulation des conditions de développement

3.2.1. Maintien en captivité des femelles

Afin d'adresser les caractéristiques de la reproduction (phénologie, taille de ponte), les femelles détectées gravides étaient maintenues individuellement dans des terrariums en plastique (41 x 23 x 17cm) et disposaient d'un gradient thermique fourni par une ampoule de 25w localisée à une extrémité du terrarium. Un néon diffusant des rayons UV était également installé. La période de temps journalière pendant laquelle la thermorégulation était possible dépendait des questions examinées (cf. article A1 par exemple). Plusieurs possibilités de cachettes étaient offertes aux animaux. De l'eau et de la nourriture (grillons et vers de farine) étaient distribuées à volonté.

Un bac rempli de sable était utilisé par les femelles gravides comme site de ponte.

3.2.2. Incubation des œufs

Les œufs d'une même ponte ont été pesés puis mis en incubation dans des pots remplis de vermiculite (1 volume pour 2.5 volume d'eau). Les œufs ont été attribués à différentes températures (variables là encore selon les expériences) dans des incubateurs (Fig. 28, 29) (FOC 225E, Velp Scientifica, Usmate 20865, Italie).



Figure 28 : Incubateur utilisé pour manipuler les conditions d'incubation des œufs.



Figure 29 : Ecllosion d'un œuf de lézard des murailles.

3.2.3. Elevage des jeunes

Les nouveau-nés ont été maintenus en captivité (mêmes conditions que décrites précédemment pour les femelles gravides) pendant leur premier mois de vie afin de collecter différentes mesures morphologiques (SVL, TL, masse corporelle), de croissance et de comportement (défense, thermorégulation). Des grillons de taille adaptée saupoudrés de calcium et de l'eau étaient distribués à volonté. Après les différentes mesures effectuées, les jeunes ont été marqués à l'aide du cautère puis relâchés en enclos expérimentaux extérieurs (Fig. 30) pour un suivi à long-terme de leurs trajectoires ontogéniques.

Les enclos (4m x 4m) étaient équipés d'abris enterrés favorisant les et de divers substrats de thermorégulation (plaque en caoutchouc, dalle de béton, graviers). Des briques alvéolaires servaient de cachette.



Figure 30 : Aménagement des enclos extérieurs utilisés afin d'explorer les effets long-terme du développement.

3.3. Variables collectées

3.3.1. Mesures individuelles

Morphométrie :

La taille corporelle des individus est exprimée par deux mesures : la SVL (Snout-to-Vent Length = longueur museau-cloaque) et la TL (Total Length = longueur museau-bout de la queue) (Fig. 31). Les individus étaient également pesés (à 0.001g pour les nouveaux-nés et à 0.01g pour les sub-adultes et adultes). La condition corporelle correspond aux résidus de la régression linéaire entre la masse et la taille corporelle. Lorsque la queue avait subi une autotomie, la position du point de rupture était identifiée ainsi que la longueur de la queue de repousse.

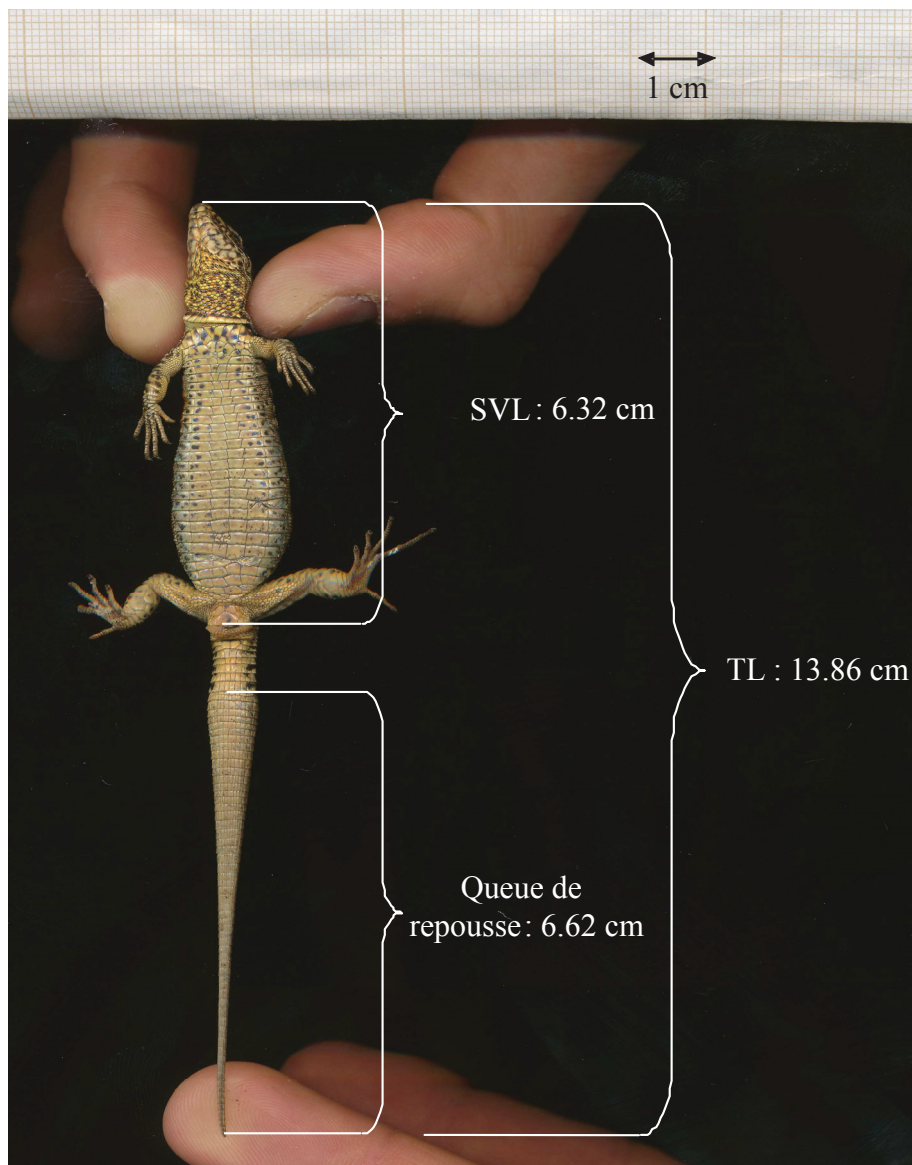


Figure 31 : Exemple de mesures individuelles réalisées sur un scan.



Volume et condition caudale :

Nous avons également mesuré les caractéristiques caudales (longueur et volume). Nous avons tout d'abord mesuré la longueur totale. Cette longueur a été divisée en 8 et nous avons collecté les diamètres moyens pour chaque section (toujours à l'aide du logiciel Inkscape) (Fig. 32). Nous avons alors estimé le volume des sections par la formule ($\pi \cdot R^2 \cdot L$). La somme des 8 volumes nous a permis de produire une estimation du volume total.

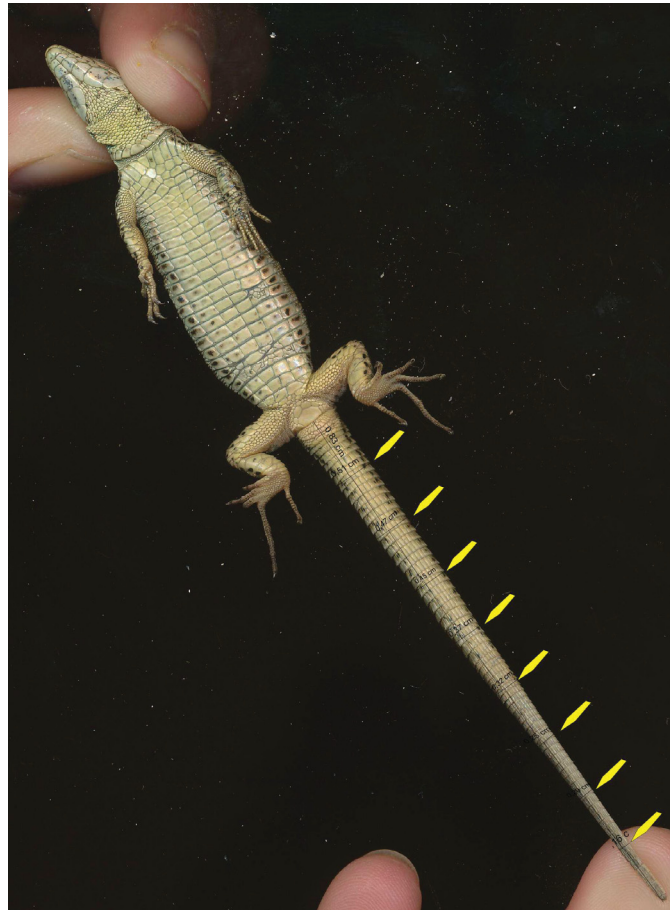


Figure 32 : Exemple de mesures effectuées pour adresser l'état des réserves caudales chez une femelle de lézard des murailles.

Détermination de l'âge :

L'âge est un paramètre crucial dans notre étude. La croissance étant de type asymptotique, la taille corporelle n'est pas strictement liée à l'âge. En fait, les données de croissance issues de suivi démographique indiquent que la taille corporelle maximale est atteinte vers l'âge de 3 ans (Mou 1987). L'âge a pu être déterminé à travers 2 méthodes complémentaires. D'une part pour les



individus capturés juvéniles (nés l'année en cours) ou sub-adultes (nés l'an passé), l'année de naissance était connue. Les individus n'ayant pas atteint une taille maximale mais présentant une taille supérieure à des individus d'un an étaient catégorisés à 2 ans. Enfin pour les autres individus, les histoires de capture-recapture ont permis d'attribuer une estimation de l'âge robuste (catégories d'âge 3+, 4+ et 5+). Ce suivi initié en 2006 n'a pas permis d'adresser l'effet du vieillissement sur les caractéristiques de reproduction. Néanmoins, notre étude visait principalement à adresser les variations ontogéniques précoces dans la reproduction et la croissance qui interviennent pendant les 3 premières années de la vie (Mou 1987).

Statut reproducteur :

Pendant la période de reproduction, le statut reproducteur des femelles a été identifié selon 2 méthodes complémentaires. La première était basée sur l'observation visuelle et permettait d'adresser rapidement le statut de gravidité pour les femelles présentant un embonpoint marqué et dont les œufs étaient clairement palpables et les femelles post-ponte (caractérisées par des plis très marqués sur les flancs). Pour les autres femelles capturées, une échographie (MicroMaxx, Sonosite, Inc. USA) a permis de déterminer avec précision leur statut reproducteur. En effet, l'échographie permet de distinguer les follicules des œufs (Gilman & Wolf 2007). Les follicules sont sphériques et successivement peu échogènes (sombres) puis très échogènes (lumineux) alors que les œufs sont allongés et peu échogènes (DeNardo 1996 ; Gilman & Wolf 2007). A des stades tardifs, la coquille est très échogène du fait de la calcification (Fig. 33). L'échographie permet donc de distinguer les femelles vitellogéniques (follicules en croissance) des femelles gravides au sens stricte (i.e. après l'ovulation). Cette distinction est très importante car elle nous a permis de garder sélectivement les femelles gravides en captivité afin d'obtenir les caractéristiques de la ponte (date, taille, masse). En effet, un maintien en captivité à un stade précoce aurait pu faire échouer la ponte.

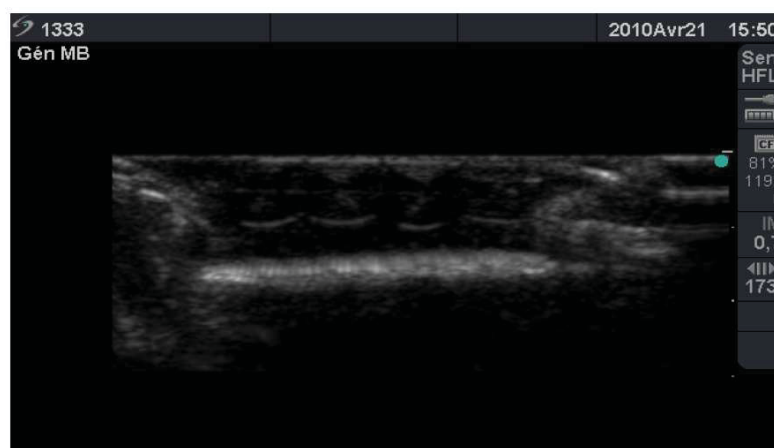


Figure 33 : Echographie de la femelle 1333 du 21 avril 2010. L'examen révèle la présence d'œufs clairement formés et calcifiés. Cette femelle pondra 7 œufs en captivité le 5 mai et tous éclore.



Phénologie de la reproduction :

Tout comme l'ontogénie, la phénologie de la reproduction est un évènement crucial dans notre étude. Grâce à un effort de capture important en début de période de reproduction, nous avons eu accès aux pontes les plus précoces. Ensuite, des captures successives ont permis d'attribuer le nombre d'évènements de reproduction au cours de la saison. Nous avons observé un nombre trop réduit de femelles présentant 3 épisodes de ponte annuels pour les inclure dans les analyses statistiques.

Informations additionnelles :

La présence et l'abondance de tiques (ectoparasitisme) a été systématiquement relevée (Fig. 34). Par ailleurs, les traces de morsures ont été collectées sur les flancs ou sur la queue. Les éventuelles amputations de doigts ont été notées.

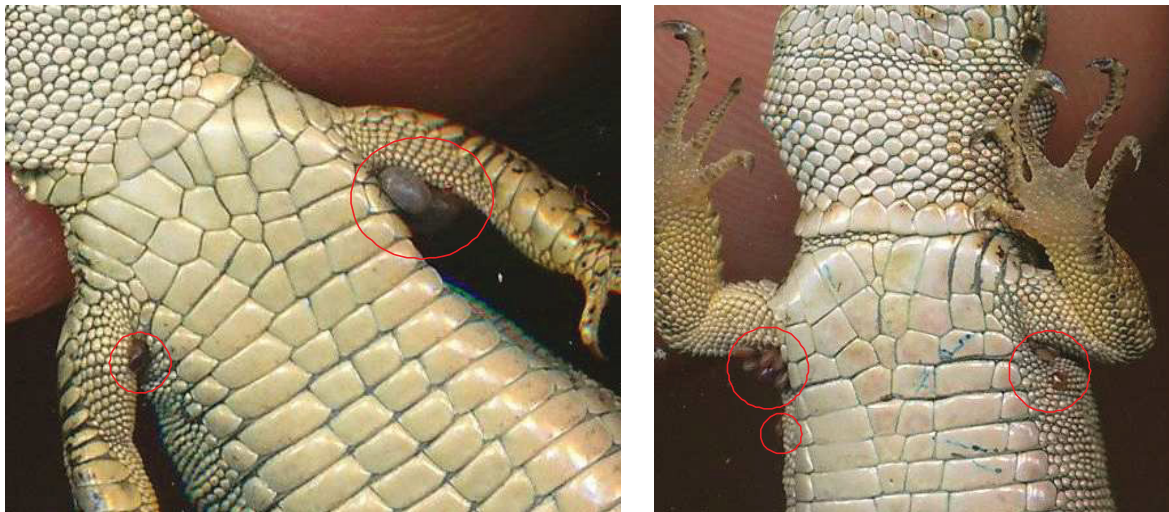


Figure 34 : Scans de la femelle 1686 (à gauche) et de la femelle 1420 (à droite) illustrant la présence de tiques.

3.3.2. Mesures sur les jeunes

Les nouveau-nés ont été maintenus en captivité (mêmes conditions que décrites précédemment pour les femelles gravides) pendant leur premier mois de vie afin de collecter différentes mesures morphologiques (SVL, TL, masse corporelle), de croissance et de comportement (défense, thermorégulation). Les mesures de taille corporelle ont été réalisées de la même manière que pour les adultes (scans) et les juvéniles ont été pesés à l'aide d'une balance de précision (0.001g) Le



sexage des juvéniles a été réalisé grâce à une combinaison de critères : patron des flancs, éversion des hémipénis et comptage des rangées d'écailles ventrales. Ils ont ensuite été marqués et relâchés en enclos expérimentaux pour un suivi à long-terme de leurs trajectoires ontogéniques.

Comportement de défense :

Peu de travaux se sont intéressés à quantifier ce comportement et nous avons donc dû adapter le protocole de Bonnet *et al.* (2005) et Aubret *et al.* (2011) à notre étude.

Avant le début du test, les individus étaient placés dans un incubateur (FOC 225E, Velp Scientifica, Usmate 20865, Italie), identique à ceux utilisés pour l'incubation des œufs, afin de les acclimater à la température du test (30°C). Le corps entier du lézard était tenu dans la main gauche afin d'éviter des contorsions de sorte que seule la tête était visible et mobile. Avec la main droite, nous avons stimulé le lézard avec un pinceau pendant 1 minute et compté le nombre de morsures.

Comportement de thermorégulation :

Nous avons collecté les préférences thermiques des juvéniles à l'aide d'un gradient thermique (15x70cm, gamme de température : 20-42°C). Les mesures ont eu lieu dans une salle climatisée à 20°C. Les individus ont été placés dans le gradient thermique pendant au moins ½ heure avant d'initier le test. Au bout de 20 minutes, la température corporelle de surface (T_{set}) a été enregistrée grâce à un pistolet thermique infrarouge (Raytek Corporation, Santa Cruz, USA). Nous avons adapté ce protocole selon Andrews (2008) et la méthode de mesure de la température respectait les recommandations de Hare *et al.* (2007).

3.3.3. Réponse adrénocorticale

Nous avons étudié les variations saisonnières et l'influence du sexe dans la réponse adrénocorticale. La technique consiste à prélever le sang dans la paupière des individus (l'endroit où la peau est la plus fine) (Fig. 35). Un capillaire de 20 µL est glissé sous la paupière et un mouvement circulaire permet de rompre le sinus orbital. Deux capillaires sont ainsi prélevés et le sang est transféré dans un Eppendorf de 0.5 mL. Lorsqu'une prise de sang allait être pratiquée, un chronomètre était déclenché dès l'instant de la capture. Cet Eppendorf est ensuite centrifugé à 2000 tours/min pendant 5 min. L'utilisation d'un autre capillaire permet de prélever facilement le plasma (contenant notamment les hormones). Le contenu du capillaire est alors déposé dans un second Eppendorf entouré de parafilm pour éviter toute évaporation.



Nous avons également étudié la réponse au stress (ou modulation adrénocorticale). Pour cela, nous avons placé ces lézards, déjà prélevés, 1 heure dans des cages transparentes en enceinte climatique (Vötsch Industrietechnik, Balingen, Allemagne) réglée à 28°C afin de créer une situation de stress. Une seconde prise de sang a ensuite été effectuée selon le même mode décrit précédemment.

Les échantillons sont stockés à -32°C jusqu'à la réalisation du dosage de la corticostérone par radio-immunologie au Centre d'Etudes Biologiques de Chizé. Cette technique de dosage est spécifiquement décrite dans l'article A4.



Figure 35 : A gauche : Réalisation d'une prise de sang dans le sinus orbital chez un lézard des murailles. A droite : le sang récolté est transféré dans un Eppendorf et sera ensuite centrifugé afin de prélever le plasma.

3.2.5. Etude de la paternité

Plusieurs études ont révélé un fort taux de multipaternité chez cette espèce (Nembrini & Oppliger 2003 ; Oppliger *et al.* 2007). Des analyses génétiques afin de déterminer le degré de multipaternité au sein de chacune des pontes ont ainsi été menées afin de tester d'éventuels changements phénologiques ou ontogéniques. Un prélèvement de queue de quelques millimètres était effectué sur la mère et ses descendants. Ces prélèvements ont ensuite été transférés dans des tubes Eppendorf remplis d'alcool. Les analyses ont eu lieu à l'Université Pierre et Marie Curie de Paris dans le laboratoire Ecologie et Evolution. La technique utilisée est décrite en détails dans les articles A3 et A4.



Résultats



Les résultats seront abordés sous formes d'articles pouvant être soit accepté (A4), soit en révision (A1), soit soumis (A2, A5), soit en préparation (A3, A6). Ils sont composés de trois chapitres qui correspondent aux articles cités précédemment. Chaque chapitre est composé d'un résumé détaillé du ou des articles (en français) et de l'article (en anglais). Les articles en préparation sont rédigés en français.

Les articles sont listés ci-dessous :

A1) **Le Hénanff M.**, Meylan S. and Lourdais O. Laying date and developmental conditions drive ontogenic trajectories in the wall lizard *Podarcis muralis*. En révision à Biological Journal of the Linnean Society.

A2) **Le Hénanff M.**, Meylan S. and Lourdais O. Ontogenic shift in resource allocation optimises reproductive success in a temperate ectotherm, the wall lizard (*Podarcis muralis*). Soumis à Oikos.

A3) **Le Hénanff M.**, Meylan S., Richard M. and Lourdais O. La phénologie comme déterminant de la stratégie de reproduction (monoandrie vs. polyandrie) chez le lézard des murailles, *Podarcis muralis*. En préparation.

A4) Richard M., Stevens V.M., **Le Hénanff M.**, Coulon A., Lourdais O. and Clobert J. Fourteen new polymorphic microsatellite loci for the wall lizard *Podarcis muralis* (Sauria: Lacertidae). Molecular Ecology Resources, sous presse.

A5) **Le Hénanff M.**, Meylan S. and Lourdais O. Adrenocortical modulation reveals seasonal and sex dependent reproductive constraints in a temperate lizard (*Podarcis muralis*). Soumis à General and Comparative Endocrinology.

A6) **Le Hénanff M.**, Blouin-Demers G. and Lourdais O. Facteurs proximaux de l'ectoparasitisme chez le lézard des murailles (*Podarcis muralis*) : influences saisonnières et du statut reproducteur. En préparation.

Chapitre 1

Influence des conditions de développement sur les trajectoires individuelles



« De nos jours, on survit à tout sauf à la mort. »

Oscar Wilde



Résumé du chapitre

La reproduction impose des besoins thermiques accentués chez les ectothermes notamment. Les conditions environnementales peuvent être à l'origine de variations dans les trajectoires individuelles. Chez des espèces de climat tempéré et à pontes multiples comme le lézard des murailles, les conditions de développement peuvent donc être particulièrement contraignantes et fluctuantes. Nous avons étudié la nature des contraintes thermique à la fois de façon descriptive et expérimentale.

L'étude de la qualité thermique de l'habitat a révélé de fortes contraintes printanières dans la thermorégulation avec environ 25% des journées où la température environnementale n'atteint jamais la température préférée des individus. Les lézards répondent favorablement à l'ajout d'un matériau (tapis de carrière flexbelt) permettant d'améliorer la qualité thermique de l'habitat. Ces plaques sont utilisées pour les avantages thigmothermiques lors de conditions météorologiques nébuleuses. Cette thermorégulation est à l'origine d'une exposition importante et d'une prise de risques significative. En parallèle, une telle exposition peut être avantageuse si les bénéfices conférés en terme de performances reproductives sont élevés. Les suivis thermiques dans les sites de ponte soulignent que les contraintes environnementales s'expriment aussi pendant l'incubation.

Les conditions thermiques de développement peuvent conduire à des variations phénotypiques importantes et influencer les trajectoires ontogéniques. Le lézard des murailles présente une période de reproduction étendue et est donc particulièrement exposé à ces fluctuations thermiques saisonnières. Il existe également de fortes variations inter individuelles dans les dates de ponte et donc dans l'exposition aux conditions thermiques. Nous avons manipulé les opportunités de thermorégulation chez les femelles gravides et les conditions thermiques d'incubation (A1). Nous avons étudié les effets de telles variations sur la phénologie et la morphologie (taille, condition corporelle) à la naissance. La date de naissance est fortement influencée par la date de ponte et la température d'incubation. Le développement est de 65.9 jours à 23°C et seulement 32.6 à 29°C. Les individus développés en conditions fraîches sont plus petits à la naissance et présentent une condition corporelle plus élevée. Nos résultats montrent une croissance compensatoire chez ces mêmes individus sur le premier mois de leur vie. Des mesures de comportement de thermorégulation montrent une température sélectionnée plus élevée chez les individus incubés au chaud (38.3 vs. 36.0°C).



Nous avons exploré les effets long terme de ces perturbations sur la survie hivernale et la croissance des individus. Nos résultats montrent un impact très marqué de la date de ponte et du traitement d'incubation sur la survie hivernale. Les individus développés dans des conditions fraîches ont un taux de survie 5 fois inférieur à ceux incubés au chaud (14.8% vs. 73.6%). Nous avons testé les facteurs déterminants la survie au sein de chaque groupe. Chez les individus incubés au chaud, la survie est favorisée par une date d'éclosion précoce et la taille corporelle au moment du relâché en enclos. La survie des individus incubés en conditions fraîches est aussi associée à une date d'éclosion précoce mais également à un taux de réponse dans le comportement de défense très élevé. Enfin, la croissance est altérée chez les individus incubés en conditions fraîches et se traduit par une taille corporelle plus faible à un an (45.9 vs. 52.6 mm).

Ces travaux révèlent l'importance de la phénologie (date de ponte) et des conditions de développement sur les trajectoires individuelles. Dans un environnement contraint thermiquement, des dates d'éclosion précoces sont associées à un meilleur succès reproducteur. Cet effet est notamment lié à une période de croissance pré-hivernale relativement longue qui permet aux individus d'atteindre des tailles corporelles importantes avant l'hivernage.



Manipulation des conditions de développement et impact sur les trajectoires individuelles

Note : Au cours de l'année 2008, nous avons capturé des femelles gravides que nous avons gardées en captivité afin de récolter les pontes et incuber les œufs à 3 régimes thermiques (23, 26 et 29°C constant). L'objectif de cette étude était d'explorer les effets long terme de telles variations de conditions de développement. Les enclos extérieurs nécessaires pour adresser une telle question n'ont pas pu être achevés dans les temps requis. Cette première expérience n'a donc pas pu être menée à terme mais a permis de collecter des informations sur les caractéristiques de la reproduction.

L'expérience a été reconduite lors de la saison 2009. Les résultats obtenus sont réunis dans la publication (A1) et sont présentés ci-après.



Running head: Early conditions drive individual trajectories

Laying date and developmental conditions drive ontogenic trajectories in the wall lizard *Podarcis muralis*

Maxime Le Hénanff^{1,2}, Sandrine Meylan^{3,4} and Olivier Lourdaïs^{1,5}

¹*Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, 79360, Villiers en Bois, France*

²*Université de Poitiers, 40 avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers, France*

³*Laboratoire d'Ecologie, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai Saint Bernard, 75252 Paris Cedex 05, France*

⁴*IUFM de Paris-Université Sorbonne Paris IV, 10 rue Molitor, 75016 Paris, France*

⁵*School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-4501, USA*

Correspondence:

Maxime Le Hénanff, CEBC-CNRS UPR 1934

79360 Villiers en Bois, France

Phone: + 33 (0) 5 49 09 35 52

Fax: + 33 (0) 5 49 09 65 26

E-mail: lehenanff@cebc.cnrs.fr

Biological Journal of the Linnean Society, in revision

Tables: 2 ; Figures: 4



Abstract

The significance of phenotypic plasticity and its relevance to understand variation in individual trajectories is a crucial evolutionary issue. Terrestrial ectotherms from temperate regions typically face seasonal fluctuations and constraints in thermal conditions. Developmental conditions (*i.e.* embryonic life) and reproductive timing (laying date) should induce phenotypic variations and influence subsequent ontogenic trajectories (growth and survival). We studied an oviparous squamate, the wall lizard (*Podarcis muralis*) with substantial variations in laying date. We experimentally manipulated maternal basking opportunities during gravidity (3, 6 or 9 hours per day) and incubation temperature (23 or 29°C).

Thermal treatments influenced hatching date and hatchling morphology but the variation was mainly due to incubation conditions. Individuals from cool incubation temperature had a delayed date of birth, were smaller but had a higher body condition and grew faster during the first month of life. Offspring behaviour was driven by complex interactions between gravidity and incubation treatments. Under warm incubation temperature, defensive behaviour was low except when basking opportunities were restricted to 3 hours. Individuals from cool incubation temperature showed higher defensive response independently of gravidity treatment.

Winter survival was influenced by laying date in both incubation treatments (early laying favouring offspring survival). Survival was much lower in cool than warm-incubated individuals (14.8% and 73.6% respectively) but was positively influenced by offspring defensive behaviour in the former group. A long-term (>1year) alteration of growth was detected in cool-incubated individuals.

Keywords: cohort variation – long-term effects – phenotypic plasticity – temperature – timing of hatching.



Introduction

Fluctuations in biotic and abiotic conditions are important determinants of phenotypic variation as they can shape individual ontogenic trajectories and individual performances. For instance, early developmental conditions can have immediate effects on birth weight and early growth (Sæther 1997 ; Forchhammer *et al.* 2001) as well as delayed, long-term effects on survival and breeding performance (Albon *et al.* 1987 ; Gaillard *et al.* 1997 ; Lindström 1999 ; Forchhammer *et al.* 2001 ; Lindström & Kokko 2002). Those effects can result in significant cohort variations (Albon *et al.* 1987 ; Gaillard *et al.* 1997 ; Descamps *et al.* 2008) that have been reported in a diversity of taxa like birds (Reid *et al.* 2003 ; Van de Pol *et al.* 2006), mammals (Albon *et al.* 1987 ; Forchhammer *et al.* 2001 ; Gaillard *et al.* 2003) and reptiles (Le Galliard *et al.* 2010).

Cohort variations in phenotype (morphology, behaviour) and performance (growth, survival) have attracted significant interest in population biology, especially in species reproducing once a year (Albon *et al.* 1987 ; Gaillard *et al.* 1997 ; Forchhammer *et al.* 2001 ; Descamps *et al.* 2008 ; Le Galliard *et al.* 2010). Cohort variations can profoundly affect individual developmental trajectories and a key evolutionary question is whether observed phenotypic plasticity results from environmental constraints or from compensatory responses to the environment (Ghalambor *et al.* 2007). For instance, the significance of variation strongly depends on the nature of the future environment (Relyea 2002 ; Barker & Osmond 1986 ; Hales *et al.* 1991 ; Gluckman *et al.* 2007). Theoretical models predict that adaptive plasticity is likely to occur when the environmental cues offer reliable information, allowing close phenotype-environment matching (Reed *et al.* 2010). The clarification of proximate determinants of phenotypic plasticity in a relevant ecological context is a crucial step to better understand inter-individual variations in ontogenic trajectories (Padilla & Adolph 1996).

Many organisms reproduce at a high frequency (more than once a year). In such cases, intra-annual and seasonal fluctuations in abiotic and biotic factors are likely to induce substantial cohort variations (for instance, within year variations linked to contrasted dates of birth) in individual developmental trajectories (growth, survival). Phenotypic plasticity should be particularly relevant in systems with strong (but somehow predictable) seasonal variations (Reed *et al.* 2010) to allow buffering the impact of environmental constraints. Prenatal conditions constitute a critical time period for environmental influences on individual traits at birth and subsequent ontogenic trajectories (Clark & Galef 1995 ; Henry & Ulijaszek 1996 ; Lindström 1999 ; Metcalfe & Monaghan 2001).

Temperature is the central environmental variable influencing most physiological processes in ectotherms (Huey & Stevenson 1979 ; Angilletta *et al.* 2002). Embryonic developmental rate is



particularly thermally sensitive (Deeming & Ferguson 1991 ; Andrews *et al.* 2000 ; Birchard 2004). Climatic conditions exert a direct influence on reproductive phenology and notably date of birth (Olsson & Shine 1997 ; Qualls & Shine 2000 ; Cadby *et al.* 2010), a critical trait for reproductive success (Warner & Shine 2007). Besides, developmental thermal conditions have profound effects on offspring phenotype at birth, affecting a diversity of morphological, physiological and behavioural traits (Deeming & Ferguson 1991 ; Shine *et al.* 1997 ; Wapstra 2000 ; Blouin-Demers *et al.* 2004 ; Watkins & Vraspir 2006) that can be fitness relevant (Braña & Ji 2000 ; Andrews *et al.* 2000 ; Du & Ji 2003 ; Andrews 2008).

Constraining thermal conditions during development are frequent in temperate squamates and therefore compensatory mechanisms are likely to exist (Du *et al.* 2010). Recent correlative studies in viviparous squamates reported that climatic conditions (rainfall and temperature) during development (embryogenesis and early juvenile life) affect offspring performance and induce significant cohort effects (Lourdais *et al.* 2004 ; Baron *et al.* 2010 ; Le Galliard *et al.* 2010). Similar effects are expected in oviparous species (Elphick & Shine 1998). Yet, the ontogenic significance of thermally induced phenotypic variation is rarely considered. In fact, most studies have focused on hatchling phenotype and early growth (Braña & Ji 2000 ; Andrews *et al.* 2000 ; Du & Ji 2003) but long-term effects remain poorly studied (Elphick & Shine 1998 ; Shine 2004 ; Warner & Shine 2007 ; Uller & Olsson 2010).

Most oviparous squamates retain eggs in the oviduct until one third of embryonic development is completed (Shine 1983). Gravidity is often associated with modified thermoregulation such as a shift in preferred body temperature (Charland & Gregory 1990 ; Daut & Andrews 1993 ; Robert *et al.* 2006 ; Braña 1993 ; Mathies & Andrews 1997) and a more precise maternal thermoregulation (Lourdais *et al.* 2008). While early developmental stages are presumably particularly sensitive (Shine 2004), only few studies have considered thermal influences prior to oviposition (Du *et al.* 2005 ; Shine 2006 ; Telemeco *et al.* 2010) and, to our knowledge, none addressed the long-term impact on individual performance.

Here, we examined the long-term impact of reproductive phenology and developmental conditions in the wall lizard (*Podarcis muralis*) in Western Central France. This multiple clutch species has an extended reproductive period and females show substantial variation in their reproductive timing (laying date). Thermal variations are particularly relevant during the reproductive season (including the gravidity period and incubation) and in combination with timing of reproduction should impact developmental conditions. Strong within year variations in hatchlings growth leading to contrasted ontogenic trajectories have been reported (Mou 1987 ; Barbault & Mou 1988). We manipulated maternal basking opportunities during gravidity and temperature during incubation. We



quantified phenotypic traits at birth (morphology, thermal preferences and defensive behaviour) and we measured long-term impact on survival and growth. We made the following predictions:

i) Thermal conditions during embryonic development should influence the expression of offspring traits at birth. Since early stages are particularly sensitive, we expect major impact of treatment during gravidity and significant interactions with incubation conditions.

ii) Laying date and developmental conditions should drive date of birth and determine subsequent ontogenic trajectories (growth and survival). Hatching date directly influences activity time available before the wintering period. Constraining developmental conditions (i.e. cool incubation temperature) should translate in altered survival and growth.

iii) Compensatory responses should exist to counterbalance constraining developmental conditions. Individual exposed to suboptimal (cold) temperatures should respond dynamically and express phenotypic responses that minimize the impact of delayed birth and optimize performances in their post-natal environment.

Materials and methods

Species and study area

The wall lizard, *Podarcis muralis* (Laurenti, 1768), is a small-sized West European lacertid lizard with an adult Snout to Vent Length (SVL) of about 50 - 65 mm. This heliophilic species is an active thermoregulator that generally occupies open and stony habitats where cracks are used as refuges. Winter emergence usually occurs in February-March while matings begin in April. Reproductive period is long (April to August) and females can lay up to 3 clutches per year. Embryonic stage at oviposition ranges from 25 to 29 in Dufaure and Hubert's (1961) classification (Braña *et al.* 1991). Gravid females have significantly lower preferred body temperature than non-gravid females (respectively 32.6°C and 34.0°C) (Braña 1993) but they bask more intensely (Tosini & Avery 1996). The present study was conducted from spring 2009 to fall 2010 at the Centre d'Etudes Biologiques de Chizé in Western Central France (46°07'N ; 00°25'W) where a large population is monitored since 2006 (over 1,800 individuals marked). The study site is characterized by a temperate oceanic climate. Thermal conditions (Fig. 1) and notably maximal temperatures fluctuate seasonally and annually.

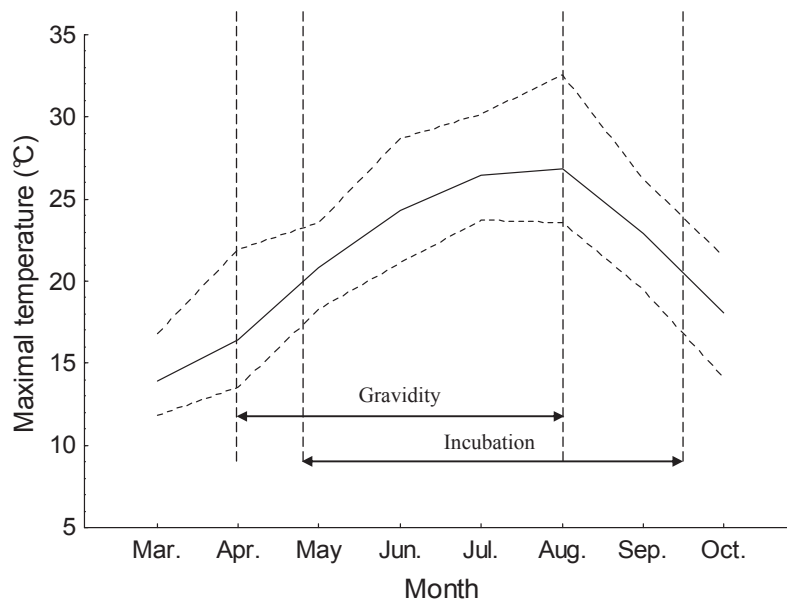


Figure 1. Thermal conditions (shaded air temperature 1.5m above ground, Météo-France weather station) measured in Niort (46°19'N ; 00°28'W) over the period 1990-2010. Full line represents mean monthly maxima and dashed lines represent lower and upper maximal temperatures. Source: Météo France. Relevant reproductive periods (gravidity and incubation) are designated between vertical dashed lines.

Husbandry of gravid females

Gravid *Podarcis muralis* females were captured during basking or when found under their nocturnal shelter. Reproductive status was assessed by abdominal palpation and ultrasounding (MicroMaxx, Sonosite, Inc. USA). Regular ultrasound monitoring indicates that gravidity period (from folliculogenesis to oviposition) lasts for about two weeks (Lourdais, pers. obs.). To prevent any confounding effect linked to possible alterations of maternal allocation among clutches, we only collected first clutches. Females ($n = 51$) were housed individually in plastic cages (Fauna Box, 41x23x17cm) in a temperature-controlled room set at 20°C. Cages were illuminated with an Osram Biolux 58W 3700 lm neon tube to provide UV. Each cage was individually fitted with a 25 watt spotlight at one end to establish a gradient temperature for basking. A basking support was installed to provide full access to the heat source, establishing a thermal gradient of 21°C-40°C. Water was provided *ad libitum* and individuals were fed *ad libitum* with crickets (*Acheta domesticus*) and mealworms (*Tenebrio molitor*) until oviposition. Mean duration in captivity was 15.0 days (range 3-28) and females were released at the site of capture after oviposition.



Experimental design

To test the effect of maternal basking opportunities on hatchling phenotype, we designed three experimental treatments (Fig. 2) in which gravid females were allowed to bask for 3 ($n = 16$), 6 ($n = 17$) or 9 hours ($n = 18$) per day. The ecological relevance of this design was supported by measuring operative temperature in various habitats (Le Hénanff M., unpublished data) in the study site. Using copper models (50x20mm painted in brown) we found that time available at T_{set} was variable ranging from 1 to 8 hours (mean: 6.1 hours) per day in early spring.

Females were randomly assigned to one of the three treatments. Each cage was checked twice daily and freshly laid eggs were removed, weighed to the nearest 0.001g and half-buried in moistened vermiculite (2.5 g water/1 g vermiculite). To control any confounding effects, we excluded females when the duration of basking treatment was inferior to seven days (8 females, 26 hatchlings excluded from analyses). After oviposition, we adopted a split-clutch design: each egg was transferred to one of two temperature-controlled chambers (FOC 225E, Velp Scientifica, Usmate 20865, Italy) at constant temperatures of 23°C and 29°C. These temperatures have been used in previous studies and represent contrasted but ecologically relevant incubation conditions (Van Damme *et al.* 1992 ; Braña & Ji 2000 ; Braña & Ji 2007). These conditions fall in the range of mean temperature recorded in different nest sites in this population (mean daily temperature ranging from 15 to 29°C over July and August). Finally, while thermal regime in the nest can fluctuate daily, stable temperatures are relevant since eggs are often laid under concrete slabs or under pavement roads that show high thermal inertia (Lelièvre *et al.* 2010a). Our mark-recapture study demonstrated that females differ in their reproduction timing resulting in important variation in laying dates for the first clutch (Julian days, mean: 135.4, range 111-181, Le Hénanff, Meylan & Lourdaïs, unpublished data). This wide range of laying dates nested in the split-clutch design represents a good opportunity to address combined effects of timing of reproduction and post-natal thermal conditions on individual trajectories.

Husbandry of hatchlings

We weighed (± 0.001 g) and measured (SVL to the 0.1 mm) each hatchling ($n = 153$). Hatchlings were identified individually and placed in individual cages (same as above). They were allowed to bask for 8h daily. Water was regularly sprayed and available *ad libitum* in a small cup. Lizards were fed with crickets three times a week and were maintained under these conditions until 1 month. At 1 month



of age, each individual was weighed, measured and its thermoregulatory and defensive behaviours were investigated (see below). Hatchlings were sexed by eversion of the hemipenes.

Juvenile behaviour

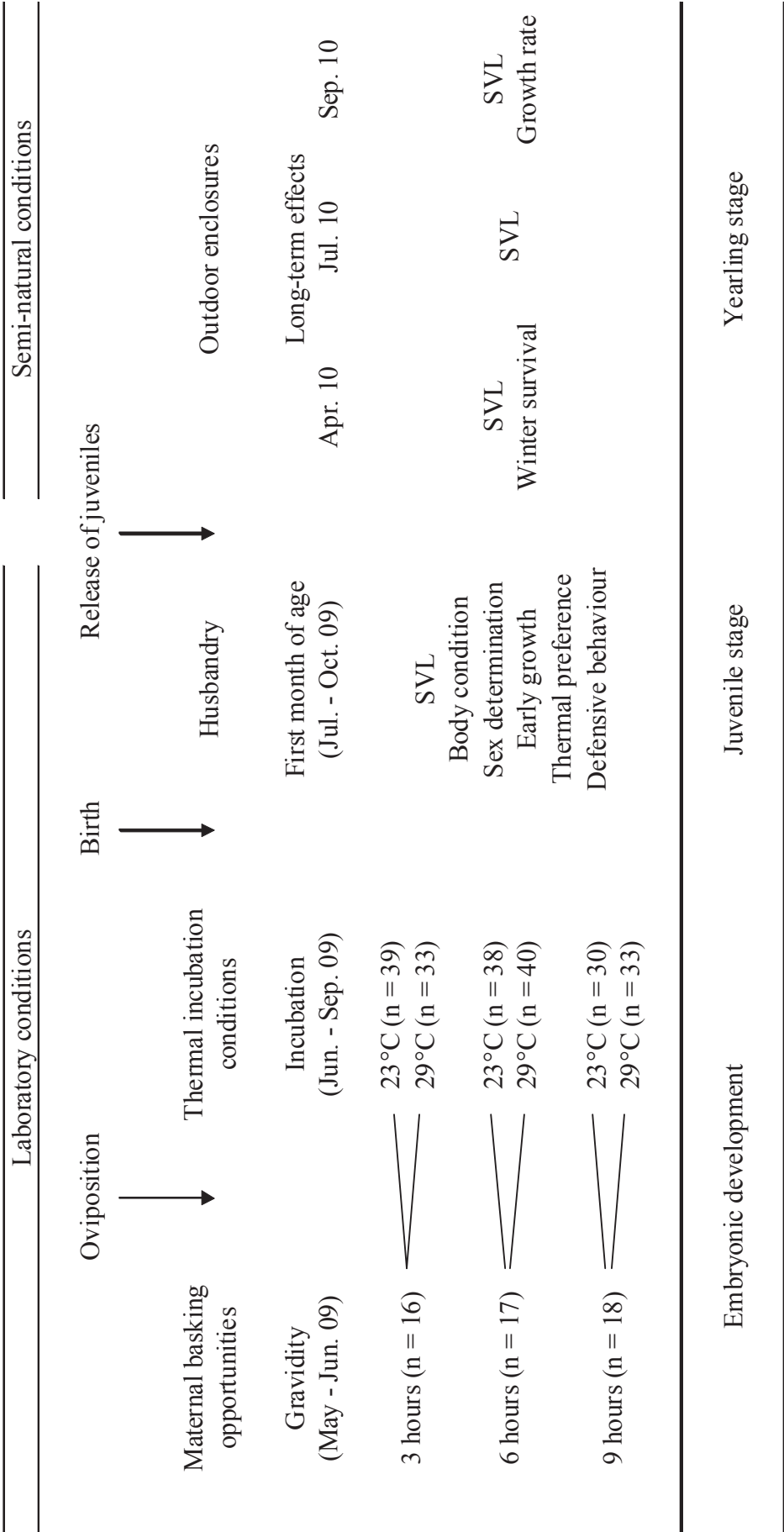
After one month of age, we recorded thermal preferences using a thermal gradient (temperature range 20°-42°C ; size 15x70cm) placed in a temperature-controlled room (20°C). Individuals were allowed to acclimate in the gradient for 30 minutes before the beginning of the test. Skin surface temperature (T_{set}) was recorded using an infrared laser thermometer (Raytek Corporation, Santa Cruz, USA) after 20 minutes of thermoregulation. Measurement procedure was similar to Andrews (2008) and respected recommendations from Hare *et al.* (2007).

We quantified defensive behaviour using a behavioural procedure adapted from Bonnet *et al.* (2005) and Aubret *et al.* (2011). Before the trial, each individual was placed in a temperature-controlled chamber (FOC 225E, Velp Scientifica, Usmate 20865, Italy) set at 30°C for at least 30 minutes to acclimate to the test temperature. With the left hand, we immobilized the whole body of the individual to avoid movements so that only the head was visible. With the right hand, we stimulated the lizard with a paintbrush for one minute and we counted the number of bites elicited.

Common garden experiment

At the age of one month, individuals were big enough to be individually identified by heat branding (Vervust & Van Damme 2009) of ventral scales with disposable medical cautery units (Aaron Medical Change-A-Tip cautery low temperature units ; Aaron Medical, St. Petersburg, Florida 33710, USA ; www.aaronmed.com). Each individual was then randomly released in one of our eight outdoor enclosures (4m x 4m). Individuals were later recaptured in April, July and September 2010 to estimate wintering survival and growth.

Figure 2. Experimental design used for the study.





Statistical analyses

We tested the effects of maternal basking opportunities and incubation temperature on phenology (incubation length), on clutch characteristics (sex, egg mass), hatchling morphology, juvenile thermal preferences and defensive behaviour, growth and survival. For phenology and clutch characteristics analyses, we used linear or generalized mixed models and performed ANOVAs or ANCOVAs for each thermal treatment with maternal basking opportunities and incubation temperature as fixed factors and female identity as a random factor. To address influence of gravidity and incubation treatments on hatching success and sex-ratio, we performed χ^2 tests by fixing theoretical results at respectively 80 and 50% (consistent with Ji & Braña 1999, with a similar incubation temperatures range).

For hatchlings traits analyses, we used mixed models and added mother identity as a random factor because siblings are not statistically independent (Massot *et al.* 1994). We used egg mass as a covariate for analysis of SVL and body condition at birth. SVL at birth was a covariate for analysis of early growth. SVL growth was calculated as difference in SVL divided by time interval. Hatchling body condition was calculated as residuals of the linear regression of body mass according to SVL. Maternal SVL adjusted clutch size (hereafter designed as maternal investment) was calculated as residuals of the linear regression of clutch size according to SVL. Because incubation temperature strongly impacted morphological and behavioural traits in lizards, we tested proximate determinants of survival within cool-incubated and warm-incubated individuals. We considered SVL and body condition at time of release, hatchling date and defensive behaviour. Addition of maternal basking opportunities did not improve the models. We used backward elimination as stepwise method: we started with all predictors in the model and we removed predictors one by one and used Akaike's Information Criterion (AIC) to select the best model. The best model is the model with the lowest AIC while using the fewest number of parameters. Two models differ when the difference in AIC between the two models is higher than 2. To address long-term effects of developmental conditions on body size and growth, we used multiple data points for individual lizards (as they were measured consecutively) and we added juvenile identity as a random factor.

We performed analyses with the R software (R Development Core Team 2010) using linear models (stats package), mixed models (nlme package) or generalized mixed models for survival analyses (lme4 package). We checked residuals of the models for normality and homoscedasticity, and computed Tukey's *post-hoc* tests to compare each of the treatment combinations with each of the other treatment combinations to determine which ones were significantly different. We accepted significance at an alpha level of 0.05.



Results

Phenology: incubation length and hatching date

Incubation length was significantly affected by incubation treatment ($F_{1, 117} = 18325.71$, $p < 0.001$; Table 1) but not by maternal basking opportunities ($F_{2, 116} = 0.14$, $p = 0.865$; Table 1). A $6^{\circ}\text{C}\cdot\text{day}^{-1}$ difference in incubation temperature two fold increased incubation duration (32.6 ± 0.2 days at 29°C vs. 65.9 ± 0.3 days at 23°C). Laying date was not influenced by maternal basking opportunities ($F_{2, 40} = 1.31$, $p = 0.282$). Since females engaged into reproduction at different times, we found an effect of both laying date ($F_{1, 115} = 223.18$, $p < 0.001$) and incubation temperature ($F_{1, 115} = 129.47$, $p < 0.001$) with an interaction effect ($F_{2, 114} = 4396.3$, $p < 0.001$) on hatching date.

Clutch characteristics

Mean clutch size (CS) was 5.5 eggs (range 3-11) and independent of maternal basking opportunities ($F_{2, 40} = 0.91$, $p = 0.412$). Maternal investment was not affected by maternal basking opportunities ($F_{2, 40} = 0.86$, $p = 0.429$). Mean egg mass was independent of both CS ($F_{1, 41} = 0.90$, $p = 0.348$) and maternal investment ($F_{1, 41} = 1.74$, $p = 0.195$). Mean egg mass was not influenced by maternal basking opportunities ($F_{2, 743} = 0.82$, $p = 0.433$). Neither CS nor maternal investment influenced following hatchling traits so they were not included as covariates in subsequent analyses.

Hatching success was independent of maternal basking opportunities ($\chi^2 = 4.05$, $df = 2$, $p = 0.132$), incubation temperature ($\chi^2 = 0.78$, $df = 1$, $p = 0.378$; Table 1) or their interaction ($\chi^2 = 4.94$, $df = 5$, $p = 0.423$). Similarly, offspring sex was not influenced by basking or incubation treatments (χ^2 , all p value > 0.150 , Table 1). Because sex effects were not the main focus of our study, males and females were pooled in subsequent analyses.

Hatchling morphology

SVL at birth was marginally affected by maternal basking opportunities ($F_{2, 112} = 2.79$, $p = 0.066$; Table 1) but significantly affected by incubation treatment. Hatchlings incubated at 23°C had slightly smaller SVL than those kept at 29°C ($F_{1, 113} = 4.66$, $p = 0.033$; Table 1).

Body condition was not dependent of maternal basking opportunities ($F_{2, 103} = 0.18$, $p = 0.835$; Table 1) but influenced by incubation treatment. Hatchlings incubated at 23°C were in higher body condition ($F_{1, 104} = 55.09$, $p < 0.001$; Table 1) than those incubated at 29°C .



Offspring behaviour and early growth

SVL growth over the first month of life was negatively influenced by SVL at birth ($F_{1, 92} = 23.97$, $p < 0.001$). When adjusted for SVL at birth, early growth was not affected by basking opportunities ($F_{2, 90} = 1.39$, $p = 0.255$; Table 1) but was highest in hatchlings incubated at 23 C ($F_{1, 91} = 4.74$, $p = 0.032$; Table 1).

We found no influence of maternal basking opportunities on T_{set} ($F_{2, 96} = 1.10$, $p = 0.336$; Table 1) but a significant impact of incubation temperature ($F_{1, 97} = 7.87$, $p = 0.006$; Table 1).

The defensive behaviour was affected by basking opportunities ($F_{2, 109} = 3.56$, $p = 0.032$), incubation temperature ($F_{1, 110} = 4.19$, $p = 0.043$) and the interaction between treatments ($F_{2, 106} = 3.65$, $p = 0.029$). In cool-incubated individuals, defensive behaviour was high, independently of the maternal basking opportunities ($F_{2, 44} = 0.13$, $p = 0.875$; Fig 3.). In warm-incubated individuals, defensive behaviour was high only when the maternal basking opportunities were reduced (3 hours) ($F_{2, 46} = 5.58$, $p = 0.007$; Fig 3.).

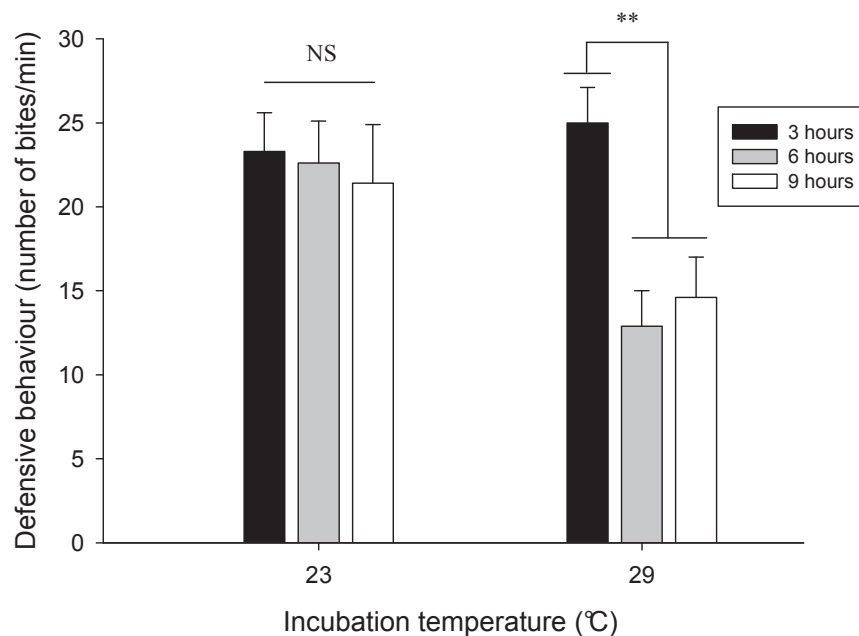


Figure 3. Influence of maternal basking opportunities and incubation temperature on defensive behaviour at one month of age in juvenile wall lizards in Western Central France. Data are represented mean $\pm$ S.E.

Table 1. Influence of maternal basking opportunities and incubation temperatures on clutches and hatchlings traits (data are presented mean $\pm$ S.E.). ^(*) $p < 0.001$; ^(**) $p < 0.01$; ^(*) $p < 0.05$; ^(¹) $p < 0.10$**

Clutches and hatchlings traits	Maternal basking opportunities (h)			Incubation temperature (°C)		
	3	6	9	23	29	Interactions
Incubation duration (days)						
		$F_{2,116} = 0.14$		$F_{1,117} = 18325.71^{***}$		$F_{2,113} = 0.90$
	49.4 $\pm$ 2.3	48.5 $\pm$ 2.2	47.5 $\pm$ 2.6	65.9 $\pm$ 0.3	32.6 $\pm$ 0.2	
Hatching success (%)						
		$\chi^2 = 0.61$		$\chi^2 = 0.61$		$\chi^2 = 1.17$
	76.8 (53/69)	72.7 (56/77)	81.5 (44/54)	73.0 (73/100)	80.0 (80/100)	
Proportion of males						
		$\chi^2 = 4.26$		$\chi^2 = 0.65$		$\chi^2 = 5.26$
	60.4 (32/53)	41.1 (23/56)	34.1 (15/44)	43.8 (32/73)	47.5 (38/80)	
SVL at birth (mm)						
		$F_{2,112} = 2.79^{(1)}$		$F_{1,113} = 4.66^{(*)}$		$F_{2,109} = 2.65^{(1)}$
	24.0 $\pm$ 0.2	24.3 $\pm$ 0.1	24.3 $\pm$ 0.2	24.1 $\pm$ 0.1	24.3 $\pm$ 0.2	
Body condition at birth (residuals $\cdot 10^{-2}$)						
		$F_{2,103} = 0.18$		$F_{1,104} = 55.09^{***}$		$F_{2,100} = 1.85$
	0.17 $\pm$ 0.54	0.60 $\pm$ 0.62	0.24 $\pm$ 0.46	2.2 $\pm$ 0.4	-1.7 $\pm$ 0.4	
Early growth (mm)						
		$F_{2,90} = 1.39$		$F_{1,91} = 4.74^{(*)}$		$F_{2,87} = 2.67^{(1)}$
	4.2 $\pm$ 0.2	3.9 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.1	3.7 $\pm$ 0.2	
T_{set} (°C)						
		$F_{2,96} = 1.10$		$F_{1,97} = 7.87^{**}$		$F_{2,93} = 0.54$
	37.7 $\pm$ 0.6	36.2 $\pm$ 0.8	37.4 $\pm$ 0.8	36.0 $\pm$ 0.6	38.3 $\pm$ 0.5	



Long-term effects

Incubation temperature significantly affected winter survival ($z = 6.70$, $p < 0.001$). Survival rate of the hatchlings incubated at 23 C was about 5 times lower than those incubated at high temperature (14.8% vs. 73.6%). Within cool-incubated individuals, best fitting model included laying date and defensive behaviour (Table 2). Within warm-incubated individuals, best fitting model included laying date and SVL at time of release (Table 2).

Table 2. Proximate determinants of winter survival according to incubation temperature in yearling wall lizards in Western Central France. The function with the lowest AIC is the one that best describes the data. Selected model is bolded. “SVL₁” denotes Snout-vent length at 1 month, “BC₁” Body condition at 1 month, “Lay.” Laying date, “Def. behav.” Defensive behaviour and “df” degree of freedom.

Parameters tested	df	23�C		29�C	
		AIC	� AIC	AIC	� AIC
SVL1 + BC1 + Lay. + Def. behav.	6	58.32	3.24	84.49	3.42
SVL1 + BC1 + Lay.	5	61.54	6.45	82.94	1.87
SVL1 + BC1 + Def. behav.	5	60.87	5.78	89.22	8.15
SVL1 + Lay. + Def. behav.	5	56.39	1.30	82.63	1.57
BC1 + Lay. + Def. behav.	5	57.07	1.99	86.53	5.46
SVL1 + Lay.	4	60.02	4.93	81.07	0.00
SVL1 + Def. behav.	4	59.87	4.79	87.38	6.31
Lay. + Def. behav.	4	55.09	0.00	84.54	3.47
SVL ₁	3	-	-	85.65	4.58
Lay.	3	59.33	4.24	83.66	2.59
Def. behav.	3	58.84	3.75	-	-

After adjusting for age, we found a significant impact of incubation conditions on body size measured in fall 2010 ($F_{1,34} = 10.93$, $p = 0.002$). Cool-incubated individuals were significantly smaller than warm-incubated ones (respectively 45.9 ± 1.3 mm and 52.6 ± 0.5 mm, Fig. 4). SVL growth was positively influenced by incubation temperature (1.5 ± 0.1 vs. 1.9 ± 0.1 mm.month⁻¹; $F_{1,35} = 14.67$, $p < 0.001$).

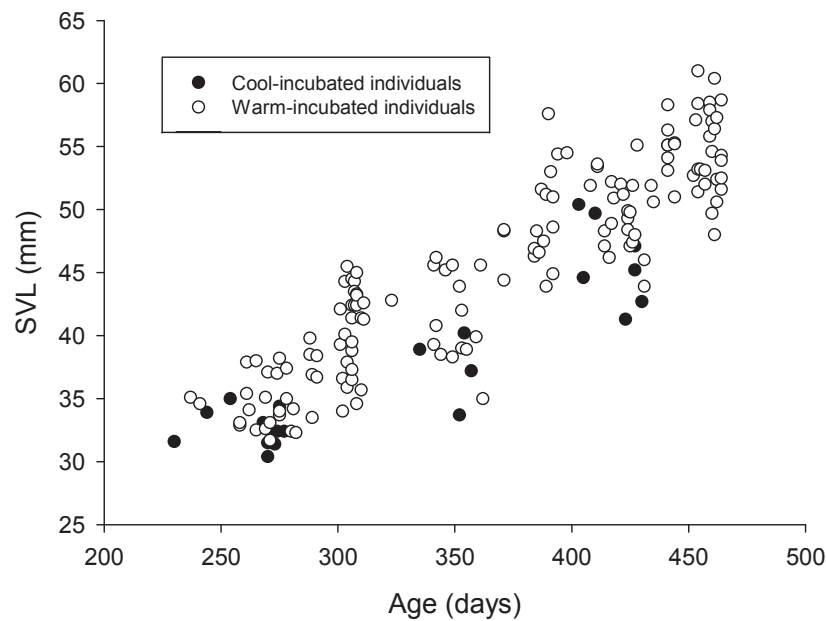


Figure 4. Influence of age and incubation temperature on successive post-wintering body sizes in yearling wall lizards in Western Central France.

Discussion

The aim of this study was to identify proximate factors of cohort variations in an oviparous temperate squamate that faces strong thermal variations during reproduction. Specifically, we tested the significance of female reproductive timing (laying date) and thermally induced phenotypic plasticity using an experimental approach. Our approach is original since we considered the entire developmental period (including gravidity and incubation). We addressed relatively long-term impact of developmental conditions on morphology, growth and survival.

The hatching success was high and similar in all the treatment combinations. However, thermal treatments strongly influenced the embryonic development. Incubation temperature mainly affected developmental time and, in combination with laying date, hatching date. Eggs incubated at 23°C hatched about 1 month later than siblings incubated at 29°C. In turn, we found no influence of maternal basking opportunities on incubation duration nor date of hatching. Importantly, date of birth was also strongly dependent on laying date in each treatment (i.e. female reproductive timing).

Early hatching date coincides with low intraspecific competition, warm environments and high trophic resources (arthropods). These factors can shape ontogenic trajectories (Olsson & Shine 1997 ; Qualls & Shine 2000) notably by favouring early growth. Increased growth can confer



substantial advantages, especially when intraspecific competition is high later in the season (Volkl 1989 ; Madsen & Shine 1998). Early hatched individuals are likely to experience long-term benefit that can be considered a “silver-spoon effect” (Grafen 1988 ; Madsen & Shine 2000 ; Qualls & Shine 2000). In support with this hypothesis, we found that incubation condition and laying date strongly influenced survival. Previous studies (Olsson & Shine 1997 ; Wapstra *et al.* 2010) reported that laying date can be correlated to female quality and that improved performances of early hatched individuals can result from phenological maternal effects. However, correlative studies make difficult to disentangle individual from environmental effects. In this study, split-clutch design allows addressing the relative impacts of female reproductive phenology and experimental treatment on offspring phenotype at birth and long-term trajectories (growth and survival). By influencing wintering survival within each incubation temperature group, our results underline the importance of maternal quality (throughout laying date). Yet, survival was strongly affected by incubation temperature and thus timing of hatching.

Offspring sex was independent of gravidity and incubation treatments which is consistent with previous findings (Van Damme *et al.* 1992 ; Ji & Braña 1999). Incubation conditions influenced offspring traits at birth. Hatchlings experiencing cool temperatures were smaller than siblings incubated in warm conditions. Small body size at birth and delayed hatching date negatively affect individual trajectory and fitness (Warner & Shine 2007 ; Uller & Olsson 2010). In species exposed to thermal constraints during early development (embryogenesis and juvenile life), we expect the occurrence of compensatory mechanisms. For instance, catch-up growth has been studied and reported in a wide range of taxa (Arendt 1997 ; Metcalfe & Monaghan 2001) and body size has been demonstrated as a major determinant of overwinter survival (Civantos *et al.* 1999 ; Smith 2002). In accordance with previous study on this species (Ji & Braña 1999), cool-incubated embryos grew faster during their first month of life. Body condition at birth was significantly higher in cool-incubated embryos and supported catch-up growth. Such effect of temperature on body condition at birth has been found in other species (Ji & Braña 1999 ; Baron *et al.* 2010) and suggests a differential use of yolk content (Ar *et al.* 2004). Besides phenology and morphology, we found a marked influence of treatment on offspring behaviour. First, incubation temperature influenced thermal preferences at one month of age. Cool-incubated individuals had T_{set} about 2°C lower than warm-incubated ones. This result coincides with previous findings in other species (Blouin-Demers *et al.* 2000 ; Blumberg *et al.* 2002) and may reflect a dynamic response to developmental conditions indicative of poor post-natal thermal environment. This aspect requires further investigation since contrasted activity could be also the main determinant of lower selected body temperature. For instance, an experimental study has revealed that thermoregulatory behaviour of juvenile wall



lizards was dependent of corticosterone levels and time spent in activity: corticosterone-increased individuals spent more time moving and thus had a reduced thermoregulatory activity (Belluere & Clobert 2004). Still, this result underlines a persistent impact of developmental conditions on thermoregulation.

Second, defensive behaviour was influenced by a complex interaction between gravidity and incubation treatments. In cool-incubated individuals, defensive behaviour was high and independent of maternal basking opportunities. In turn, for warm-incubated individuals, defensive behaviour was high only when daily basking opportunities were reduced (3 hours). Hence, mothers experiencing basking constraints may anticipate poor post-hatching thermal conditions. Maternal effects have been intensely studied (Mousseau & Fox 1998 ; Meylan & Clobert 2004, 2005) and egg yolk can be an important source of variation in hatchling phenotype through hormonal influences. Indeed, several studies have shown that maternal corticosterone level can influence offspring phenotype and behavioural profile (Thompson 1957 ; Takahashi *et al.* 1988 ; Meylan *et al.* 2004). Increased defensive behaviour could therefore be due to a maternal corticosteroid deposition in egg yolk (Schwabl 1993). Importantly, defensive behaviour was influenced in a similar way by incubation treatment with low temperature inducing higher defensive behaviour. A recent study documented compensatory cardiac acclimation in response to low incubation temperature (Du *et al.* 2010) in several oviparous reptiles suggesting that embryonic physiology can counterbalance unfavourable developmental conditions. The behavioural modifications reported here (higher defensive behaviour) may thus represent dynamic responses to optimize individual performances in a constraining (cold) post-natal environment. While little information is available in literature on fitness relevance of defensive behaviour (Civantos 2000 ; Lind & Cresswell 2005), this behavioural trait could be of particular importance in both interspecific and intraspecific interactions by enabling lizards to be more competitive and efficient in food acquisition during pre-winter growth period. For instance, a study in *Psammodromus* showed that the more aggressive individuals have bigger home ranges and that this last parameter influenced survival (Civantos 2000).

Developmental conditions affect a diversity of traits in squamates but a significant proportion of the variation induced can be reversible and a rapid compensation after hatching is known to occur (O'Steen & Janzen 1999 ; Shine 2004 ; Stahlschmidt & DeNardo 2009). Moreover, all behavioural or physiological modifications induced by developmental conditions are not fitness related. A central question is to understand to what extent the induced phenotypic variation is relevant to later individual trajectories (Shine 2004). The consideration of long-term effects is also an efficient way to address variations in maternal quality and laying date (Shine 2004).



As predicted, incubation temperature had a strong effect: individuals incubated at 23°C had a substantially low survival rate (14.8%) compared with those experiencing warm conditions (73.6%). Survival was negatively influenced by laying date within the two incubation groups. Several studies described that hatching date directly affects activity period before wintering (Olsson & Shine 1997 ; Uller & Olsson 2010). Extended activity period in early hatched individuals can result in increased food intake, growth and energy stores and thus enhance winter survival (Bauwens 1981 ; Olsson & Shine 1997). Not only activity period available for growth is reduced in late hatched individuals but this is altered by cool post-natal environmental temperatures (Fig. 1). Survival was low in cool-incubated individuals likely because of negative effects of timing of hatching. Besides laying date, we observed a significant influence of body size at time of release and defensive behaviour on survival. Survival was positively influenced by defensive behaviour. Since lizards were not exposed to predation, higher defensive behaviour likely conferred substantial competitive advantages while daily activity and foraging time were limited by cool environmental conditions. Therefore, higher defensive behaviour reported in late born individuals is likely a compensatory mechanism resulting from complex interactions between maternal effects during gravidity and embryonic response.

Finally, we found a significant influence of incubation treatment on annual growth rate and body size at one year of age. Growth was altered in the cool-incubated individuals while these individuals exhibited catch-up growth during the first month of life. As a result, warm-incubated individuals were significantly longer than cool-incubated ones at one year of age. Body size at maturity directly influences reproductive performances (Uller & Olsson 2010) and the developmental effects reported here are likely to entail a long-term impact on individual performances and fitness. These findings suggest the occurrence of both numerical cohort effects (differences in survival) and delayed quality cohort effects (altered growth rates) (Gaillard *et al.* 2003 ; Le Galliard *et al.* 2010).

Contrary to our initial prediction, hatchling traits were mainly influenced by incubation treatment rather than basking opportunities. At least two hypotheses could explain this result. First, gravidity conditions were not imposed but consisted in different basking opportunities (hence allowing for behaviourally induced variation). Second, even in the most constrained basking treatment, gravid females always had access to T_{set} which is critical for developmental quality. Overall, our results highlight the importance of maternal quality (laying date) and developmental conditions (gravidity and incubation) on subsequent ontogenic trajectories in a small ectotherm. We revealed possible compensatory mechanisms that partially counterbalanced constrained developmental conditions and delayed date of birth. Further studies are required to explore in details the links between embryonic conditions, individual trajectories and population dynamics.

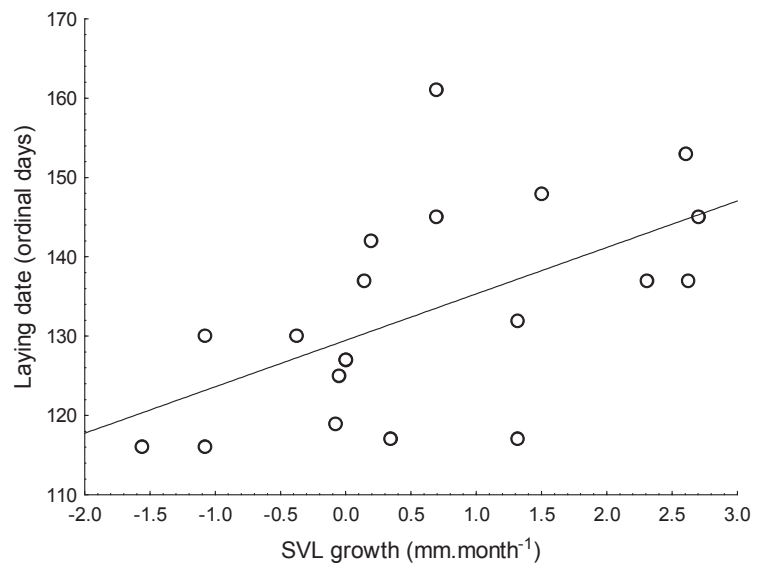
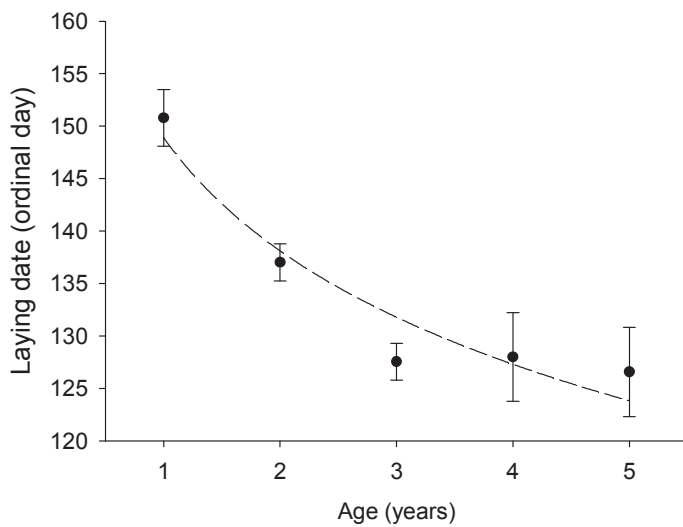


Acknowledgements

We thank many field volunteers for helping in lizards capture and assisting in data collection. Michael Guillon and Arzhela Hemery assisted with statistical analyses. Gabriel Blouin-Demers provided helpful comments on the manuscript. We thank Jean-Pierre Vacher and Janos Henniske for reading the manuscript. This work was funded by the Agence Nationale de la Recherche (ECTOCLIM project).

Chapitre 2

Stratégies reproductrices et ontogénie



“There are no solutions... there are only trade-offs.”

Thomas Sowell



Résumé du chapitre

Les organismes doivent faire face à des variations biotiques et abiotiques. La ressource étant généralement limitante, les pressions de sélection favorisent une allocation optimale entre des voies physiologiques concurrentielles : maintenance, croissance et reproduction. La nature des compromis peut fortement varier selon les individus mais aussi au cours de l'ontogénie. Nous avons étudié l'influence de l'âge sur différentes composantes de la stratégie de reproduction des femelles lézards des murailles. Nous avons exploré la phénologie de la reproduction, les compromis d'allocation (croissance vs reproduction) et les stratégies d'utilisation de la ressource (stockage vs alimentation). Enfin, nous avons examiné des stratégies dans l'appariement et les déterminants de la multipaternité.

Un compromis d'allocation majeur existe entre la croissance et la reproduction notamment chez les espèces à croissance indéterminée (pour qui la croissance continue après la maturité). Cependant, les besoins énergétiques liés à la croissance diminuant avec l'âge, les ressources acquises entre les épisodes de reproduction peuvent être valorisées sous formes de réserves corporelles et anticiper les besoins futurs. Les priorités d'allocation doivent être examinées dans le contexte dynamique des trajectoires ontogéniques et des stratégies d'utilisation de la ressource. Nous prédisons que le stockage de réserves devrait être prévalent chez les femelles âgées et que cette anticipation dans l'acquisition des ressources permet à la fois des pontes plus précoces et augmente l'effort reproducteur global. Nos résultats (manuscrit A2) démontrent clairement un changement ontogénique dans l'allocation des ressources. Tout d'abord, nous avons montré que la fécondité était influencée par la taille corporelle. Nous avons également révélé une influence positive de la condition corporelle initiale (i.e. état des réserves). Par ailleurs, la condition corporelle initiale est positivement influencée par l'âge des individus ce qui soutient l'hypothèse d'un changement dans la stratégie d'allocation (reproduction sur réserves). De plus, nous avons observé un changement marqué dans la phénologie de la reproduction : les femelles les plus âgées (3 ans et plus) parviennent à produire leur première ponte en moyenne 24 jours avant les femelles de 1 an et 10 jours avant celles de 2 ans. Ce contraste pourrait s'expliquer par un découplage entre acquisition et allocation des ressources. La mobilisation des réserves corporelles permettrait de réduire le conflit physiologique entre les besoins de thermorégulation et l'acquisition de la ressource chez les femelles reproductrices. Les femelles bénéficieraient de ces réserves avec un engagement précoce dans la reproduction et la possibilité de pontes additionnelles.



L'étude de la stratégie de reproduction et d'appariement (monoandrie vs. polyandrie) révèle une influence de la taille corporelle des individus. En effet, les individus les plus grands sont davantage monoandres. De plus, nous avons observé un changement phénologique avec les premières pontes présentant un taux de monoandrie plus important que les secondes. Enfin, au sein des premières pontes, les femelles les plus âgées semblent opter majoritairement pour la stratégie de monoandrie. Ces résultats peuvent être interprétés dans le contexte des conditions thermiques limitantes et de la stratégie d'appariement (accouplements forcés). Chez les mâles, la thermorégulation prénuptiale est particulièrement renforcée notamment pour la maturation spermatique. Les femelles âgées s'engageant plus précocement dans la reproduction, les probabilités de polyandrie sont plus faibles car seule une minorité de mâles (présumés de bonne qualité) sont prêts pour la reproduction. En parallèle, les jeunes femelles (se reproduisant plus tard) sont exposées à un plus grand nombre de mâles de qualité variable. La polyandrie semble être légèrement avantageuse en termes de fécondité mais il est important de rappeler le contexte écologique où les pontes précoces sont associées à un meilleur succès des nouveau-nés.



1) Etude des compromis d'allocation

Manuscrit soumis (A2)

Running head: Age-dependent reproductive strategy in a temperate lizard

Ontogenic shift in allocation priorities and energy storage in a temperate ectotherm, the wall lizard (*Podarcis muralis*)

Maxime Le Hénanff ^{1,2}, Sandrine Meylan ^{3,4} & Olivier Lourdaïs ^{1,5}

¹ Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, 79360, Villiers en Bois, France

² Université de Poitiers, 40 avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers, France

³ Laboratoire d'Ecologie, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai Saint Bernard, 75252 Paris Cedex 05, France

⁴ IUFM de Paris-Université Sorbonne Paris IV, 10 rue Molitor, 75016 Paris, France

⁵ School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-4501, USA

Correspondence:

Maxime Le Hénanff, CEBC-CNRS UPR 1934

79360 Villiers en Bois, France

Phone: + 33 (0) 5 49 09 35 52

Fax: + 33 (0) 5 49 09 65 26

E-mail: lehenanff@cebc.cnrs.fr

Submitted to: Oikos

Tables: 2, Figures: 6



Abstract

Allocation trade-offs constitute a central tenet in life-history theory. Organisms have to allocate a finite quantity of resources in competitive ways such as structural growth vs. current reproduction. This dilemma is particularly relevant for species with indeterminate growth patterns. Reproduction requires massive amounts of energy and body reserves (capital breeding) can be advantageous to support current reproductive effort and face environmental constraints. We posit that allocation trade-offs in growth vs. reproduction need to be addressed in the frame of resource allocation strategies (capital vs. income). As energy requirements for growth reduce with age, acquired resource during non reproductive periods (i.e. energy «surplus») can be stored to fuel future reproduction. We expected a significant shift from income breeding early in life toward capital breeding. We monitored a population of wall lizards (*Podarcis muralis*), a multiple clutch species (up to three annual clutches), over 5 consecutive years in Western Central France, under a temperate climate. We found a combined influence of body size and initial body condition on clutch size. Initial body condition was higher in older females underlying an ontogenic shift in reliance upon energy storage. Reproductive effort and growth were age dependent with older individuals producing several annual clutches but showing minimal growth. Phenology was also age-dependent with older females (3 years old and more) laying their first annual clutch 24 days before 1 year old females and 10 days before 2 years old females. Second clutch production was favored by early laying dates for the first clutch. The benefits of resource capitalization are discussed in the frame of thermal and reproductive constraints.



Introduction

Allocation trade-offs are central components of the life history theory (Stearns 1992). Since resource is generally limiting or fluctuating, selective pressures favour optimal allocation strategies between competitive ways (somatic maintenance, growth and reproduction) (Levins 1968, Sibly and Calow 1984, Stearns 1992, Zera and Harshman 2001, Roff 2002). Reproduction is a highly energy demanding activity and current reproductive effort can decrease future reproductive output either due to ecological (altered survival) or energetic costs (impaired energy balance) (Williams 1966, Shine 1980, Lessels 1991, Reznick 1992). One major allocation trade-off involves energy investment toward growth vs. reproduction (Cohen 1971, Kozłowski and Wiegiert 1986, Heino and Kaitala 1996, Katsukawa *et al.* 2002). In most species, body size at maturity is a primary determinant of fecundity and reproductive effort (Wootton 1998, Massot *et al.* 2011). This trade-off will be particularly relevant for species showing indeterminate growth since energy-allocation priorities will be dependent on individual ontogeny after maturity (Kozłowski and Uchmanski 1987). For instance, in young (i.e. small) individuals, lower energy investment in current reproduction can be an adaptive strategy to increase growth and enhance future reproductive output (Shine 1992). In turn, reproductive effort should be maximised in oldest (biggest) females that can allocate most of the energy available toward reproduction. Thereby, optimal energy allocation will be influenced by both size-dependent fecundity and survival costs of reproduction (Schaffer 1974, Perrin *et al.* 1993, Cichon 1997, Lardner and Loman 2003).

Reproduction imposes high energy requirements as illustrated by a great diversity in resource acquisition and allocation strategies (Jönsson 1997). A classic distinction is made between «capital breeders» that accumulate energy stores to support reproductive effort and «income breeders» that invest recently acquired energy toward reproduction (Stearns 1992, Jönsson 1997, Bonnet *et al.* 1998). Current models predict that fitness benefits derived from these strategies depend on resource availability and environment predictability (Warner *et al.* 2008, Telemeco and Baird 2011). A continuum rather than a true dichotomy occurs between these two extremes resource allocation strategies (Doughty and Shine 1997, Bonnet *et al.* 1998). Furthermore, a given species can combine the two strategies depending on resource availability (Bonnet *et al.* 2001, Lourdaïs *et al.* 2002b, Warner *et al.* 2008).

We posit that allocation trade-offs in growth vs. reproduction need to be addressed in the frame of resource allocation strategies (capital vs. income). For instance, an adaptive ontogenic shift from income breeding early in life toward capital breeding can be expected (Telemeco and Baird 2011). As energy requirements for growth reduce with age, acquired resource during non



reproductive periods (i.e. energy «surplus») can be stored in body reserves to fuel the future reproduction. Resource capitalization should then promote reproductive success by providing at least two substantial benefits. First, in combination with body size, energy stores can increase fecundity and overall reproductive effort. Second, capital breeding can be beneficial by allowing a temporal disconnection from resource acquisition to allocation (Bonnet *et al.* 1998). Such temporal disconnection can be advantageous in many ecological circumstances notably with conflict between food acquisition and reproductive activities (Warner and Shine 2007). To date, such ontogenic shift allocation strategies remain under considered and poorly documented (Wessels *et al.* 2010, Telemeco and Baird 2011).

Squamates reptiles provide robust models to address for ontogenic shift in allocation trade-offs and reliance upon energy storage. For instance, capital breeding is particularly widespread in lizards and snakes (Bonnet *et al.* 1998, Shine 2005, Telemeco and Baird 2011). Furthermore, most squamates display indeterminate growth and body size is a major determinant of fecundity (Shine 1992, Du *et al.* 2005). Many lizard species produce multiple clutches annually and combining energy storage and food acquisition could be an effective way to fuel energy requirements for successive clutches (Shanbhag *et al.* 2000, Warner *et al.* 2008). Ectotherms are directly dependent on ambient temperature. Under temperate climates, ambient temperatures are seasonally variable and can limit activity period (Blouin-Demers and Weatherhead 2001, Lelièvre *et al.* 2010b). Still reproductive phenology is particularly relevant with early laying date promoting reproductive success (Olsson and Shine 1997, Warner and Shine 2007) presumably because of enhanced activity period for offspring growth (Warner and Shine 2007, Wapstra *et al.* 2010).

Thermally driven trade-offs between thermoregulation and foraging activities should also influence reliance on storage. Reproduction generally involves marked thermal shifts for egg production (i.e. folliculogenesis) and during gravidity (Schwarzkopf and Shine 1991, Wapstra 2000). Maternal activity budget will therefore be constrained by reproductive requirements for thermoregulation and energy acquisition. In this context, energy storage should be beneficial by enhancing overall reproductive effort per clutch and reducing foraging requirements. Hence, energy storage should promote early reproductive engagement and additional clutch production. However, reliance on capital breeding should be prevalent in longer individuals that reached their asymptotic size limit. We tested for concomitant ontogenic shift in allocation priorities and reliance on energy storage in a temperate ectotherm, the wall lizard (*Podarcis muralis*) under a constraining climate. Specifically, we addressed the three following predictions:

(1) *Variation in body size and initial body condition (calculated before reproductive engagement) should influence reproductive effort.*



(2) *An ontogenic shift in growth, energy storage and reproductive effort should occur.* Young females should invest more in somatic growth while older females should accumulate energy stores and have higher reproductive effort.

(3) *Older females should benefit from enhanced body stores by producing early clutches.* Due to restricted activity period, the production of multiple clutches should depend on the date of the initial reproductive engagement.

Material and methods

Studied species and study area

The wall lizard, *Podarcis muralis* (Laurenti, 1768), is a small-sized West European lacertid lizard (adult Snout to Vent Length (SVL) about 50-65 mm). Winter emergence usually occurs in February-March while matings begin in April. Reproductive period is long (April to July) and females can produce up to 3 clutches per year (clutch size ranges from 2 to 11, mean = 5.2 eggs). This heliothermic species is an active thermoregulator that occupies open and stony habitats where cracks are used as diurnal shelters and nocturnal refuges. *P. muralis* mainly feeds on arthropods (Mou & Barbault 1986). This study was conducted at the Centre d'Etudes Biologiques de Chizé in Western France (46°07'N; 00°25'W) from 2006 to 2010 characterized by a temperate oceanic climate and important seasonal variations. While summer months can be dry and sunny, spring is typical for variable weather with substantial cloudiness and precipitations.

Population monitoring

Females' lizards were captured by noosing during basking episodes or when found under nocturnal shelter (rocks). Captures occurred from February to November and adjusted for favorable weather conditions. Lizards were individually marked using hot branding method (Vervust and Van Damme 2009). Recaptured individuals were immediately released when capture interval was inferior to 7 days. We collected several morphological parameters: SVL and total length (± 0.1 mm), body mass (± 0.01 g) and reproductive status. Each individual ventral face was scanned (CanoScan 8800F, Canon) at a high resolution (600Dpi) with a millimeter grid reference. This simple method allowed for accurate body size measurement with an imaging software (Inkscape, GNU General Public License) and significantly reduced handling time and potential stress. Reproductive status was assessed by



abdominal palpation and ultrasounding (MicroMaxx, Sonosite, Inc. USA). Captured individuals were released after data collection either the day of capture or the following one except when females were gravid (see below).

In this study individual age is a key variable. As growth is asymptotic, body size is not strictly related to age. Age attribution was obtained by two complementary methods. First, for individuals captured either as juveniles (born in the current year) or yearlings (born during the previous year), year of birth was known. Then, for older individuals (captured as adults), we used capture-recapture histories to provide a conservative age estimate (i.e. 3+, 4+, 5+). Combining these approaches, we defined 5 age classes (1 to 5) for 998 females derived from 1546 captures. Because of the duration of the monitoring period (5 years) it was not possible to identify higher age classes (> 5 and more) and address the impact of ageing on reproductive traits. However, the main focus of the study was on early ontogenic trajectory and somatic growth that occurs over the first 3 years of life (Mou 1987).

Body condition provides an index of foraging success, and is considered to reflect individual quality and ultimately fitness (Jakob *et al.* 1996, Meylan *et al.* 2002). To provide an estimate of storage (rather than current reproductive effort), body condition has to be calculated before the onset of reproduction. In this study, we mainly focused on variation in pre-reproductive body condition (initial BC). In our case, initial BC was calculated considering individuals caught early spring or in late fall the year before. We also considered post-laying body condition (post-laying BC) as an index of maternal carcass emaciation (Lourdais *et al.* 2002a). Finally, we calculated body condition in gravid females to address seasonal variation in body condition and considering 4 relevant periods (emergence, gravidity, post-laying and pre-wintering).

Reproductive effort and phenology

Gravid females were kept individually in cages (Fauna Box, 41x23x17cm) into the laboratory few days prior to oviposition to obtain laying dates and clutches characteristics (clutch size, clutch mass). Cages were illuminated with an Osram Biolux 58W 3700 lm neon tube to provide UV. A 25 watt spotlight established a thermal gradient (21°C-40°C) for basking. Water was provided *ad libitum* and individuals were fed three times a week with crickets (*Acheta domesticus*) and mealworms (*Tenebrio molitor*). Each cage was checked daily to determine laying date. Freshly laid eggs were weighed to the nearest 0.001g. We calculated Relative Clutch Mass (RCM, defined as clutch mass divided by post-laying maternal body mass, Shine 1992).

Successive captures enabled us to address multiple clutches production. Reproductive bouts were identified by considering indices or pre-reproductive (enlarged abdomen) or post-reproductive



(emaciation) state. To address annual reproductive probability, we built a binary table and we assigned “1” if the female had reproduced at least once in a given year and “0” if not. Within reproducing individuals, we also considered the number of clutches produced over the season. This estimate ranged from 1 to 3.

Statistical analyses

Growth rate was expressed as the difference in body size (SVL in mm) between captures divided by the time elapsed in days. To minimise the influence of measurement error, we restricted our analyses to time intervals strictly superior to 7 days between captures. We used SVL as a covariate because lizard growth decreases as body size increases. Body condition was calculated as residuals of the linear regression between body mass and SVL. Maternal SVL adjusted clutch size (hereafter designed as maternal investment) was calculated as residuals of the linear regression of clutch size according to SVL. To disentangle body size effects from age effects, we fitted linear (SVL, age), logarithmic (log age) and quadratic (age²) relationships to model the size or age-specific variations in reproductive traits (laying date, clutch size, body condition, reproduction probability). Age and age² were continuous variables. Individual was included as a random effect. We used Akaike’s Information Criterion (AIC) to select the best model. The best model is the model with the lowest AIC while using the fewest number of parameters. Two models differ when the difference in AIC between the two models is higher than 2 (White & Burnham 1999).

Data were analyzed using the R software (R Development Core Team 2010) with mixed models (nlme package). We checked residuals of the model for normality and homoscedasticity, and computed Tukey’s *post-hoc* tests when required. Data are provided means $\pm$ 1 SE. We accepted significance at an alpha level of 0.05.

Results

Body size and growth

As expected, female SVL was significantly positively influenced by age, best fitting model included age² ($F_{1, 196} = 280.97$, $p < 0.001$; Table 1; Fig. 1). Females attain maximal body size at 3 years of age. SVL growth significantly decreased with age, best fitting model included log age ($F_{1, 126} = 100.23$, $p < 0.001$; Table 1; Fig. 2). SVL growth slowed down quickly up to 3 years of age and was quasi null after.



Table 1. Models selection to describe size and age dependence on reproductive traits in wall lizards in Western Central France, using Akaike's information criterion (AIC). "df" denotes "degree of freedom". Selected models appear bolded.

Parameters	AIC				
	Null model	SVL	Age	Log(age)	Age + Age ²
df	3	4	4	4	5
SVL	1368.73	-	986.61	824.51	767.48
SVL growth	-1173.33	-1217.32	-1232.51	-1251.75	-1238.04
Initial BC	240.95	242.17	233.97	232.36	241.28
Clutch size	504.31	445.35	467.02	451.16	456.90
RCM	-113.55	-116.10	-109.77	-115.78	-103.68
Maternal investment	432.76	-	434.84	431.68	439.76
Post-laying BC	164.28	168.97	168.54	165.52	175.50
Laying date	1072.08	1043.97	1037.28	1025.45	1026.93
Probability to reproduce	715.55	-	605.85	589.11	587.91
Number of annual reproductive bouts	312.18	-	311.43	307.77	317.87

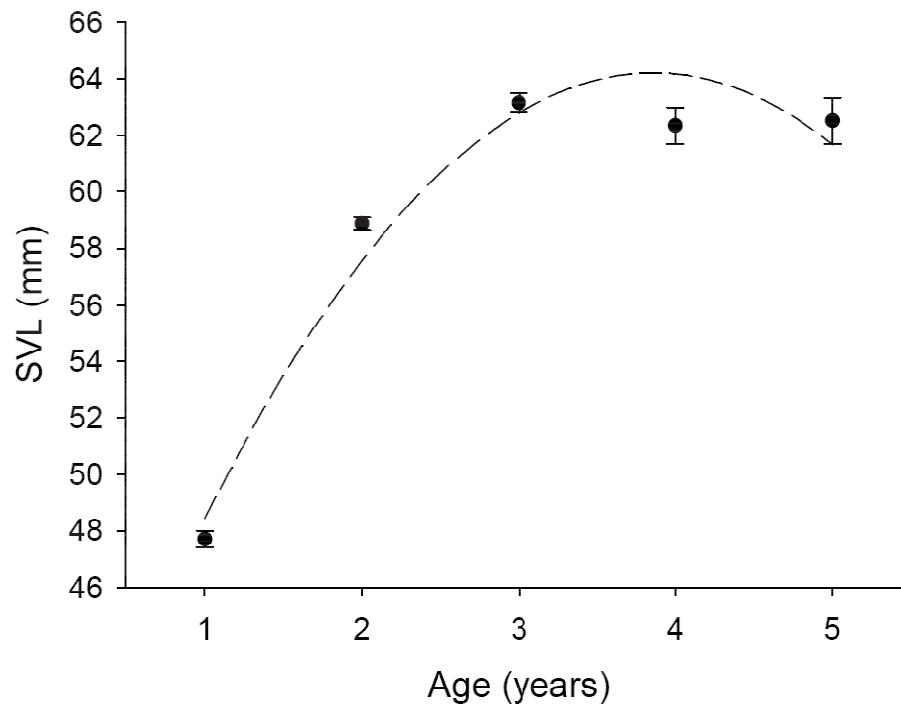


Figure 1. Age-related variations in SVL in females' wall lizards in Western Central France. Dashed line represents best fitting relationship (age^2). Data are represented as mean value $\pm$ SE.

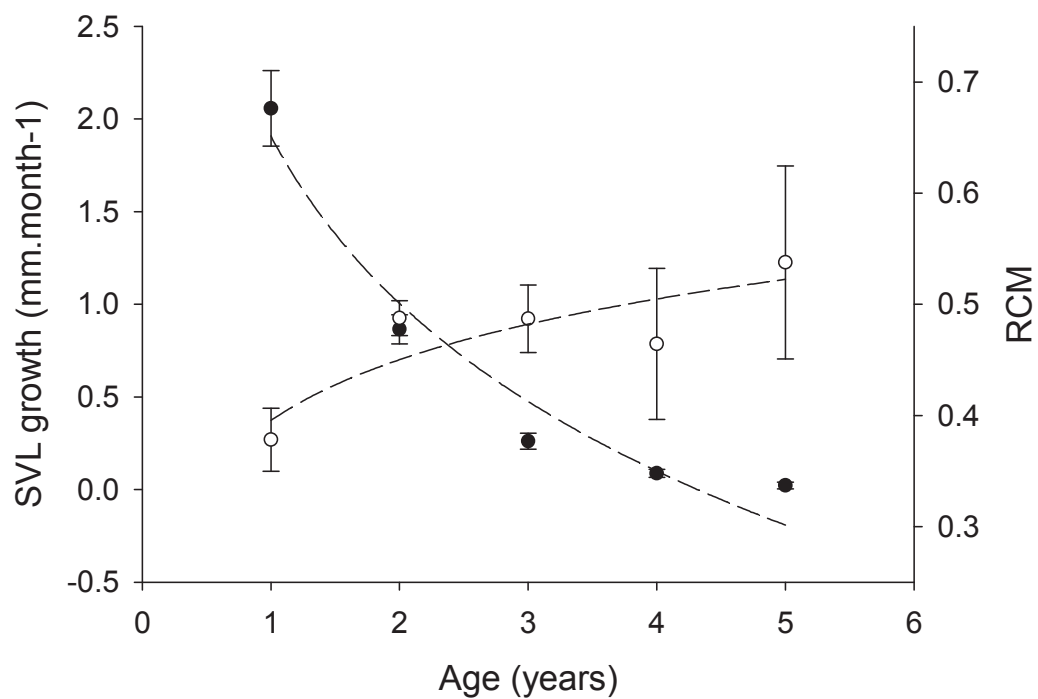


Figure 2. Age-related variations in SVL growth (closed circles) and relative clutch mass (open circles in females' wall lizards in Western Central France. Dashed line represents best fitting relationships ($\log \text{age}$). Data are represented as mean value $\pm$ SE.



Body condition

Initial BC was significantly influenced by age, best fitting model included log age ($F_{1, 165} = 12.84$, $p = 0.002$; Table 1; Fig. 3). We observed strong seasonal variations ($F_{3, 42} = 31.74$, $p < 0.001$, Fig. 4) in BC with lowest values after laying (Tukey post-hoc tests, all $p < 0.001$) illustrating maternal emaciation. Post-laying BC was neither influenced by SVL nor female age. Highest body conditions were obtained in gravid females reflecting reproductive load. Initial BC at emergence or before wintering provides an estimate of energy reserve. Body conditions at these two periods were smaller than that of gravid females (Tukey post-hoc test, respectively $p = 0.014$ and $p < 0.001$) but higher than post laying females (Tukey post-hoc test, $p < 0.001$ in both cases).

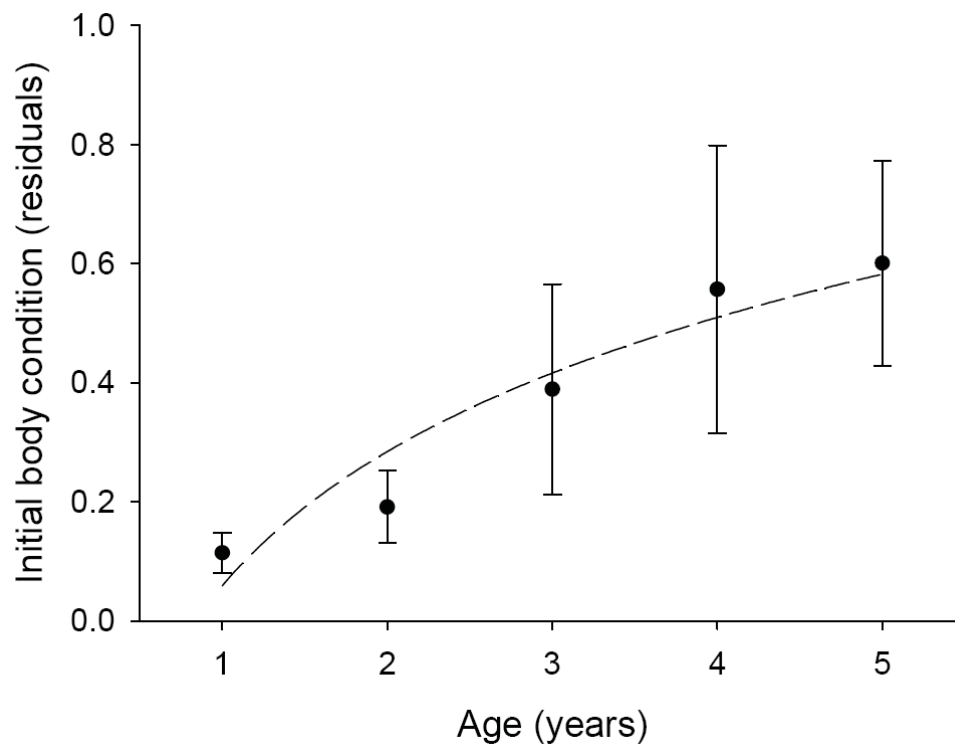


Figure 3. Age-related variations in initial body condition (IBC) of females' wall lizards in Western Central France. Dashed line represents best fitting relationship (log age). Data are represented mean value $\pm$ SE.

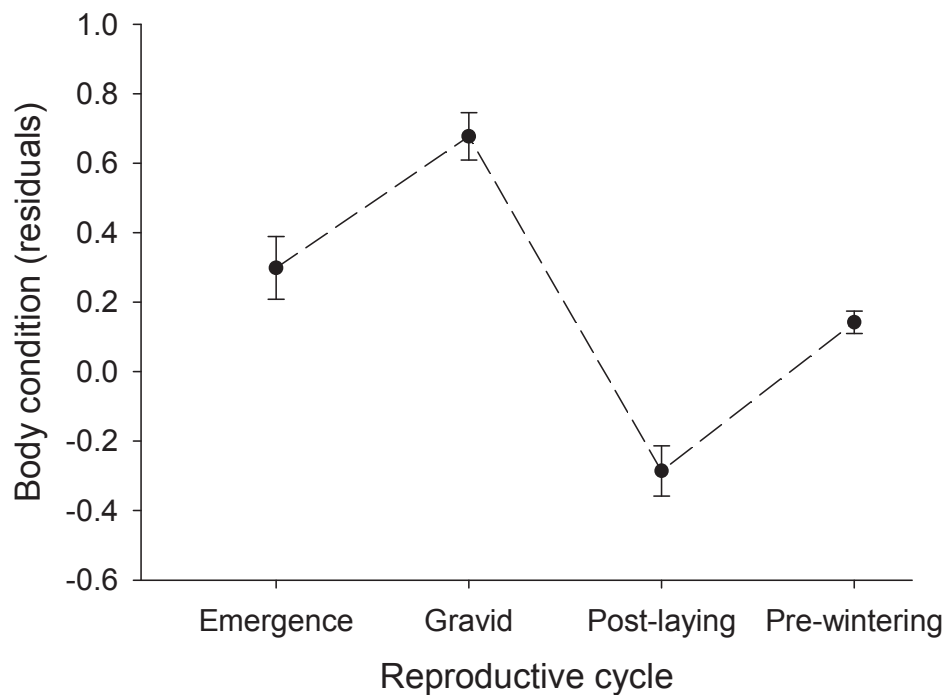


Figure 4. Seasonal variations in body condition in females wall lizards in Western Central France. Different letters indicate statistically significant ($p < 0.05$) differences.

Reproductive effort

Female SVL positively influenced clutch size ($F_{1, 106} = 81.04$, $p < 0.001$; Table 1). Mean egg mass was not influenced by maternal SVL ($F_{1, 93} = 2.63$, $p = 0.131$) or clutch size ($F_{1, 93} = 0.03$, $p = 0.875$).

RCM was also correlated to SVL ($F_{1, 91} = 10.39$, $p = 0.009$; Table 1) and clutch mass represented on average 46.7% of post-laying female body mass. We found a logarithmic influence of age ($F_{1, 91} = 8.01$, $p = 0.018$; Table 1; Fig. 2) on RCM. Maternal investment (SVL adjusted clutch size) and post-laying BC were not influenced by body size or age (Table 1). For a limited number of females ($n = 21$), we had initial BC and characteristics of the first clutch. We found that both initial BC and SVL influenced clutch size (respectively, $F_{1, 18} = 18.61$, $p < 0.001$ and $F_{1, 18} = 32.66$, $p < 0.01$, Table 2) explaining 74.0% of the variance in clutch size.



Table 2. Combined influences of SVL and Initial Body Condition (IBC) on clutch size of wall lizards in Western Central France. Multiple regression: $r = 0.86$; $r^2 = 0.74$; $n = 21$; $F_{2,18} = 5.64$; $p < 0.0001$.

	β	Partial correlation	Semi-partial correlation	P -value
SVL	0.40	0.57	0.35	0.009
IBC	0.59	0.71	0.52	< 0.001

Phenology and reproductive success

Laying date

The laying date of the first clutch was negatively correlated to female age, best fitting model included $\log(\text{age})$ (linear regression, $F_{1,120} = 51.16$, $p < 0.001$; Table 1; Fig. 5). A positive relationship between laying date and SVL growth was detected (linear regression, $r^2 = 0.32$, $F_{1,18} = 8.52$, $p = 0.009$, Fig. 6).

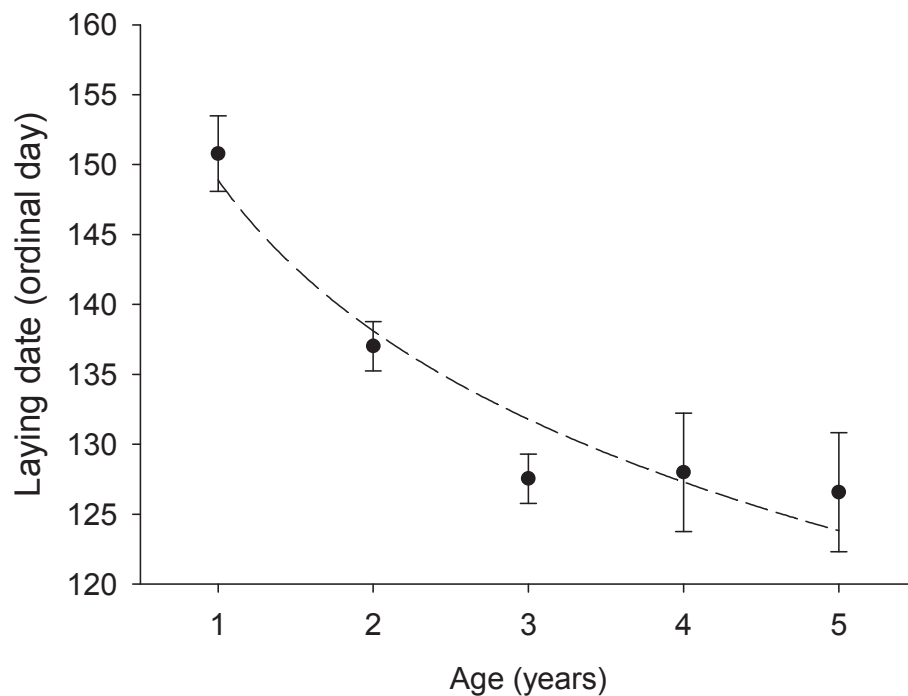


Figure 5. Negative relationship between first annual clutch laying date and age in wall lizards in Western Central France. Dashed line represents best fitting relationship ($\log \text{age}$). Data are represented mean $\pm$ SE.

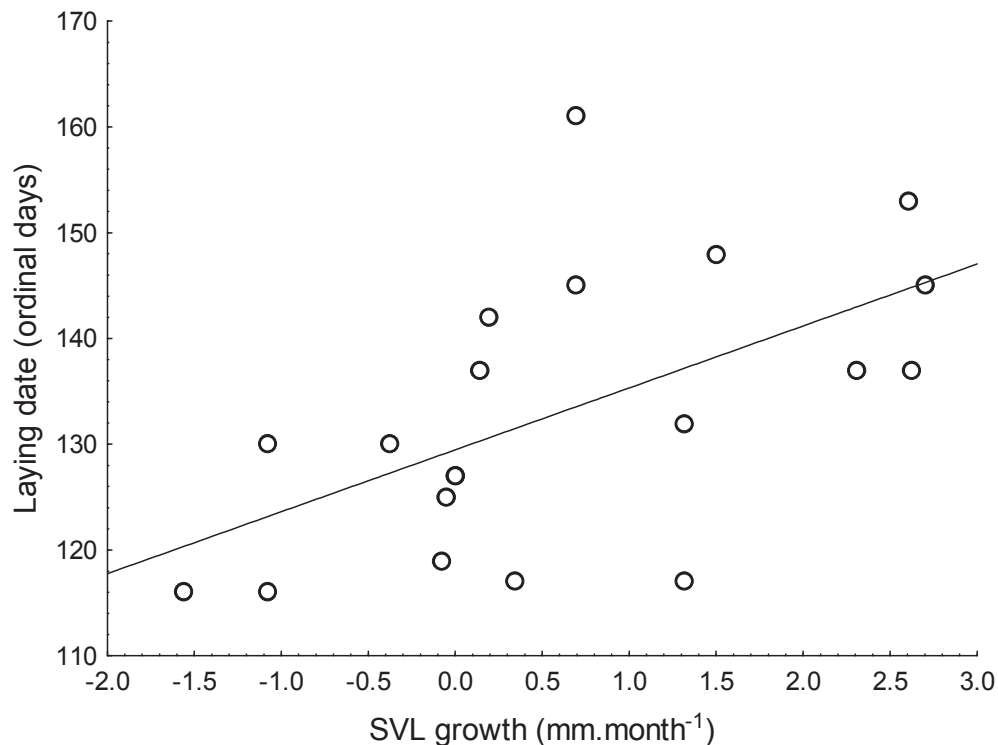


Figure 6. Positive relationship between first clutch laying date and SVL growth in wall lizards in Western Central France.

Reproductive frequency

Probability to reproduce in a given year was positively influenced by female age, best fitting model included logarithmic relationship ($z = 10.52$, $p < 0.001$, Table 1). In females reproducing at least once, number of reproductive bouts was influenced by female age (logarithmic influence, $F_{1, 36} = 8.48$, $p = 0.006$, Table 1).

Discussion

To date, allocation trade-offs (growth vs. reproduction) and resource allocation strategies (capital vs. income) have traditionally been considered separately. In ectotherms, body size is a critical determinant of reproductive performance (Roff 1992) but growth typically slows down with age up to an asymptotic limit (Tomašević-Kolarov *et al.* 2010). Therefore, energy acquired in old (i.e. longer) individuals can increase reproductive success through storage rather than structural growth. Reliance on storage is much expected in species showing high reproductive effort (i.e. that may not be supported by food intake alone) and when environmental conditions are constraining and affect activity budget. The aim of this study was to address for an ontogenetic shift in resource allocation



and energy storage in a multiple clutch species, the wall lizard (*Podarcis muralis*) under temperate climatic conditions (Western Central France).

Ontogenetic shift in allocation strategy

Individuals have to trade energy allocation between current and future reproductions to maximise their lifetime reproductive success (Charnov 2007). For instance, reproductive effort is predicted to increase as residual reproductive value decreases with age (Clutton-Brock 1984, Langley and Clutton-Brock 1998, Bonneaud *et al.* 2004, Descamps *et al.* 2007, Massot *et al.* 2011).

In this study, energy-allocation priorities were strongly age-dependent with enhanced reproductive effort in older individuals. Reproductive probability and number of reproductive bouts were positively influenced by female age. Young females (1 and 2 years old) invested primarily in growth rather than reproduction. RCM was lowest in first year old females while higher RCM values were reported in older individuals. These results are consistent with previous work (Shine 1992), and suggest that reducing RCM positively influence growth and presumably enhanced subsequent reproduction. For instance, we found that body size was a major determinant of fecundity.

Reproductive phenology was also age dependent with earlier laying date (first clutch) observed in older females. Annual growth was negatively correlated with laying date supporting for a proximate trade-off between the two traits. Older females (3 years old and more) laid their first clutch on average 24 days before 1 year old females and on average 10 days before 2 years old females. It is noteworthy that only few studies addressed age related variations in reproductive phenology in squamates (Cuadrado and Loman 1999). Olsson and Shine (1998) reported that early clutches were produced by “large animals in good physical condition” but without addressing age. Early laying dates influence hatching dates and thereby activity period of hatchlings. Extended activity time is beneficial especially under constraining climate, by enhancing food intake and growth before the first wintering period. Post-hatching conditions can have profoundly influence winter survival (Bauwens 1981; Olsson and Shine 1997) and subsequent ontogenic trajectories. Therefore, early laying date is a good predictor of reproductive performance (Olsson and Shine 1997, Warner and Shine 2007).

Determinant of reproductive effort and multiple clutches

Clutch size was influenced by body size and initial BC. Body size is a major determinant of fecundity in lizards (Avery 1975, Seigel and Ford 1987, Madsen and Shine 1996). Still, very few studies explored



the significance of initial BC (Bonnet *et al.* 1998, Telemeco and Baird 2011). Seasonal variations in body condition revealed a clear emaciation after laying and a restoration of body stores before wintering period (i.e. anticipating future reproduction). Initial BC was enhanced in older individuals that displayed much enhanced reproductive effort. Interestingly, enhanced reproductive effort was not associated to an impairment in post-laying body condition. Hence, differences in RCM were due to higher clutch mass relatively to a stable level of maternal emaciation. Beside reproductive effort per clutch, we also found that older females were able to engage sooner into reproduction. An early reproductive onset favoured the production of additional clutches. Bauwens (1999) reported similar results on other lacertid species (*Lacerta laevis*, *Podarcis atrata*, *Podarcis bocagei*, *Zootoca vivipara*). Notably, laying date of small females producing a single clutch coincided with that of the last clutch of large females in these species. Optimizing reproductive phenology seems critical since laying date influences reproductive success (Warner and Shine 2007) and the production of additional clutches (this study).

Benefits of storage

Our results suggest an ontogenetic shift in allocation strategy and reliance on capitalization. As body size increases with age, growth potential is dramatically reduced and energy intake can be shifted towards body reserves to anticipate subsequent reproduction. Energy storage should be particularly adaptive when (1) food resources are limited, (2) energetic needs are high, (3) costs of predation associated to feeding are high, or (4) foraging time is limited (Jönsson 1997). We found that initial body reserves significantly supported reproductive effort. We detected a concomitant ontogenic shift in initial body condition (i.e. prior to reproduction) and subsequent reproductive effort. This covariation supports our hypothesis and suggests a proximate functional link with energy store enhancing enhanced reproductive effort. In other words, older females produce larger clutches not only due to their body size but also because of enlarged energy stores.

We also found that older (*i.e.* fatter) individuals were capable of reproducing sooner. In temperate climate, activity time is a limiting resource for ectotherms (Gotthard 2001). Ambient temperatures and trophic resources are typically limiting after emergence while energetic and thermal needs for reproduction (*i.e.* folliculogenesis and gravidity) are particularly high. Thermoregulation is critical for reproduction (Shine and Harlow 1993, Lourdais *et al.* 2008) but requires significant time and induces energy (opportunity) costs (Huey and Slatkin 1976). Therefore, maternal activity budget will be constrained by conflicting reproductive needs for energy acquisition and behavioural thermoregulation. Energy storage should partially offset this trade-off by reducing



foraging activity and allowing maternal dedication toward direct reproductive needs (thermoregulation and resource mobilisation). Sample size was too low to address a relationship between initial BC and laying date but the ontogenic covariation in the two traits supports for this functional link. Our original results underline that, in a constraining environment, body reserves may enhance reproductive performances by allowing an early emergence from hibernacula and optimize reproductive phenology.

Capital vs. income breeding in active ectotherms

Capital breeders accumulate body stores to support reproduction whereas in income breeders, maternal investment is influenced by current food intake (Telemeco and Baird 2011). To our knowledge, this study is the first to reveal an ontogenic shift in these strategies. An increase in body stores in very active animals is likely to induce significant demographic costs (Bonnet *et al.* 1998). Wall lizard is a thermophilic species (Avery *et al.* 1993) with high activity levels to catch preys, avoid predators or thermoregulate. Life history tactics in this species is far from extreme capital breeding systems (Bonnet *et al.* 1998, Lourdais *et al.* 2002b) such as boids and viperids with minimal activity levels. In turn, active ectotherms will primarily rely on foraging to fuel reproductive needs. Still both resource use can be combined in lizards (Warner *et al.* 2008, Telemeco and Baird 2011). Our study suggest that partial dependence upon storage enhance reproductive performances directly (increased reproductive effort per clutches) but also indirectly (i.e. optimised reproductive phenology) presumably by alleviating behavioural trade-offs imposed by reproduction. Further studies are now required in species with contrasted activity level, energy requirement and ecological constraints to address age-dependence in resource use and the generality of our findings.

Acknowledgments

We thank many field volunteers for helping in lizards capture and assisting in data collection. Xavier Bonnet provided helpful comments on the manuscript. We thank Jean-Baptiste Thiebot for reading the manuscript. This work was funded by the Agence Nationale de la Recherche (ECTOCLIM project).



2) La phénologie comme déterminant de la stratégie de reproduction (monoandrie vs. polyandrie) chez le lézard des murailles, *Podarcis muralis*

Manuscrit en préparation (A3)

Maxime Le Hénanff ^{1,2}, Sandrine Meylan ^{3,4}, Murielle Richard ³ & Olivier Lourdaïs ^{1,5}

¹ Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, 79360, Villiers en Bois, France

² Université de Poitiers, 40 avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers, France

³ Laboratoire Ecologie & Evolution, UMR 7625, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai Saint Bernard, 75005 Paris, France

⁴ IUFM de Paris-Université Sorbonne Paris IV, 10 rue Molitor, 75016 Paris, France

⁵ School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-4501, USA

Introduction

Les stratégies de reproduction et les choix d'appariement sont des composantes écologiques et évolutives centrales. La polygamie a été reportée dans de nombreuses espèces (Keller & Reeve 1995 ; Jennions & Petrie 2000 ; Richard *et al.* 2005 ; Eizaguirre *et al.* 2007 ; Whittingham & Dunn 2010). Si l'avantage pour un mâle de s'accoupler avec plusieurs femelles paraît évident (augmentation du nombre de descendants), l'inverse l'est moins (Lee & Hays 2004). En effet, un seul accouplement est bien souvent suffisant pour assurer la fertilisation de la femelle. De plus, l'accouplement avec plusieurs mâles peut augmenter la transmission de maladies ou bactéries (Thrall *et al.* 2000, White *et al.* 2011). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour tenter d'expliquer cette stratégie et peuvent être regroupées en deux catégories : contrainte ou adaptation. En effet, ces accouplements multiples peuvent être en dehors du contrôle de la femelle et être le résultat d'un harcèlement des mâles (Thornhill 1980). Néanmoins, des bénéfices directs peuvent être associés à la polyandrie comme une plus grande probabilité de fertilisation ou un investissement paternel plus important (soins parentaux, offrandes nuptiales) (Andersson 1994). Enfin, des bénéfices indirects d'ordre génétique tels qu'une augmentation de la diversité génétique des descendants ou une



augmentation de leur qualité (liée à une plus grande probabilité de s'être accouplée avec un mâle de bonne qualité ou la compétition spermatique) sont également reportés (Yasui 1998 ; Zeh & Zeh 2001).

De même, la phénologie de la reproduction est particulièrement importante pour la production d'une descendance viable et l'optimisation de la période de reproduction influence les performances reproductrices des individus (Varpe *et al.* 2007). L'engagement dans la reproduction doit être ajusté à la saisonnalité de l'environnement (Hau 2001). En milieu tempéré, de fortes fluctuations saisonnières existent et contraignent ainsi la période de reproduction. Les contraintes ne sont pas les mêmes chez les mâles et femelles et la sélection a, dans certains cas, favorisé une asynchronie sexuelle dans l'engagement des activités reproductrices. Par exemple, la protandrie est un décalage temporel dans la reproduction et qui peut se traduire par une précocité dans la date d'arrivée sur l'aire de reproduction (Francis & Cooke 1986 ; Morbey & Ydenberg 2001) ou dans la date d'émergence (Wiklund & Fagerström 1977 ; Fagerström & Wiklund 1982) en faveur des mâles. Chez les ectothermes, la température corporelle est fortement dépendante de la température environnementale, et influence à la fois la physiologie et le comportement (Angilletta *et al.* 2002) et notamment la dynamique de la spermatogénèse (Saint Girons & Duguy 1970 ; Joly & Saint Girons 1975 ; Herczeg *et al.* 2007). Ainsi, une spermatogénèse précoce impose aux animaux de thermoréguler dans des conditions thermiques et trophiques suboptimales et devrait ainsi révéler la qualité individuelle des mâles (Veiga & Salvador 2001 ; Herczeg *et al.* 2007). La proportion de mâles reproducteurs devrait augmenter au cours de la saison ce qui devrait directement influencer le pourcentage de polyandrie. En parallèle les femelles bénéficient d'un engagement précoce dans la reproduction mais sont contraintes par leurs besoins en thermorégulation. Les femelles les plus âgées sont capables de s'engager plus tôt dans la reproduction que les plus jeunes (Bauwens 1999).

De nombreux exemples de multipaternité existent chez les squamates (Richard *et al.* 2005 ; Calsbeek *et al.* 2007 ; Oppliger *et al.* 2007 ; Uller & Olsson 2008). Il n'existe pas de soins paternels chez ces organismes, rendant la plupart des bénéfices directs peu probables (Uller & Olsson 2008). Le seul bénéfice direct éventuel réside dans la fertilisation de la femelle. Par exemple, les femelles ont un risque de s'accoupler avec des mâles non fertiles si elles émergent d'hibernation avant la maturation complète des spermatozoïdes (Olsson & Madsen 1996). En parallèle, une reproduction précoce est importante car les dates de ponte influencent considérablement la survie des jeunes (Warner & Shine 2007 ; Uller & Olsson 2010). Un conflit phénologique peut donc exister entre ces deux aspects (degré de fertilisation et survie des jeunes). Alternativement, ces stratégies de reproduction peuvent résulter de contraintes liées à un harcèlement des mâles et des accouplements forcés. Les stratégies de reproduction (monoandrie vs. polyandrie) ne sont pas fixes et une même



espèce peut présenter l'une ou l'autre à différents stades de sa vie (Owens & Thompson 1994). Ces variations sont particulièrement intéressantes pour tester spécifiquement les coûts et bénéfices du choix de chacune de ces stratégies.

Dans cette étude, nous avons abordé la multipaternité chez une espèce à ponte multiple, le lézard des murailles (*Podarcis muralis*). Si une précédente étude (Oppliger *et al.* 2007) a révélé l'existence de la multipaternité chez cette espèce, les déterminants n'ont pas été considérés. Cette espèce présente une période d'accouplement relativement longue (avril à juillet). Un décalage dans les dates d'émergence est observé avec une sortie plus précoce, d'environ un mois, chez les mâles. Chez les femelles, de fortes variations dans les dates d'engagement en reproduction avec des pontes plus précoces chez les individus plus âgés a été reporté. Nous avons adressé les prédictions suivantes :

i) Due à une faible compétition entre les mâles en début de saison de reproduction, les pontes précoces devraient être davantage associées à la monoandrie.

ii) Si la polyandrie est associée à des contraintes (accouplements forcés), alors elle devait être davantage prévalente chez les jeunes femelles qui présentent des capacités de résistance plus faibles face aux sollicitations des mâles.

Matériel et méthodes

Modèle et site d'étude

Le lézard des murailles, *Podarcis muralis* (Laurenti, 1768), est un petit lézard médio-européen de la famille des Lacertidés (taille museau-cloaque adulte (SVL) : environ 50-65 mm). Une différence sexuelle dans les dates d'émergence existe au sein de cette espèce avec des sorties plus précoces d'environ 1 mois chez les mâles. Ces épisodes de thermorégulation en conditions suboptimales sont imposés par la spermatogénèse. Les femelles initient leur vitellogénèse peu de temps après leur émergence et les accouplements débutent généralement en avril. La période de reproduction s'étend jusqu'à juillet et les femelles peuvent produire jusqu'à 3 pontes annuelles (Mou 1987). La taille de ponte varie de 2 à 11 œufs (moyenne 5.2) et de précédentes études ont reporté l'existence de multipaternité au sein des pontes (Nembrini & Oppliger 2003 ; Oppliger *et al.* 2007). Ce lézard héliotherme est un thermorégulateur actif et fréquente des habitats ensoleillés et pierreux. Cette espèce se nourrit principalement d'arthropodes (Mou & Barbault 1986). La présente étude a été menée au Centre d'Etudes Biologiques de Chizé dans le centre-ouest de la France (46°07'N; 00°25'W)



en 2009 et 2010. Le site d'étude est caractérisé par un climat océanique tempéré et d'importantes fluctuations saisonnières.

Capture et variables individuelles collectées

Les femelles adultes ont été capturées par la méthode du lasso (« noosing ») pendant les épisodes de thermorégulation ou sous leur abri nocturne en début de journée avant l'élévation des températures environnementales. Les captures ont eu lieu pendant la saison de reproduction (avril à juillet). Chaque individu a été ramené au laboratoire pour être marqué (selon la technique de « hot branding ») et afin de collecter différentes mesures morphologiques : SVL (0.1mm), masse corporelle (0.01g) et statut reproducteur. Le statut reproducteur des femelles a été adressé par palpation et échographie (MicroMaxx, Sonosite, Inc. USA). L'âge des individus ainsi que les séquences de ponte ont été déterminés selon la procédure décrite dans l'article A2.

Maintien en captivité des femelles

Les femelles détectées gravides ont été gardées en captivité dans des terrariums (Fauna Box, 41x23x17cm). Les cages étaient équipées d'un néon UV (Osram Biolux 58W 3700 lm) et d'une ampoule 25w pour établir un gradient thermique (21°C-40°C). De l'eau et de la nourriture (grillons et vers de farine) étaient distribuées à volonté. Chaque terrarium était contrôlé quotidiennement pour détecter la date de ponte. Les œufs récemment pondus ont été pesés (0.001g) et incubés dans des incubateurs (FOC 225E, Velp Scientifica, Usmate 20865, Italie). Les températures d'incubation étaient de 23 ou 29°C constant et n'ont pas influencé le succès d'éclosion (Le Hénanff *et al.*, données non publiées). Afin de mener les analyses génétiques, nous avons sectionné la partie terminale de la queue (environ 7 mm) de la femelle post-ponte à l'aide d'un bistouri médical. Les prélèvements ont été conservés dans des tubes Eppendorf remplis d'alcool à 90°. Les femelles ont ensuite été relâchées à l'endroit de la capture.

Variables collectées sur les nouveau-nés

A la naissance, les jeunes ont été pesés (0.001g) et mesurés (0.1 mm). De même, un prélèvement de la partie terminale de la queue a également été effectué et conservé selon le même protocole que les adultes.

Génotypage et estimation du nombre de pères



L'ADN génomique a été extrait à partir d'extrémités de queues préservées dans de l'éthanol en utilisant le Kit de purification « QIAquick 96 Purification Kit (QIAGEN) » après une digestion pendant une nuit des tissus par de la protéinase K. Les individus ont été génotypés grâce à 11 marqueurs microsatellites (Richard *et al.* 2011). Les conditions de PCR ont été optimisées pour un volume de réaction de 10µl [15–50ng d'ADN, 0.25 à 0.40µM de chacun des primers par locus, 300µM de DNTPs pour les PCR simples et 900µM pour les PCR en multiplex, 1µl de tampon d'incubation 10X (50mM KCl, 10mM Tris–HCl, 1.5mM MgCl₂, 0.1% TritonX-100, pH 9) et 0.25 pour les PCR simples et 0.75U pour les PCR en multiplex de Taq DNA Polymerase (Qbiogene)]. Une proportion variable de primer marqué était inclus pour que le produit de PCR n'ait pas à être dilué avant le passage au séquenceur.

La PCR a été réalisée dans un thermocycleur GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) avec le programme suivant : première étape de dénaturation de 12 min à 94°C suivie de 30 cycles de 30s à 94°C, 15s à 55°C et 30s à 72°C, puis une étape finale de 10 min à 72°C. Les échantillons ont ensuite été mis à migrer sur un analyseur génétique automatique ABI 310 (Applied Biosystems). Les tailles d'allèles ont été déterminées avec le logiciel GENESCAN en référence au standard de taille GENESCAN ROX 400HD.

Les loci ont été testés pour un écart à l'équilibre de Hardy–Weinberg (HW) et un déséquilibre de liaison avec ARLEQUIN v. 3.1 (Excoffier *et al.* 2005) : nous n'avons pas mis en évidence de présence d'allèles simples et le nombre moyen d'allèles par locus est de 8.5 (s.d. 2) et l'hétérozygotie moyenne de 0.74. Il n'y a ni écart à l'équilibre de Hardy–Weinberg (HW) ni déséquilibre de liaison.

Nous avons vérifié les discordances entre mères et jeunes avec le logiciel CERVUS, v. 3.0 (Kalinowski *et al.* 2007). Pour maintenir le taux d'erreur de génotypage le plus bas possible, les discordances détectées lors de cette analyse ont toutes été vérifiées et corrigées dès lors qu'elles n'étaient pas dues à un locus non amplifié. Tous les individus avaient un nombre minimum de 8 loci amplifiés et aucune discordance n'a été autorisée.

Pour estimer le nombre de pères par portée nous avons utilisé une mesure de proximité génétique entre jeunes de même portée, en tenant compte de l'apparentement avec la mère, et pour les valeurs trop écartées des attendus nous avons vérifié l'existence de possibles erreurs de lectures aux allèles paternels en soustrayant auparavant les allèles maternels.

Cette proximité génétique a été déterminée avec le logiciel KINGROUP (Konovalov *et al.* 2004). Nous avons utilisé l'index ML, estimateur de maximum de vraisemblance (Konovalov & Heg 2008). Une proximité génétique de 0.5 en moyenne est attendue pour des pleins frères et de 0.25 pour des demi-frères.

Analyses statistiques



Les analyses ont été réalisées grâce au logiciel Statistica. Tout d'abord, nous avons étudié la relation entre la stratégie de reproduction et les caractéristiques des femelles. Nous avons réalisé des régressions logistiques binomiales avec la stratégie de reproduction (0 : monoandrie et 1 : polyandrie) en variable dépendante et les caractéristiques des femelles en variables indépendantes (SVL, âge, condition corporelle). Ensuite, nous avons adressé la stratégie de reproduction en fonction de la séquence de ponte. Enfin dans un dernier temps, toujours à l'aide de régressions logistiques binaires, nous avons analysé les déterminants de la multipaternité (SVL, âge, condition corporelle) au sein des premières pontes (effectif le plus nombreux). Les données sont présentées moyenne $\pm$ erreur type. Le seuil de significativité a été fixé à 0.05.

Résultats

1) Analyse préliminaire

Sur les 70 pontes analysées, la multipaternité a été détectée dans 44 pontes (soit 62.9 %). La stratégie de reproduction est influencée par la taille de la femelle (Chi-deux = 4.28, $p = 0.039$). La probabilité de monoandrie augmente avec la taille corporelle. L'ajout du succès d'éclosion (nombre d'œufs éclos divisé par la taille de ponte) améliore le modèle. Pour une même taille corporelle, les femelles polyandres ont un succès d'éclosion plus important que les femelles monoandres (Chi-deux = 8.45, $p = 0.015$).

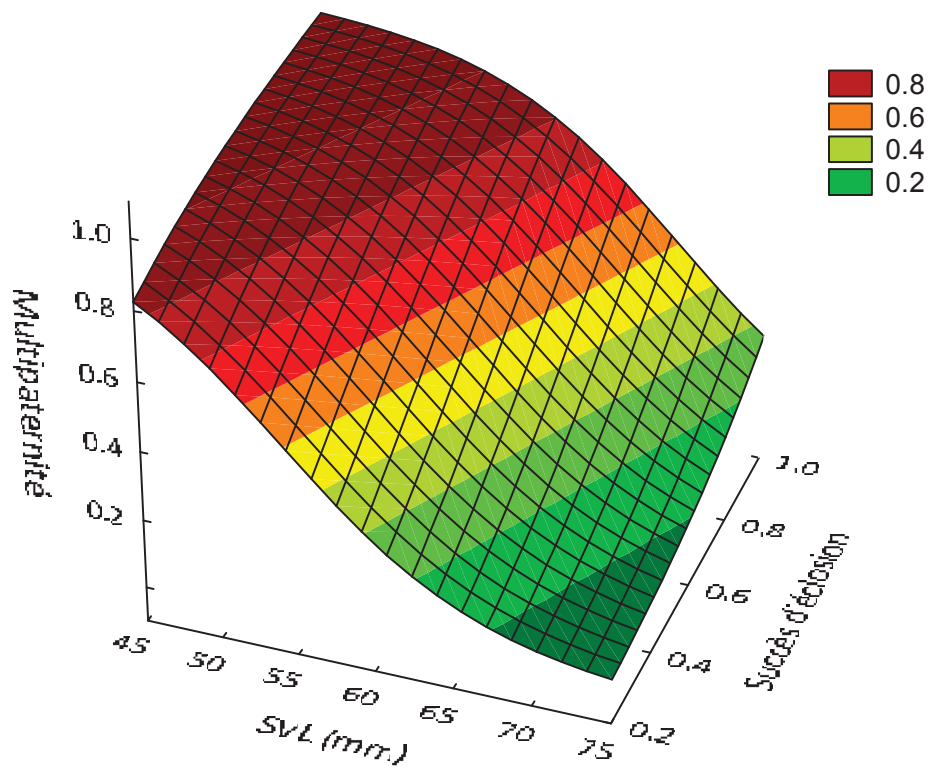


Figure 1. Probabilité de polyandrie en relation avec la taille corporelle et le succès d'éclosion.

Nous n'avons pas détecté d'effet de la condition corporelle (Chi-deux = 0.01, $p = 0.934$) ou de l'âge (Chi-deux = 3.09, $p = 0.079$) sur la stratégie de reproduction.

2) Influence de la séquence de ponte

Sur les 70 pontes analysées, nous avons pu identifier 45 « premières » pontes et 18 « secondes » pontes. 7 pontes étaient incertaines et ont été écartées des analyses. La stratégie de reproduction est influencée par le numéro de la ponte (Chi-deux = 9.23, $p < 0.010$). Les premières pontes présentent un pourcentage de monoandrie plus important que les secondes (respectivement, 43.2% vs. 25.4 %).

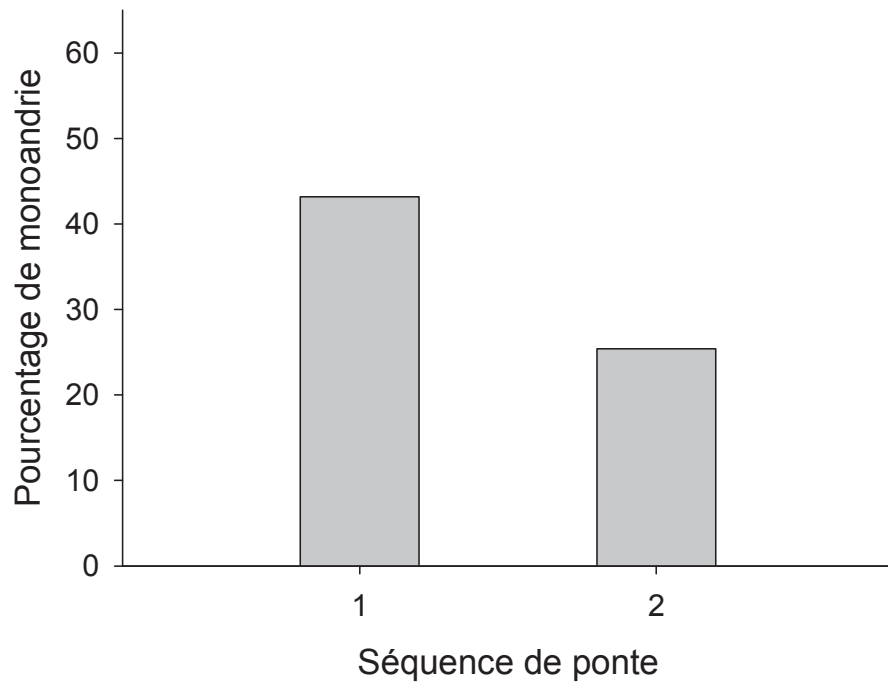


Figure 2. Pourcentage de monoandrie en fonction de la séquence de pont.

3) Déterminants de la stratégie de reproduction au sein de la première ponte

Dans un troisième temps, nous avons exploré les déterminants de la stratégie de reproduction sur les 45 « premières ». La stratégie de reproduction est significativement influencée par l'âge de la femelle (Chi-deux = 5.07, $p = 0.024$). Les femelles âgées (4 ans et plus) présentent un taux de monoandrie supérieur aux jeunes femelles. Ce résultat est à relativiser par le faible effectif de femelles dans cette catégorie.

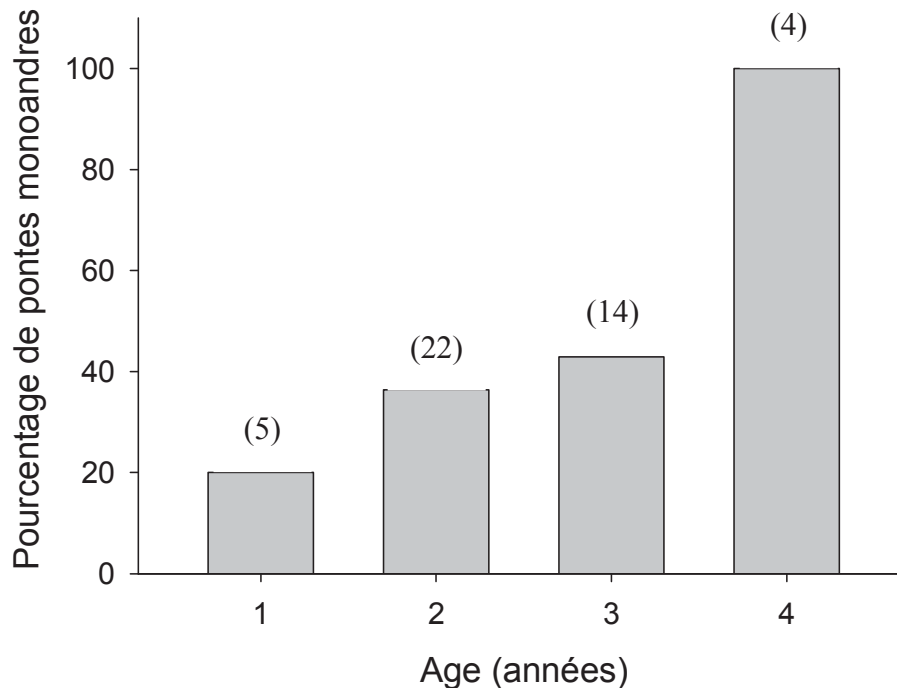


Figure 3. Pourcentage de monoandrie en fonction de l'âge des femelles.

Discussion

Nous avons exploré les déterminants de la stratégie de reproduction chez une espèce de lézard à pontes multiples, le lézard des murailles (*Podarcis muralis*) dans un contexte climatiquement contraignant. Cette espèce montre de fortes variations interindividuelles dans les dates de pontes. Ces variations sont notamment liées à l'âge des femelles, les femelles de 3 ans et plus présentant des dates de première ponte en moyenne 24 jours plus précoces que les femelles d'un an (Le Hénanff *et al.* données non publiées). De plus, des dates de pontes et d'éclosion précoces sont associées à une meilleure survie des jeunes. Ainsi, la sélection a favorisé un engagement reproducteur précoce.

Les stratégies d'appariement ne sont pas fixes au cours de la saison de reproduction, notre étude révélant un pourcentage de polyandrie supérieur au sein des secondes pontes. Des dates d'accouplements et donc de pontes précoces influencent positivement les chances de survie chez les juvéniles (Olsson & Shine 1997 ; Warner & Shine 2007 ; Uller & Olsson 2010) et devrait donc se traduire par une compétition plus forte chez les mâles pour assurer une meilleure performance de leurs descendants. Néanmoins, une maturation des spermatozoïdes est associée à des dates



d'émergence précoces et donc des épisodes de thermorégulation lors de conditions thermiques suboptimales et des risques de prédation accrus (Saint Girons and Duguy 1970 ; Joly and Saint Girons 1975 ; Herczeg *et al.* 2007). De plus, les ressources trophiques sont très limitées en début de saison et imposent donc aux individus de puiser dans leurs réserves énergétiques. Ainsi, il est possible que seule une fraction de mâles de bonne qualité (condition corporelle élevée) soient capables d'assurer une maturation précoce (Veiga & Salvador 2001) et expliquer le faible de taux de multipaternité des premières pontes.

Au sein des premières pontes, le pourcentage de monoandrie est influencé par l'âge des femelles, les femelles âgées étant davantage monoandres que les plus jeunes. Les femelles âgées étant celles présentant des dates de ponte les plus précoces, ce résultat conforte les résultats précédents sur la phénologie. Toutefois, il convient de noter que les effectifs de femelles d'1 an et de 4 ans sont faibles et des travaux complémentaires sont requis pour valider cette observation.

Plus globalement, nos résultats montrent que les stratégies de reproduction des femelles sont fortement influencées par la taille corporelle, les plus grandes femelles présentant un pourcentage de monoandrie plus important. Pourtant, les tailles de ponte sont plus élevées chez les grands individus. Ainsi, les mâles possèdent un intérêt supérieur à s'accoupler avec ces femelles afin de maximiser leur nombre de descendants. Cette relation négative entre la taille corporelle et la stratégie de reproduction est contraire aux résultats obtenus dans de précédentes études effectuées chez le lézard vivipare, *Zootoca vivipara* (Richard *et al.* 2005 ; Eizaguirre *et al.* 2007). Les auteurs placent leurs résultats dans le cadre de l'évolution de l'effort reproducteur avec l'âge et mentionnent que les bénéfices génétiques de la polyandrie devraient être supérieurs chez les individus âgés. Par ailleurs, notre étude révèle un lien positif entre la polyandrie et le succès d'éclosion qui pourrait ainsi être relié à des bénéfices génétiques directs comme une meilleure fertilisation des œufs (Eizaguirre *et al.* 2007). La relation observée entre taille corporelle et monoandrie suggère que les grandes femelles sont capables de s'accoupler avec un nombre de mâles plus réduit, en étant probablement plus efficaces pour éviter les tentatives d'accouplements forcés des mâles.

Ainsi, nos résultats soulignent que la polyandrie est reliée à un bénéfice direct (meilleur succès d'éclosion) mais également à l'ontogénie (taux supérieur chez les jeunes femelles). La plus forte prévalence de la monoandrie en début de période de reproduction (première ponte) est très probablement associée à une proportion de mâles matures plus faibles. L'influence de l'âge sur la stratégie de reproduction repose très vraisemblablement sur les différences de phénologie dans les dates de ponte. Au fur et à mesure de l'avancée dans la saison, les conditions thermiques et trophiques deviennent plus favorables et la compétition entre mâles devrait augmenter et expliquer l'augmentation du pourcentage de polyandrie. Les femelles âgées, par leur engagement



reproducteur précoce et probablement une meilleure capacité à éviter les accouplements forcés des mâles présentent davantage une stratégie monoandre. Des études complémentaires sont requises afin d'établir précisément les caractéristiques phénotypiques des mâles qui parviennent à s'accoupler (condition corporelle, âge, signaux visuels).

Remerciements

Nous remercions l'ensemble des stagiaires qui ont apporté leur aide lors de la capture des individus et la collecte des données. Cette étude a été financée par l'Agence Nationale de la Recherche (projet ECTOCLIM).



3) Article méthodologique : développement de 14 nouveaux microsatellites chez le lézard des murailles (*Podarcis muralis*)

Manuscrit accepté (A4)

Des nouveaux marqueurs génétiques ont été développés spécifiquement pour le lézard des murailles par les laboratoires de Brunoy et Moulis et devaient être testés. Nous avons collaboré avec Murielle Richard, technicienne au laboratoire Ecologie et Evolution à l'université Pierre et Marie Curie. L'utilisation de ces nouveaux marqueurs nous a ainsi permis d'adresser les déterminants de la paternité présentés ci-dessus. Les tests des marqueurs font l'objet de la publication ci-dessous.

Fourteen new polymorphic microsatellite loci for the wall lizard *Podarcis muralis* (Sauria: Lacertidae)

Murielle Richard ¹, Virginie M. Stevens ², Maxime Le Hénanff ^{3,5}, Aurélie Coulon ⁴, Olivier Lourdaï ³ and Jean Clobert ²

¹ CNRS-UPMC-ENS, UMR 7625, laboratoire Ecologie & Evolution, case 237, 7 quai st Bernard, F-75005, Paris, France.

² CNRS USR 2936, Station d'Ecologie Expérimentale du CNRS, 09200 Moulis, France

³ CNRS - Centre d'Études Biologiques de Chizé, UPR 1934, 79360 Villiers-en-Bois, France

⁴ MNHN-CNRS-UPMC UMR 7204 Département Ecologie et Gestion de la Biodiversité, 4 avenue du Petit Château, 91800 Brunoy, France

⁵ Université de Poitiers, 40 avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers, France.

Accepted in: Molecular Ecology Resources



We report the isolation and characterization of 14 unlinked microsatellite loci for the wall lizard *Podarcis muralis*. All have a di, tri- or tetra-nucleotide repeat motifs and a moderate level of polymorphism: allelic richness was 3-11 alleles per locus. The 14 loci, in combination with 9 others previously published will provide a useful genome-wide resource for landscape genetics and population genetic studies as well as studies of mate choice with more accurate estimates of genetic similarities, general heterozygosity and paternity assessments.

The wall lizard *Podarcis muralis* is a small (adult snout–vent length 52-75 mm), oviparous lizard. Females produce up to three clutches of two to 10 eggs per year. It is a gregarious and polygamous species found frequently in large groups and males compete for mates during the breeding season. If nine microsatellite have already been developed for paternity assessment (Nembrini and Oppliger 2003, Oppliger *et al.* 2007), there was a necessity for more markers in order to get a genome-wide estimation of individual genetic diversity, needed in population genetics studies and to establish genetic dissimilarity among unrelated individuals. Particularly, we aim at investigating how male strategy, female mate choice and the reproductive success of alternative strategies vary according to colour morphs, genetic resemblance between partners, and their interactions. Moreover, as we are interested in population differentiation in islands, the primers were developed on DNA from island lizards.

For isolation and characterization of microsatellites we used DNA from wall lizards sampled in 2 natural populations in France. The first step of polymorphism detection used 15 individuals from 1 island population (Belle-Île, >10 km offshore, further called BI), then with 24 individuals from another, mainland population (Chizé, further called CH), about 250 km from BI.

Genomic DNA was extracted from ethanol-preserved tail-tips using a QIAquick 96 Purification Kit (QIAGEN). Microsatellite sequences were isolated by ecogenics GmbH (Switzerland) using the high-throughput genomic sequencing approach described by Abdelkrim *et al.* (2009). 7.5 µg of genomic DNA was analyzed on a Roche 454 GS-FLX platform using a 1/16th run and the GS FLX titanium reagents. In total 50'501 reads were produced with an average length of 277 base pairs. This sequence information was filtered for microsatellite with tri- or tetra-nucleotide repeat motifs of at least 7 units or a dinucleotide of at least 12 repeat units. Primers were designed for 30 microsatellite inserts using Primer3 software (version 0.4.0).

Allele sizes were determined by detecting fluorescently labeled PCR fragments on an ABI Prism 3100 Genetic Analyzer using GeneMarker® Software v1.80 (SoftGenetics LLC®) in reference to GENESCAN-500 LIZ for preliminary investigation of polymorphism. We selected 16 loci with unambiguous interpretation, no signal of large allele dropout in 15 genotypes, no single nucleotide



differences between alleles (either due to artefacts during the PCR or to mutation in the flanking regions) and a moderate level of polymorphism.

Multiplex PCR conditions were optimized for ten of the 16 selected loci (Table 1). PCR conditions were optimized to be performed in a 10µl reaction volume [15–50ng DNA, 0.25 to 0.40µM of primers for each locus, 300µM DNTPs for singleplex PCR and 900µM for multiplex PCR, 1µl 10X incubation buffer (50mM KCl, 10mM Tris–HCl, 1.5mM MgCl₂, 0.1% TritonX-100, pH 9) and 0.25 for singleplex PCR and 0.75U for multiplex PCR of Taq DNA Polymerase (Qbiogene)]. A variable proportion of labeled F primer was included so that PCR product could be loaded on the sequencer without further dilution. PCR were performed in a GeneAmp PCR System 9700 thermocycler (Applied Biosystems) using the following profile: an initial denaturing step of 12 min at 94°C followed by 30 cycles of 30s at 94°C, 15s at 55°C and 30s 72°C, and a final extension at 72°C for 10 min. Samples were then run on an ABI 310 automated sequencer (Applied Biosystems). Allelic size was determined using GENESCAN software v. 3.7 by reference to the GENESCAN ROX 400HD size standard.

The sequences of all the loci, newly developed and previously published (Nembrini and Oppliger 2003), were compared with BLAST (Zhang *et al.* 2000) and we found no significant homology between any pair of sequences.

Allelic richness, departure from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE), linkage disequilibrium and were assessed from genotypes obtained from BI and CH, using Arlequin (Excoffier and Lischer 2010) and CERVUS 3.0 (Kalinowski *et al.* 2007), and the presence of null alleles was investigated with MICROCHECKER (Van Oosterhout *et al.* 2004). Statistical significance was set at a critical P-value of 0.05.

We did not detect large allele dropout for any locus or signal for scoring errors due to stuttering. Two of the 16 loci tested showed significant proportions of null alleles and strong deviation from HWE and have consequently been excluded. We present here the results for the 14 loci selected.

We found no significant linkage disequilibrium between any pair of loci (all $P > 0.05$ after Bonferroni correction). Allelic richness was 3-11 alleles per locus, with observed heterozygosity ranging 0.14-0.92 per locus (Table 1).

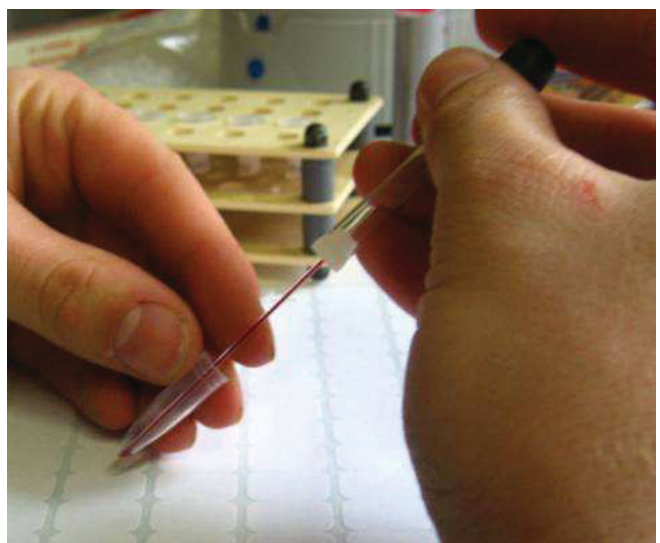
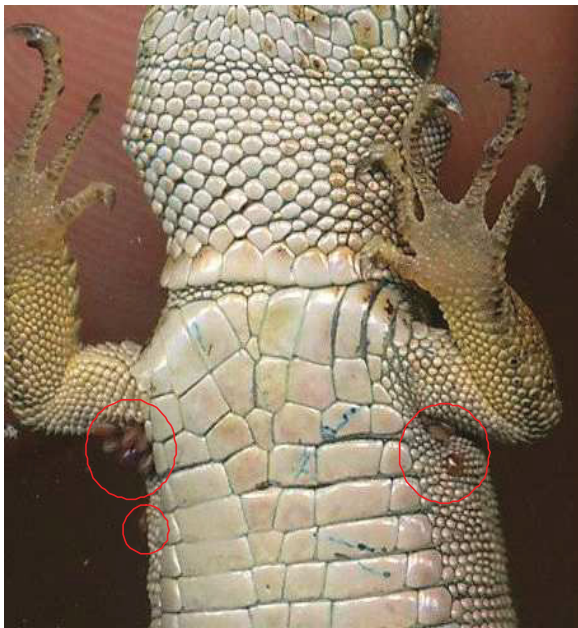
We therefore believe that the 14 microsatellite loci presented here, in combination with 9 previously published loci, will strengthen inferences about gene flow in this species, and also increase the accuracy of paternity assessment, of genetic similarity, and of heterozygosity estimates.

Table 1: Characteristics of 14 microsatellite loci in *Podarcis muralis* tested on 39 individuals from 2 populations.

zMultiple	Locus	Genbank Accession Number	Primer sequence (5'-3')	Repeat motif	Allele sizes range	Number of Alleles		He	Ho	
						BI	CH			
					BI (N=15)	CH (N=24)		BI	CH	CH
1	Pm01	JN634493	CCACAGGCATCTGGTTAG TCCATAAGACTGTAAGACAAGCC	(ATT) ¹⁶	119-125	2	6	0.198	0.214	0.652
1	Pm05	JN634495	CAAGAGGGCAGCCTAGTAATG AGATGGGCTCATTCAACTCC	(AGAT) ¹⁰	139-147	3	7	0.320	0.357	0.708
1	Pm09	JN634497	ACGTGTTTCTGTGCTTTGC AGTCAGACGAGAGGTTGCC	(ATT) ¹⁷	182-203	6	8	0.677	0.571	0.773
1	Pm16	JN634501	GGGATGGAGAAAGATGGCG GCACTTGCTACTGTCTATAC	(TCTT) ¹⁶	179-211	9	7	0.817	0.714	0.826
2	Pm02	JN634494	TTGGGAAGAAGGGAAGGG ATGGCCGCTAGGTCAAGTG	(AACC) ⁷	176-216	6	8	0.714	0.705	0.708
2	Pm06	JN634496	AAAGACCCCAAGGAGTCTAGC GGACTGGGAGAGAACCCAC	(AATG) ⁹	179-187	3	8	0.553	0.773	0.833
2	Pm14	JN634499	GCAGGATCAGAGCGCAATC TGTGGCATGTTGAGACACC	(GCAG) ⁷	155-171	2	8	0.519	0.803	0.917
2	Pm19	JN634502	CAGCCACAAGGTGAACCCAG TGTGAGGTCAGAGGCATGG	(AGGC) ¹¹	172-204	5	9	0.675	0.838	0.708
3	Pm27	JN634505	TCCATGAGCTCCACACACG TCCACAGCCACTTACGGAC	(CTTT) ¹⁴	173-209	7	8	0.730	0.840	0.833
3	Pm30	JN634506	AGCTCAAGTCATATTTAGGAAAAGC AGAACGGACCTCTGGAACG	(GGAT) ¹⁰	149-169	4	3	0.426	0.504	0.500
	Pm21	JN634503	CCAAAACCCGGAGCTGGG TTTGTGTTAGCTGAGCCTG	(ATA) ¹¹	146-155	3	5	0.542	0.613	0.652
	Pm13	JN634498	CCCCAAGAGAGTGGGGTC CAGCTGGGCATAAAAGGGC	(AGAT) ¹¹	176-184	3	7	0.265	0.824	0.750
	Pm15	JN634500	TGACCCAGTTGTCTAGTGTAAATTG AATTCGTTGTCCCCGAGAG	(AAT) ¹⁴	140-158	5	11	0.743	0.864	0.783
	Pm22	JN634504	AAGTGAGTTAGGCTGCCCC TCCGTGTTGTCTCTGCTAC	(GT) ²⁰	221-239	6	10	0.812	0.855	0.864

Chapitre 3

Contraintes de reproduction : variations saisonnières des
taux de corticostérone et de l'ectoparasitisme





Résumé du chapitre

Les êtres vivants font face à d'importantes contraintes environnementales aussi bien d'origine biotique (ressources trophiques) que abiotique (température). De telles fluctuations imposent des réponses comportementales et physiologiques appropriées. Les compromis d'allocation reposent sur l'existence de contraintes dans la disponibilité en ressource et sa répartition dans des voies en concurrence. La reproduction est une période de mobilisation énergétique intense et également d'activités plus soutenues (thermorégulation, défense de territoire). Ces changements sont particulièrement marqués pour les femelles avec les productions des œufs et peuvent générer des coûts significatifs. Chez les mâles, l'allocation directe dans la production des gamètes est moindre mais les activités associées (défense de territoire) entraînent des contraintes écophysiologiques importantes. Nous avons étudié les contraintes reproductrices chez les deux sexes à travers les études de la réponse adrénocorticale et de la prévalence à l'ectoparasitisme.

Les compromis d'allocation sont l'expression de régulation physiologiques proximales et l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien est particulièrement important dans la régulation de fonctions majeures telles que l'allocation des ressources ou la réponse au stress. Nous avons étudié les variations saisonnières dans les taux basaux de corticostérone et la réponse adrénocorticale chez les mâles et femelles de lézards des murailles (A4). Trois périodes ont pu être considérées chez les mâles (émergence, reproduction et post-reproduction) contre 2 chez les femelles (reproduction et post-reproduction). Nos résultats montrent une saisonnalité dans les taux basaux de corticostérone à la fois chez les mâles et les femelles, ces taux étant plus élevés pendant la reproduction. Ce patron est également observé pour les taux de réponse au stress. Nos données soulignent également une influence du statut reproducteur chez les femelles avec des taux basaux supérieurs chez les femelles gravides ce qui coïncide avec des variations dans l'allocation des ressources.

Nous avons également étudié les variations saisonnières de la prévalence à l'ectoparasitisme. La prévalence au parasitisme augmente avec la taille corporelle des individus. La probabilité de parasitisme est plus importante d'avril à juin, période la plus intense de la reproduction. Au sein de cette période, les mâles présentent une prévalence plus importante que les femelles. Ce contraste est possiblement lié la testostéronémie dont le rôle



immunosuppresseur a été mis en évidence. Le statut reproducteur des femelles influence l'ectoparasitisme, les femelles gravides ayant une prévalence et une intensité plus importantes que les femelles vitellogéniques. Les femelles post-ponte sont en situation intermédiaire. Ces données soulignent le caractère dynamique du parasitisme qui reflète l'impact de la mobilisation de la ressource pour la reproduction dans un contexte limitant.



1) Modulation de la réponse adrénocorticale

Adrenocortical modulation reveals seasonal and sex dependent reproductive constraints in a temperate lizard (*Podarcis muralis*)

Maxime Le Hénanff^{1,3}, Sandrine Meylan^{4,5} & Olivier Lourdaïs^{1,2}

¹ Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, 79360, Villiers en Bois, France

² School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-4501, USA

³ Université de Poitiers, 40 avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers, France

⁴ Laboratoire d'Ecologie, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai Saint Bernard, 75252 Paris Cedex 05, France

⁵ IUFM de Paris-Université Sorbonne Paris IV, 10 rue Molitor, 75016 Paris, France

Correspondence:

Maxime Le Hénanff, CEBC-CNRS UPR 1934

79360 Villiers en Bois, France

Phone: + 33 (0) 5 49 09 35 52

Fax: + 33 (0) 5 49 09 65 26

E-mail: lehenanff@cebc.cnrs.fr

Soumis à *General and Comparative Endocrinology*

Figures: 3



Abstract

Terrestrial temperate ectotherms typically face seasonal fluctuations and constraints in thermal conditions. Such fluctuations are strong enough to affect organismal fitness and behavioural and/or physiological responses are expected to occur. Notably, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) is particularly relevant in regulating major functions such as resource allocation or stress response. Reproduction imposes high thermal and energetic needs to support direct energy allocation into gamete production and associated activities (thermoregulation, territory defence, parental care).

We addressed seasonal and sex-specific variations in basal corticosterone levels and adrenocortical modulation in a temperate ectotherm, the wall lizard (*Podarcis muralis*). Sex-specific constraints are associated to reproduction. Males thermoregulate in suboptimal conditions early in the season to accomplish spermiogenesis for the breeding period. Females emerge few weeks later and initiate vitellogenesis soon after. In both sexes, we found seasonal variations in baseline corticosterone levels with high levels early in the season and lower levels in the post-breeding period. By contrast, stress-induced corticosterone levels were high and independent of the season. Baseline corticosterone level was dependent on female reproductive status. Gravid females exhibited higher corticosterone levels than vitellogenic or post-laying ones. Altogether, our results underline sex-specific reproductive constraints. Contrary to previous studies and the general tenet that stress inhibits reproduction, we did not detect adrenocortical suppression during breeding period.

Keywords: corticosterone, phenology, reptile, stress, thermoregulation



Introduction

Animals face strong variations in environmental conditions either biotic (trophic resource) or abiotic (climate, temperature). Such fluctuations impose significant challenges, and favour optimal allocation strategies (Balm 1999). Appropriate behavioural or physiological responses to environmental cues are critical since they influence individual performance. Meanwhile, organisms have to face a diversity of environmental stressors that may alter individual decision. The neuroendocrine system is the crucial link between the environment and the morphological, physiological and behavioural responses (Bradshaw 2007; Lessells 2008). The hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) is particularly important in regulating major functions such as resource allocation (Worthman & Kuzara 2005, Meylan *et al.* 2010) but also responses to stress (Emergency life history stage, Wingfield *et al.* 1998; Wingfield & Sapolsky 2003). Increasing glucocorticoid secretion (Harvey *et al.* 1984; Wingfield 1988) will promote individual survival by suppressing non-vital processes (Wingfield 1988; Sapolsky 1992; Pottinger 1999; Cabezas *et al.* 2007). These processes generally involve inhibition of sex-steroid secretion, immune system or reproductive behaviour (Wingfield 1988; Moore *et al.* 1991; Rivier & Rivest 1991; Coddington & Cree 1995; Moore *et al.* 2000; Loiseau *et al.* 2008; Sorrells & Sapolsky 2007). However, corticosterone may also have contrasting effects depending on the species and on the environmental context (Meylan & Clobert 2004; Silverin 1998; Wikelski *et al.* 1999).

Reproduction is a particularly constraining period where energetic needs are high and energy balance often negative either for direct allocation (gamete production) or related activities (territory, defence, care to the progeny). Endocrine systems play an essential role in metabolic, behavioural and reproductive processes. The regulation of the gonads and reproductive traits is accomplished through glucocorticoid hormones (Sapolsky *et al.* 2000). If pronounced activation of the HPA axis and extremely elevated levels of stress hormones appear to inhibit reproduction (Greenberg & Wingfield 1987; Guillette *et al.* 1995), positive associations between reproduction and corticosterone have been reported (Wilson & Wingfield 1994; Moore *et al.* 2001; Jessop *et al.* 2002). Increase in baseline plasma levels of corticosterone during reproduction is likely to facilitate specific behavioural and physiological aspects of reproduction, notably by mobilizing energy stores (Johnson *et al.* 1992; Moore and Jessop 2003). However, very high corticosterone levels are generally associated to a low individual quality and reduced fitness (cort-fitness hypothesis, Bonier *et al.* 2009a, 2009b). Patterns of adrenocortical modulation during reproduction can be variable (Wingfield & Romero 2001; Romero 2002; Moore & Jessop 2003; Klukowski 2011). For instance, positive or negative relationships between corticosterone and



fitness are reported depending on species (Romero & Wikelski 2001; Cyr and Romero 2007) and may also vary in the same species (Angelier *et al.* 2010; Meylan & Clobert 2005). In addition, several studies showed that adrenocortical modulation is linked to the duration of the reproductive period (Wingfield 1994; Wingfield *et al.* 1998; Moore *et al.* 2001).

Environmental temperature directly influences body temperature of ectotherms and affects most physiological processes (Huey & Stevenson 1979; Angilletta *et al.* 2002) and notably embryonic developmental rate (Deeming & Ferguson 1991; Andrews *et al.* 2000; Birchard 2004). As a consequence, reproduction generally modifies thermal requirements especially during vitellogenesis (eggs formation) and gravidity (embryonic development) (Schwarzkopf & Shine 1991, Wapstra 2000). Temperate terrestrial ectotherms face significant environmental constraints with limited opportunities to achieve thermal preferences. The maintenance of preferred body temperature generally consists in behavioural thermoregulation and involves direct exposure to solar radiation (Blouin-Demers & Weatherhead 2001; Lelièvre *et al.* 2010a). Increase in basking time is thus associated to a significant predation risks (Shine 1980; Magnhagen 1991; Schwarzkopf & Shine 1991) and reduced energy acquisition (foraging opportunities). Hence, seasonality in thermoregulatory constraints is likely to induce variation in adrenocortical modulation.

We addressed seasonal variations in hormonal levels in a temperate squamate species, the wall lizard (*Podarcis muralis*). The two sexes strongly differ in their seasonal activity and thermals constraints. Males exhibit a wide activity period with basking episodes during winter. These thermoregulatory windows are imposed by spermatogenesis and associated with scarce trophic resources (Saint Girons & Duguy 1970; Joly & Saint Girons 1975; Herczeg *et al.* 2007). By contrast, females emerge in spring (March). They initiate vitellogenesis soon after emergence and produce up to 3 clutches between late April and end of July. Specifically, we tested the influence of season, reproductive status and sex on both basal corticosterone level and adrenocortical modulation. We addressed the following predictions:

- i) Because reproduction requires high energetic needs, baseline corticosterone levels should be highest during breeding period.*
- ii) Because reproduction should be more constraining for females, we expect higher baseline corticosterone levels in females than males.*
- iii) Adrenocortical modulation should be reduced to maximise reproductive success.*



Methods

Study species

Podarcis muralis (Laurenti, 1768) are small-sized (adult 50-65 mm snout-vent length) oviparous lacertid lizards. This species is widely distributed through Western Europe. Significant sex-difference in phenology occurs in this species and matings begin in April. Reproductive period is extended (April to July) and females can lay up to 3 clutches per year. Significant shift in thermoregulation occurs in gravid females with lower preferred body temperature than non reproductive females (32.6°C vs. 34.0°C) but higher basking time (Braña 1993 ; Tosini & Avery 1996). The present study was conducted in 2010 at the Centre d'Etudes Biologiques de Chizé in Western Central France (46°07'N; 00°25'W) where a population is monitored since 2006 (over 1,800 individuals marked). The study site is characterized by a temperate oceanic climate and important seasonal variations.

Population monitoring and reproductive statuses

Adult lizards were captured by noosing during basking episodes or when found under nocturnal shelter (rocks). Captures occurred from January to November. Each individual was brought back to the lab, marked using hot branding method (Winne 2006, Vervust and Van Damme 2009) and we collected morphological parameters: SVL, body mass and reproductive status (see below). Captured individuals (females $n = 98$, males $n = 95$) were released at the site of capture after data collection either the day of capture or the following one.

We defined 3 time periods for males: emergence (captures from January to March), breeding (April to July) and post-breeding (August to October). Because females emerge later than males and initiate vitellogenesis soon after, we only considered 2 time periods: breeding and post-breeding. Within breeding period, we assessed reproductive status of females by combining abdominal palpation and ultrasounding (MicroMaxx, Sonosite, Inc. USA). Ultrasonography enables to distinguish follicles from ovulated eggs in lizards (Gilman & Wolf 2007). Follicles are spherical and successively echolucent (dark) and echogenic (light) whereas eggs are more elongated and echolucent (DeNardo 1996, Gilman & Wolf 2007). In late stages, shell is highly echogenic due to mineralization process (Costa *et al.* 2009). We defined 3 reproductive statuses based on ultrasound monitoring: vitellogenic (follicles), gravid (eggs) and post-laying (emaciation state).



Blood sampling and stress response

Upon capture the lizard was bled immediately to obtain baseline corticosterone level. Time to bleed (time from capture to the completion of obtaining blood sample) was measured for each individual. We excluded from analyses the few animals ($n = 4$) which time to bleed was superior to 3 minutes (Romero & Reed 2005). We gently punctured post-orbital sinus with a heparinised microtube and collected approximately 40 μL of blood. Blood samples were transferred in 1.5 mL Eppendorf tubes and kept on ice until return to the laboratory where they were centrifuged for 5 min at 2000 rpm. Plasma fraction was collected and frozen at -32°C until assaying.

Given that *Podarcis muralis* is a small lizard species and blood volumes required are relatively high, we preferred not bleeding the same individual twice a day. We brought back lizards to the laboratory for a 24-hour recuperation period and they were maintained in a temperature-controlled room set at 18°C . We addressed stress response the day after capture. We individually confined the lizard in a transparent plastic box in a temperature-controlled chamber (FOC 225E, Velp Scientifica, Usmate 20865, Italy) set at 28°C . We collected again approximately 40 μL of blood after 1 hour of confinement, which is a common time recorded in squamates studies (Phillips and Klukowski 2008; Lutterschmidt *et al.* 2009). Use of opaque cloth bags restraints body movements and the exclusion of visual cues should have a dampening effect on the hormonal stress response (Canoine *et al.* 2002, Love *et al.* 2003).

Corticosterone assays

We used competitive-binding steroid radioimmunoassay (RIA) to measure levels of corticosterone. Plasma corticosterone was measured in samples after ethyl ether extraction using a commercial anti-serum, raised in rabbits against corticosterone-3-(O-carboxy-methyl) oxime bovine serum albumin conjugate (Biogenesis, UK). Cross-reaction was 9% with 1-desoxycorticosterone and less than 0.1% with other plasma steroids. Duplicate aliquots (100 μL) of the extracts were incubated overnight at 4°C with 8000 cpm of ^3H -Corticosterone (Amersham Pharmacia Biotech-France) and antiserum. The bound and free corticosterone were separated by adding dextran-coated charcoal. After centrifugation, the bound fraction was counted in a liquid scintillation counter. Minimal detectable corticosterone levels were 0.4 ng mL^{-1} (lowest measurement: 1.26 ng mL^{-1}). All samples were run in three assays; the coefficients of intra- and interassay variation were assessed using several reference plasmas within each and separate assays, and were 8.2 and 10.9%, respectively.



Statistical analyses

Data were analyzed using the R software (R Development Core Team 2010) with mixed models (nlme package). Baseline corticosterone level was a covariate in stress-induced analyses. We used linear mixed models and performed ANOVAs or ANCOVAs with season and reproductive status as fixed factors and individual identity as a random factor. We first tested effects of period (breeding and post-breeding) and gender and the first order interaction on baseline and stress-induced corticosterone levels. In a second analysis, we tested influence of the three periods on the two hormonal levels in males. In a third analysis, we tested influence of female reproductive status on baseline and stress-induced hormonal levels. We checked residuals of the model for normality and homoscedasticity, and computed Tukey's *post-hoc* tests to compare each of the season or reproductive status with each of the other season or reproductive status to determine which ones were significantly different. Data are provided means $\pm$ 1 SE. We accepted significance at an alpha level of 0.05.

Results

Differences between sexes

SVL neither influenced baseline ($F_{1,12} = 0.32$, $p = 0.583$) nor stress-induced ($F_{1,11} = 1.53$, $p = 0.242$) corticosterone levels. Baseline corticosterone level was affected by both season ($F_{1,12} = 30.15$, $p < 0.001$) and sex ($F_{1,134} = 28.54$, $p < 0.001$) with an interaction between the two ($F_{1,134} = 11.54$, $p < 0.001$, Fig.1). Females' corticosterone levels were more elevated notably during breeding period (all *Tukey* post-hoc tests, $p < 0.001$). Stress-induced corticosterone level was influenced by baseline corticosterone level ($F_{1,11} = 132.84$, $p < 0.001$) but was neither influenced by season ($F_{1,10} = 0.07$, $p = 0.797$) nor sex ($F_{1,133} = 0.24$, $p = 0.621$) nor the interaction between the two ($F_{1,132} = 0.00$, $p = 0.996$).

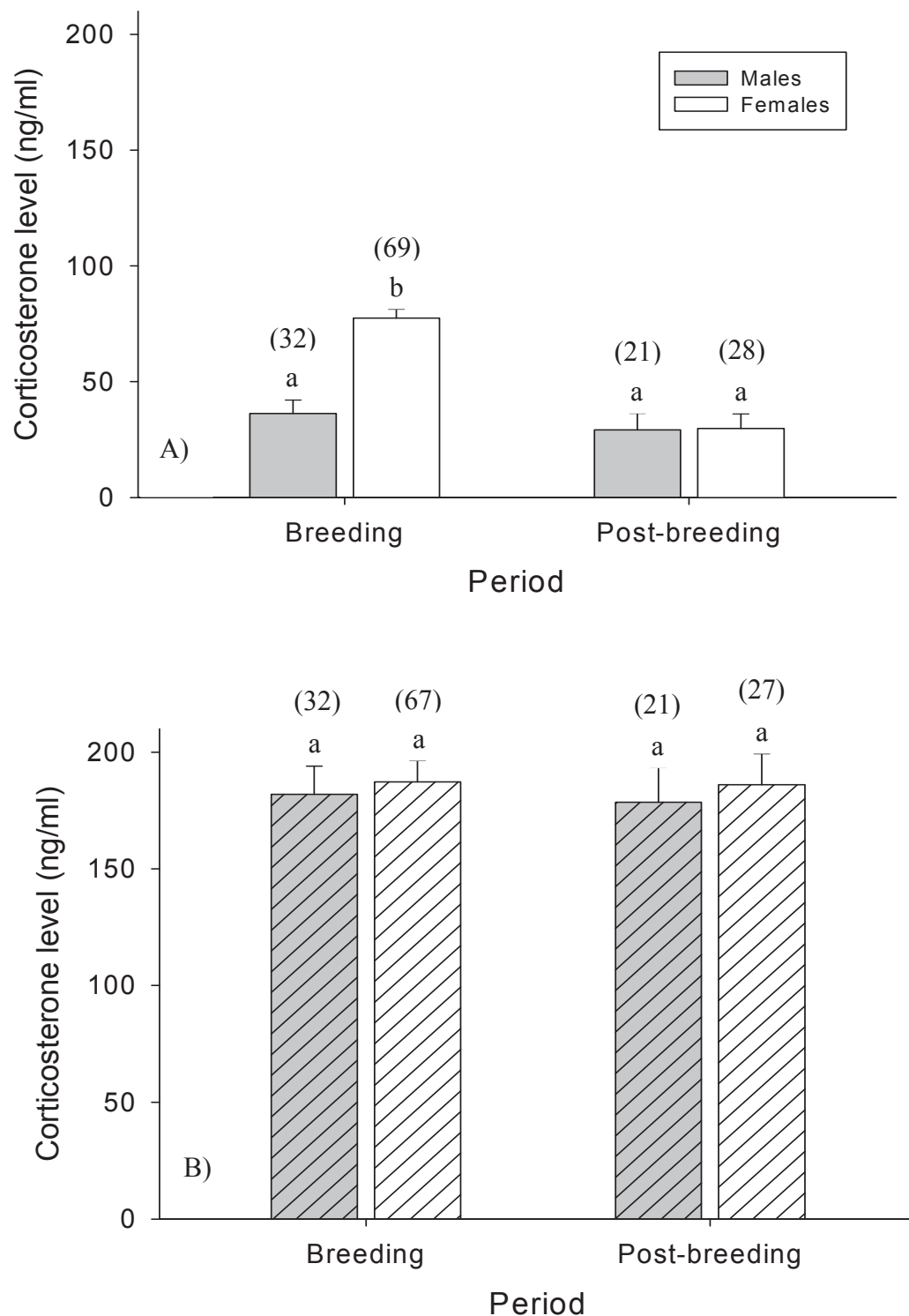


Figure 1. Baseline corticosterone concentrations (mean $\pm$ SE) in males (closed bars) and females (open bars) wall lizards sampled immediately upon capture (A) or after 1 h of stress (B) depending on season. Baseline corticosterone level was higher in reproductive females. Stress-induced corticosterone values were similar in males and females and independent of the season. Sample sizes are given between brackets. Different letters above grouped bars indicate statistically significant ($p < 0.05$) differences.



Seasonal variations in baseline corticosterone levels and stress response in males

Baseline corticosterone level was significantly influenced by season ($F_{2,11} = 7.55$, $p = 0.009$, Fig. 2). Baseline corticosterone levels were significantly higher during emergence than during breeding or post-breeding (Tukey post-hoc tests, respectively: $z = 2.80$, $p = 0.014$ and $z = 3.53$, $p = 0.001$). No statistical difference was observed between breeding and post-breeding (Tukey post-hoc test, $z = 1.04$, $p = 0.550$). Stress-induced corticosterone values were significantly affected by baseline hormonal level ($F_{1,12} = 11.86$, $p = 0.005$) but not by season ($F_{2,10} = 0.43$, $p = 0.663$, Fig. 1).

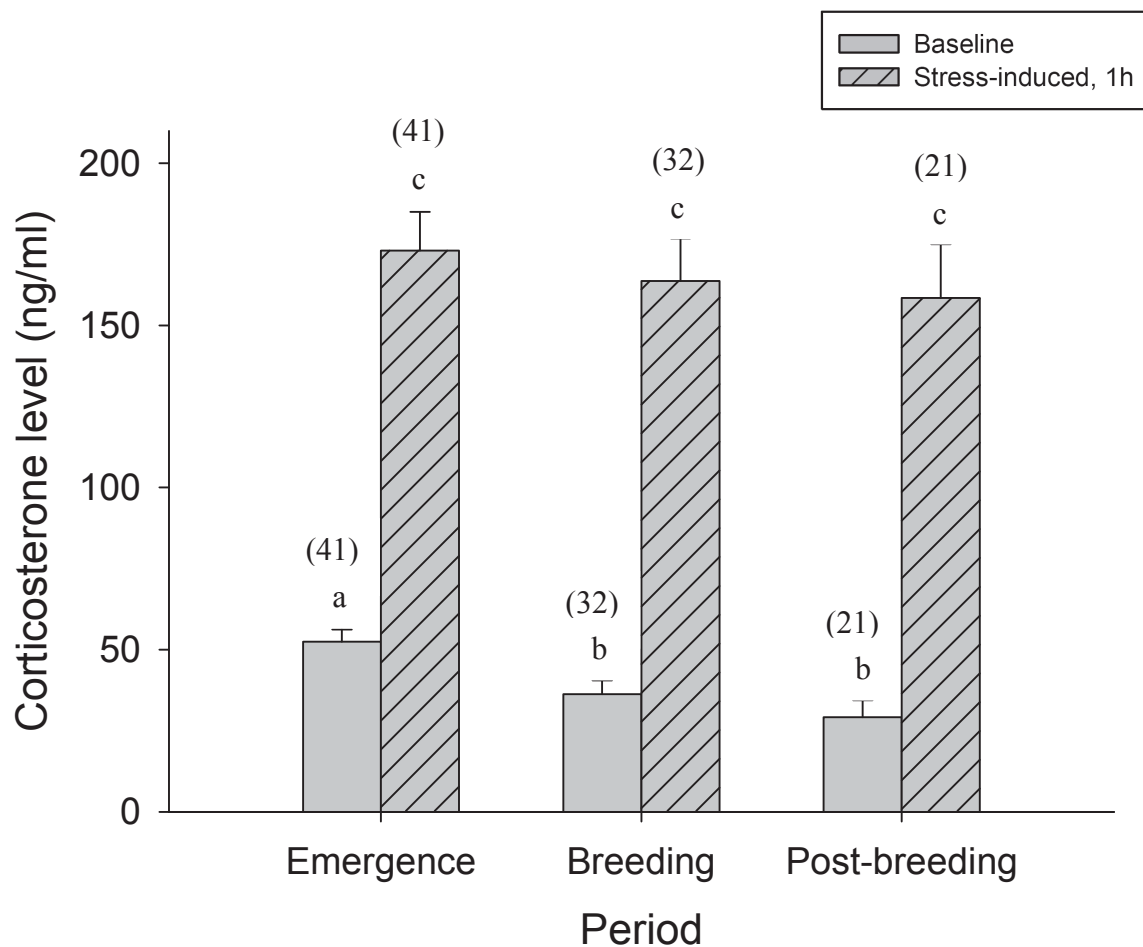


Figure 2. Seasonal variations in corticosterone concentrations (mean $\pm$ SE) in male wall lizards sampled immediately upon capture (closed bars) or after 1 hour of stress (closed hatched bars). Baseline corticosterone values were significantly higher after emergence than during breeding season or post-breeding. No effect of season was detected on stress-induced corticosterone values. Sample sizes are given between brackets. Different letters above grouped bars indicate statistically significant ($p < 0.05$) differences.



Influence of reproductive status in females

Baseline corticosterone values were significantly influenced by reproductive status ($F_{2,4} = 9.49$, $p = 0.030$, Fig. 3) and were higher in gravid than vitellogenic or post-laying females (Tukey post-hoc tests, respectively: $z = 3.00$, $p = 0.008$ and $z = 4.05$, $p < 0.001$). There was no statistical difference between baseline corticosterone of vitellogenic and post-laying females ($z = 0.63$, $p = 0.804$). By contrast, stress-induced corticosterone level was influenced by baseline corticosterone value ($F_{1,4} = 53.70$, $p = 0.002$) but was independent on reproductive status ($F_{2,2} = 0.63$, $p = 0.613$, Fig. 3).

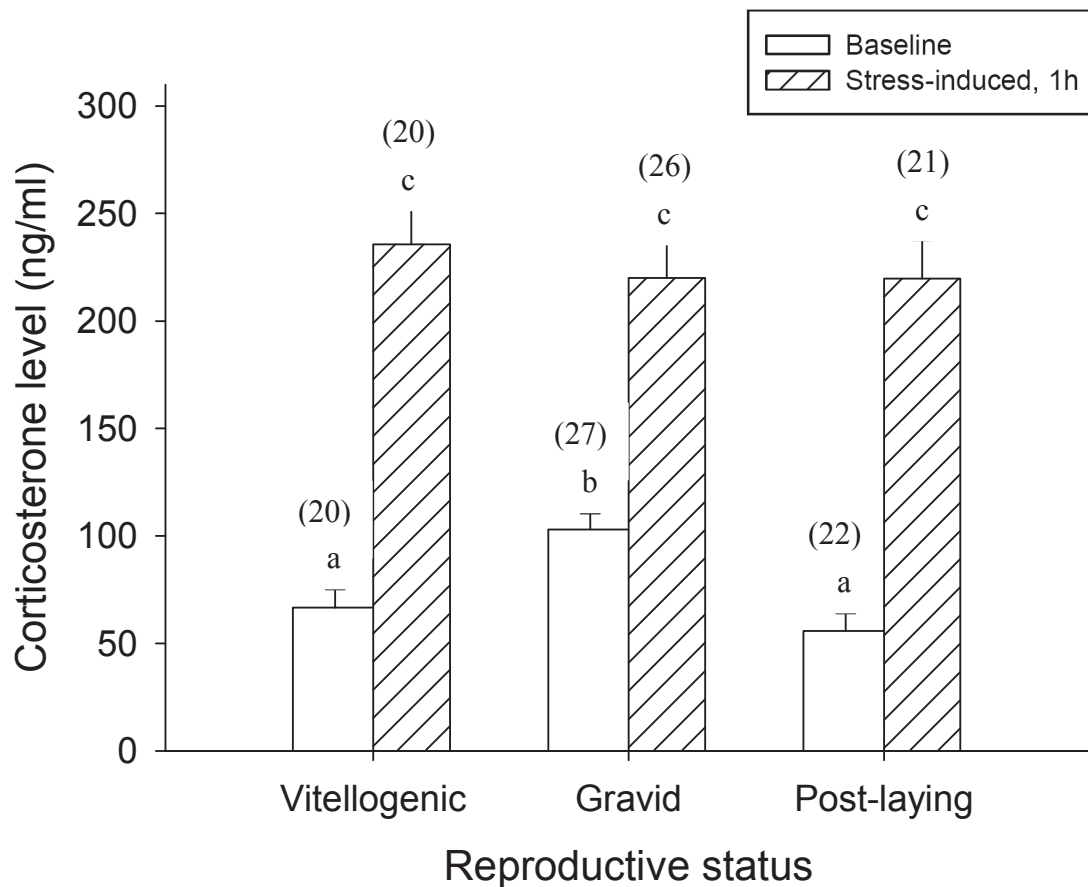


Figure 3. Influence of reproductive status on corticosterone concentrations (mean $\pm$ SE) in females' wall lizards sampled immediately upon capture (open bars) and after 1 h of stress (hatched bars). Baseline corticosterone value was more elevated in gravid than vitellogenic or post-laying females. No effect of reproductive status was detected on corticosterone value after confinement. Sample sizes are given between brackets. Different letters above grouped bars indicate statistically significant ($p < 0.05$) differences.



Discussion

We addressed seasonal and sex specific variations in baseline corticosterone level and adrenocortical modulation in temperate lizard (*Podarcis muralis*) under constraining climatic conditions (Western Central France).

Sex-specific constraints

The cort-fitness hypothesis predicts that baseline corticosterone levels are negatively related to fitness (Bonier *et al.* 2009a; 2009b). Corticosterone secretion increases in response to environmental challenges such as trophic resources limitations or unfavourable thermal conditions (Bonier *et al.* 2009b) so that high corticosterone levels promote the reallocation of resources to self-maintenance to the detriment of reproduction (Wingfield & Sapolsky 2003). Among pleiotropic effects of corticosterone, one concerns mobilization of energy stores (Johnson *et al.* 1992; Moore & Jessop 2003). Indeed, corticosterone stimulates the release of energy substrates such as glucose, amino acids and free fatty acids, from muscle, fat tissue and liver and facilitates transfer of energy from storage to the blood stream by stimulating the generation of glucose (Munck *et al.* 1984; Johnson *et al.* 1992). In the present study, baseline levels of corticosterone, in males, were the highest early in the season, soon after winter emergence. This period is generally thermally constraining but coincides with the maturation of spermatozoa (spermiogenesis). Sperm competition are frequent in squamates species (Richard *et al.* 2005; Oppliger *et al.* 2007) and sexual selection likely favoured early initiation of spermiogenesis, a proximate factor of male fitness (Herczeg *et al.* 2007). However, early in the season, trophic resources are scarce and energy required for basking episodes is likely to be primarily fuelled by body reserves. Fasting may induce significant increase in corticosterone (Woodward *et al.* 1991; Pravosudov *et al.* 2001) and may thus explain our results. In an experimental study, Cote *et al.* (2006) compared activity of corticosterone-treated with placebo-treated lizards and reported that corticosterone-treated males showed higher long-term survival. Additionally, corticosterone-treated individuals were active significantly earlier in the morning and proportion of time basking was higher than in placebo-treated ones. Hence, early high levels of corticosterone in males could be the proximate factor triggering basking under suboptimal conditions. These results are consistent with the general seasonal pattern of glucocorticoids release in reptiles (Jessop *et al.* 2002; Romero 2002).



Energy costs of sperm production is likely minimal when compared to egg production (Olsson *et al.* 1997). In this study, baseline corticosterone levels of breeding females were the highest when compared to post-breeding females or males. Intense energy mobilization and basking activities imposed by reproduction could largely explain these results. Quite similarly to males during spermiogenesis, vitellogenesis and gravidity are associated with high thermal needs. Increased corticosterone in females are likely to be the reflection of large mobilization of reserves (Meylan *et al.* 2003) to fuel reproductive expenditure and sustain basking episodes. Gravidity implies locomotor impairment due to the physical burden of the clutch (Le Galliard *et al.* 2003; Shine 2003). Beside, eggs occupy the entire abdominal cavity (Weiss 2001) and likely reduce foraging and feeding capabilities. Females spend more time in thermoregulation when gravid (Tosini & Avery 1996) which is likely to induce negative energy balance as suggested by higher baseline corticosterone levels recorded in gravid females when compared to vitellogenic or post-laying ones. Previous studies (Dauphin-Villemant & Xavier 1986; Tyrrell & Cree 1998; Woodley & Moore 2002) suggested that maternal adrenal activity increases during gestation and egg water intake (Dauphin-Villemant & Xavier 1986). Thus, corticosterone might also be involved in the regulation of water and, consequently, during embryonic development.

No adrenocortical suppression during breeding period

Glucocorticoid synthesis and release is expected in response to stressors but the magnitude, rate and duration of the changes are highly context-dependent (Wingfield & Romero 2001; Moore & Jessop 2003). Indeed, a sustained elevation of glucocorticoid production in response to stressors requires energy and may have negative consequences, such as catabolization of fast-twitch muscle fibers leading to loss of muscle function, reduced immunocompetence or neural degeneration (Berger *et al.* 2005; McEwen *et al.* 1997; Morici *et al.* 1997; Sapolsky *et al.* 2000) in the long term. Therefore, under some environmental circumstances, energetic requirements may exceed available environmental resources (Cote *et al.* 2010). Stress responses should then be modulated according to energetic constraints encountered in the environment or to intrinsic factors such as the ability to mobilize energy from fat reserves (Landys *et al.* 2006). Hence, according to the cort-fitness hypothesis, a suppression of glucocorticoids secretion is expected during reproduction to maximise reproductive success.

In such a context and given that trophic resources are scarce at time of emergence, we predicted that males should suppress stress response to optimize reproduction and limit energy loss (Cote *et al.* 2010). Similarly, in females, vitellogenesis and gravidity are constraining periods



where energetic and thermal needs for embryonic development are high. However, no adrenocortical suppression was observed during reproductive period. Lack of modulation during reproductive period has been reported in other squamates species (Moore *et al.* 2001; Cree *et al.* 2003). For instance, Cree *et al.* (2003) did not reveal adrenocortical suppression in pregnant lizards despite lethal effects of high plasma corticosterone levels on embryos. Indeed, a maternal transfer from plasma into the yolk can occur (Radder & Shine 2007a) and affect organismal fitness (Matthews 2002; Meylan *et al.* 2002; Meylan & Clobert 2005). In this study, the lack of adrenocortical suppression during gravidity suggests no detrimental effects of high corticosterone levels as previously reported in previous studies (Cree *et al.* 2003, Radder & Shine 2007a).

Adrenocortical modulation can depend on length of the breeding season (Wingfield *et al.* 1998; Moore *et al.* 2001; Wingfield & Romero 2001). For instance, Moore *et al.* (2001) studied two garter snakes subspecies and reported that red-sided garter snakes living at high latitude and facing a relatively short length of the breeding period suppress their stress response whereas southern latitude breeding populations of red-spotted garter snakes (exhibiting extended breeding season) did not. Such physiological variations are viewed to optimise limited reproductive opportunity. Finally, adrenocortical modulation mediates the trade-off between reproduction and survival (Ricklefs & Wikelski 2002; Breuner *et al.* 2008) and variations are expected depending on lifetime reproductive opportunities (Moore & Jessop 2003). In very fecund species producing annual multiple clutches, the maintenance of a high stress response should be advantageous to maximise survival and future reproductive output. Further studies are required in other species to address the generality of these findings.

Acknowledgments

We thank many field volunteers for helping in lizards capture and assisting in data collection. Sophie Lorient assisted with statistical analyses. We thank Colette Trouvé and Charline Parenteau for corticosterone assays. This work was funded by the Agence Nationale de la Recherche (ECTOCLIM project).



2) Déterminants de l'ectoparasitisme chez le lézard des murailles, *Podarcis muralis* : influences saisonnières et contraintes reproductrices

Manuscrit en préparation (A6)

Maxime Le Hénanff^{1,2}, Gabriel Blouin-Demers³ & Olivier Lourdais^{1,6}

¹ Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, 79360, Villiers en Bois, France

² Université de Poitiers, 40 avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers, France

³ Département de Biologie, Université d'Ottawa, Ottawa, ON, K1N 6N5, Canada

⁶ School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-4501, USA

En préparation pour : Canadian Journal of Zoology

Introduction

Les compromis d'allocation sont des éléments centraux de la théorie des traits d'histoire de vie (Williams 1966 ; Stearns 1992). Les organismes doivent allouer une quantité d'énergie limitée dans différentes voies compétitrices (maintenance, croissance et reproduction). La reproduction impose des besoins énergétiques forts qui laissent apparaître des contraintes et des coûts pour les individus. De nombreuses études révèlent ainsi un conflit entre l'investissement en reproduction et le maintien d'un système immunitaire efficace (Adamo *et al.* 2001 ; Ardia 2005 ; French *et al.* 2007). La réponse immunitaire de l'hôte peut avoir notamment un effet à la fois sur les endoparasites et les ectoparasites (Wikel 1996 ; Brossard & Wikel 1997 ; Wijffels *et al.* 1999).

Les reptiles sont des hôtes pour une diversité de parasites (Klukowski & Nelson 2001 ; Václav *et al.* 2007 ; Biaggini *et al.* 2009 ; Majláthová *et al.* 2010) internes et externes (Barnard & Durden 2000 ; Casher *et al.* 2002). De nombreux facteurs influencent la charge en parasites avec notamment le génotype (Brown *et al.* 1995, Olsson *et al.* 2005), l'âge (Christian and Bedford 1995 ; Schall & Marghoob 1995), la reproduction (Václav *et al.* 2007), le sexe (Klukowski & Nelson 2001) ou encore les variables environnementales (Lubelczyk *et al.* 2004 ; Medlock *et al.* 2008). Les



individus parasités peuvent alors présenter des troubles physiologiques et comportementaux (Sorci & Clobert 1995 ; Oppliger *et al.* 1996).

Dans cette étude, nous avons exploré les variations saisonnières de la prévalence et de l'intensité de l'ectoparasitisme chez le lézard des murailles (*Podarcis muralis*). La période de reproduction est relativement longue chez cette espèce (avril à juillet) et est contraignante à la fois pour les mâles et les femelles. En effet, les femelles investissent une part importante de leurs réserves énergétiques dans des pontes multiples et les mâles doivent défendre activement leur territoire. Ainsi, un fort investissement dans la reproduction devrait se traduire par une augmentation de la prévalence et de l'intensité du parasitisme chez les deux sexes. Nous avons adressé les prédictions suivantes :

- i) Les taux de parasitisme devraient varier de façon saisonnière et être plus élevés en période de reproduction (ressource moindre pour la maintenance)
- ii) Du fait du rôle immunosuppresseur de la testostérone, les mâles devraient être davantage parasités que femelles.

Matériel et méthodes

Modèle et site d'étude

Le lézard des murailles, *Podarcis muralis* (Laurenti, 1768), est un petit lézard médio-européen de la famille des Lacertidés (taille museau-cloaque adulte (SVL) : environ 50-65 mm). Les femelles initient leur vitellogénèse peu de temps après l'émergence et les accouplements débutent généralement en avril. La période de reproduction s'étend jusqu'à juillet et les femelles peuvent produire jusqu'à 3 pontes annuelles. La taille de ponte varie de 2 à 11 œufs (moyenne 5.2). Ce lézard héliotherme est un thermorégulateur actif et fréquente des habitats ensoleillés et pierreux. Cette espèce se nourrit principalement d'arthropodes (Mou & Barbault 1986). La présente étude a été menée au Centre d'Etudes Biologiques de Chizé dans le centre-ouest de la France (46°07'N; 00°25'W) et nous avons analysé les données issues du suivi de la population de 2006 à 2010. Le site d'étude est caractérisé par un climat océanique tempéré et d'importantes fluctuations saisonnières.



Capture et variables individuelles récoltées

Les lézards ont été capturés par la méthode du lasso (« noosing ») pendant les épisodes de thermorégulation ou sous leur abri nocturne en début de journée avant l'élévation des températures environnementales. Les captures ont eu lieu toute l'année pendant la saison d'activité (mars à octobre). Chaque individu a été ramené au laboratoire pour être marqué et afin de collecter différentes mesures morphologiques : SVL (0.1mm), masse corporelle (0.01g), parasitisme (présence /absence et abondance) et statut reproducteur. Le statut reproducteur des femelles a été adressé par palpation et échographie (MicroMaxx, Sonosite, Inc. USA). Les juvéniles de l'année n'intervenant que pour une période restreinte de l'année (automne), ils ont été exclus des analyses.

Analyses statistiques

Nous avons réalisé deux types d'analyses : une analyse de prévalence (présence/absence de tiques) et une analyse d'intensité du parasitisme (nombre de tiques présentes). Ces analyses ont été effectuées pour deux périodes différentes : pendant la période d'activité du lézard des murailles (de mars à octobre) et plus spécifiquement pendant la période de reproduction (d'avril à juin).

La première période nous a permis d'étudier l'évolution du parasitisme au cours de l'année, en intégrant dans un modèle linéaire généralisé le mois de capture de l'individu, le sexe et la taille corporelle. Nous avons étudié plus en détails les déterminants du parasitisme et notamment le lien avec la reproduction. Pour cela, nous avons réalisé trois analyses distinctes : 1) effets du sexe et de la SVL sur le parasitisme, 2) chez les femelles, effets du statut reproducteur (gravide, non gravide, post-ponte) et de la SVL, et 3) chez les femelles gravides, effets du statut reproducteur et de la SVL. Ces analyses ont été menées à la fois pour la prévalence et pour l'intensité du parasitisme.

Toutes les analyses ont été réalisées grâce au logiciel de statistiques R. Pour l'étude de la prévalence, nous avons utilisé des modèles «glmer» avec régressions logistiques de la librairie «lme4». Concernant l'analyse de l'intensité du parasitisme, nous avons utilisés des modèles «glmer» avec une loi de poisson car les données présentaient une distribution « 1 enflé ». Nous avons introduit l'individu en effet aléatoire, un même individu pouvant être capturé plusieurs fois.



Résultats

1) Analyse générale (mars à octobre)

La probabilité d'être parasité est influencée à la fois par la taille corporelle ($z = 3.62$, $p < 0.001$), le mois de l'année ($z = -7.29$, $p < 0.001$) et le sexe ($z = 1.98$, $p = 0.048$). La prévalence au parasitisme est plus importante chez les individus de grande taille et lors du pic de la période de reproduction (avril à juin) (Fig. 1). En moyenne, les mâles présentent une prévalence à l'ectoparasitisme supérieure aux femelles (26.7% vs. 21.9%).

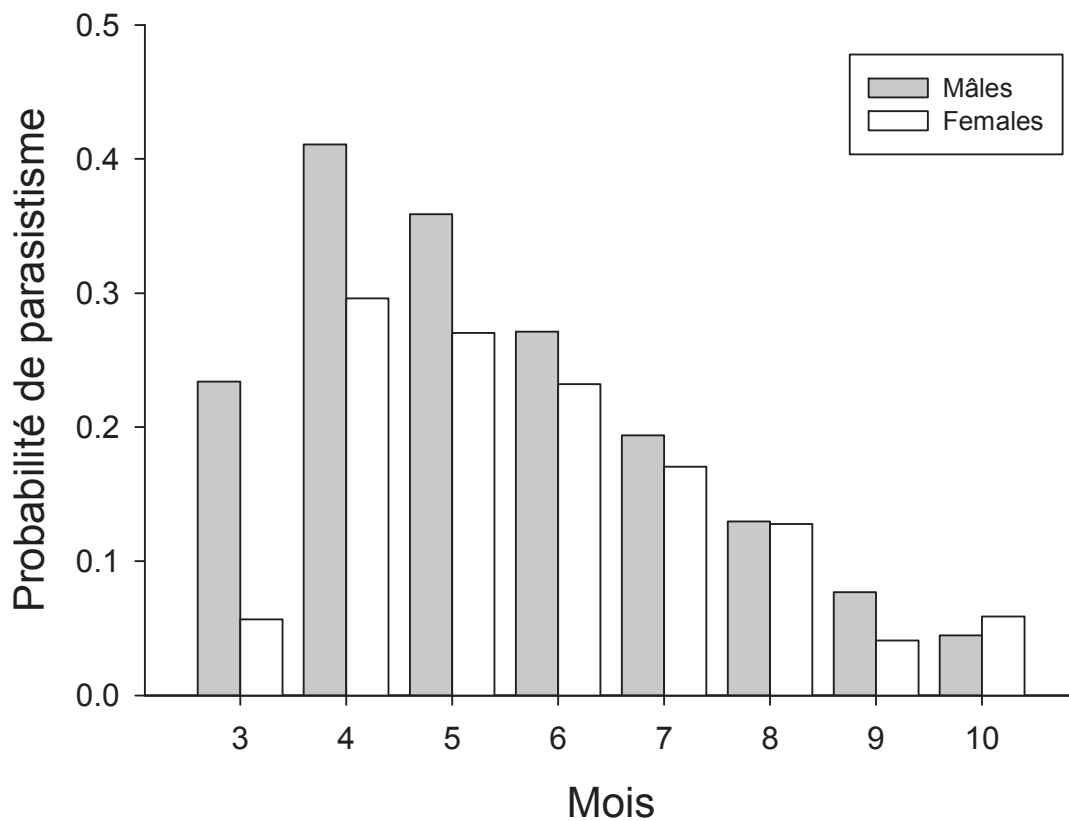


Figure 1 : Evolution de la probabilité de parasitisme en fonction de l'année et du sexe.

Nous n'avons pas observé de saisonnalité dans l'intensité du parasitisme ($z = 0.07$, $p = 0.940$). En revanche, l'intensité du parasitisme augmente avec la taille corporelle ($z = 4.48$, $p < 0.001$).



2) Analyse sur la période de reproduction (avril à juin)

2.1 Influence du sexe

La probabilité de parasitisme est influencée par le sexe ($z = 2.81$, $p = 0.005$). En période de reproduction, les mâles présentent une prévalence à l'ectoparasitisme supérieure aux femelles (Fig. 2). L'intensité du parasitisme augmente avec la taille corporelle ($z = 2.48$, $p = 0.013$) mais n'est pas influencée par le sexe ($z = 0.34$, $p = 0.735$).

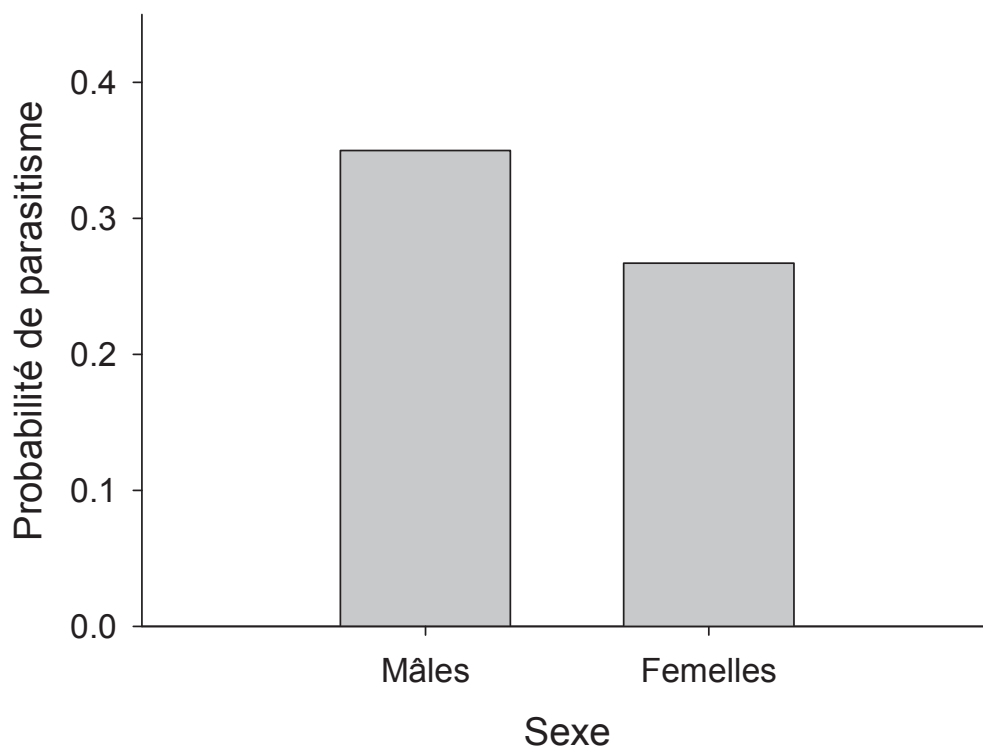


Figure 2. Probabilité de parasitisme en fonction du sexe

2.2 Influence du statut reproducteur chez les femelles

La prévalence à l'ectoparasitisme est influencée par le statut reproducteur (Fig. 3). Les femelles gravides présentent une probabilité de parasitisme supérieure par rapport aux femelles vitellogéniques ($z = 5.01$, $p < 0.001$). Les femelles post-ponte sont en position intermédiaire.

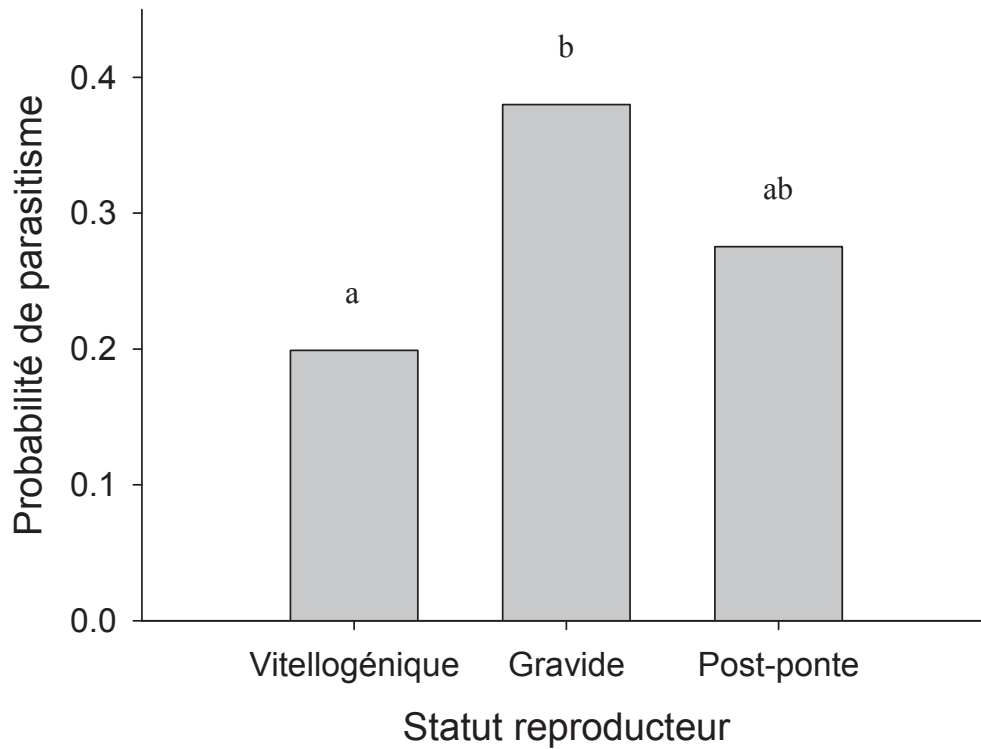


Figure 3. Probabilité de parasitisme en fonction du statut reproducteur des femelles. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ($p < 0.05$).

L'intensité du parasitisme est influencée par le statut reproducteur. De nouveau, les femelles parasitées ont plus de parasites quand elles sont gravides que quand elles sont vitellogéniques (3.3 ± 0.5 vs. 1.6 ± 0.2 , $z = 2.68$, $p = 0.020$, Fig. 4). Les femelles post-ponte sont en position intermédiaire entre les femelles gravides et non reproductrices (2.5 ± 0.5 tiques, tests post-hoc de Tukey, respectivement, $z = 0.37$, $p = 0.928$ et $z = 1.81$, $p = 0.165$).

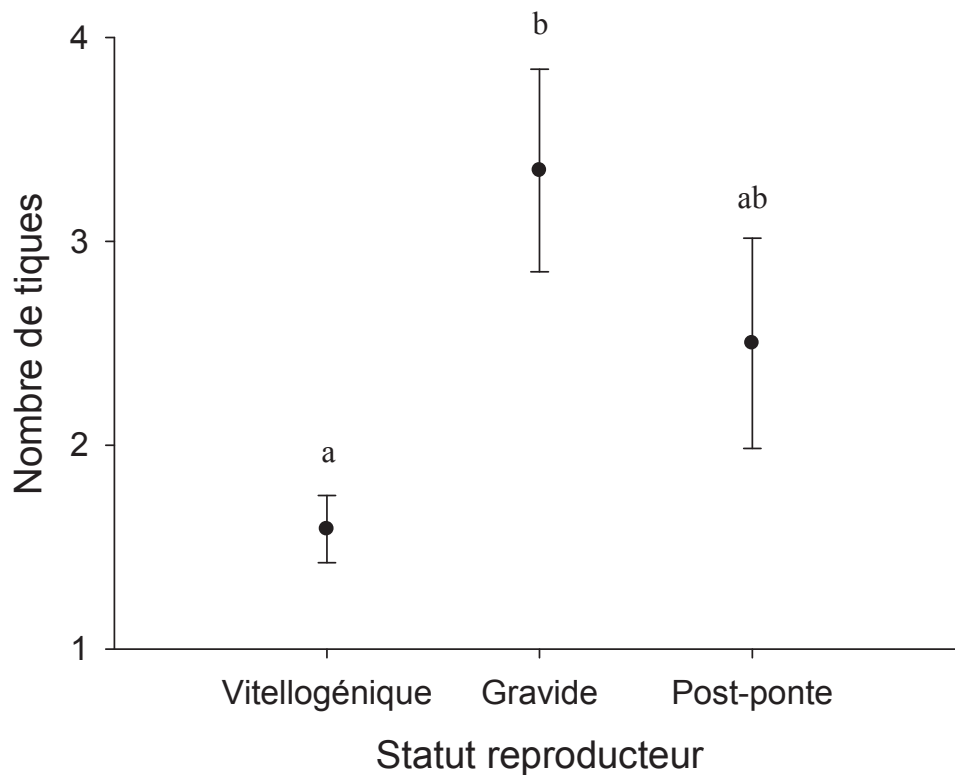


Figure 4. Charge en parasites en fonction du statut reproducteur des femelles. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ($p < 0.05$).

Discussion

Nous avons étudié les déterminants de la présence/absence et de l'intensité de l'ectoparasitisme chez le lézard des murailles (*Podarcis muralis*) dans le centre-ouest de la France dans un contexte thermiquement contraignant. Cette espèce à pontes multiples est particulièrement thermophile, très mobile et présente une période de reproduction relativement longue.

Nos résultats montrent une forte saisonnalité dans la probabilité d'être parasité avec une prévalence bien plus importante d'avril à juin, moment du pic de reproduction. Ce résultat coïncide avec de précédentes études (Adamo *et al.* 2001 ; Ardia 2005 ; Václav *et al.* 2007) et reflète le compromis d'allocation imposé par la reproduction (Stearns 1992) sur les deux sexes. Parce que cette saisonnalité du parasitisme peut refléter une saisonnalité des ectoparasites, nous avons exploré les facteurs proximaux du parasitisme au sein de la période de reproduction.



Les femelles ont des besoins énergétiques particulièrement élevés pour la production de pontes multiples et dont chacune peut représenter entre un tiers et la moitié de leur masse corporelle. Pourtant, les mâles présentent une probabilité de parasitisme supérieure aux femelles. De telles variations de parasitisme entre les sexes ont également été obtenues chez d'autres espèces de vertébrés (Robert *et al.* 2006) et de squamates (Klukowski & Nelson 2001 ; Václav *et al.* 2007) et sont attribuées aux effets de la physiologie reproductrice des mâles sur le comportement et le système immunitaire (Zuk & McKean 1996). En effet, l'élévation des taux de testostérone liée à la reproduction peut supprimer la fonction immunitaire (Salvador *et al.* 1996 ; Olsson *et al.* 2000). Ces taux de testostérone élevés sont associés à la dominance des individus et une plus forte territorialité. La susceptibilité au parasitisme augmente alors avec l'investissement reproducteur (Veiga *et al.* 1998). Par exemple, une élévation expérimentale du taux de testostérone chez des mâles lézards (*Psammmodromus algirus* et *Sceloporus undulatus hyacinthinus*) induit une augmentation significative du nombre de parasites chez les individus manipulés par rapport aux mâles contrôle (Salvador *et al.* 1996 ; Klukowski & Nelson 2001). Enfin, les mâles possèdent généralement des tailles de domaines vitaux plus importantes, ce qui peut augmenter les probabilités de parasitisme (Perry & Garland 2002). Enfin, les mâles présentent des épisodes de thermorégulation précoces lors de conditions thermiques suboptimales et des ressources trophiques limitées. Ainsi, une mobilisation forte des réserves énergétiques devrait avoir lieu pendant cette période (concordante avec les taux élevés de corticostérone enregistrés pendant l'éclosion). La probabilité de parasitisme chez les mâles est particulièrement élevée en mars par rapport aux femelles et révèle ainsi un compromis dans l'exploitation des réserves corporelles.

Au sein des femelles, la probabilité et l'intensité de parasitisme sont influencées par le statut reproducteur. En effet, les femelles gravides présentent une probabilité de parasitisme supérieure aux femelles vitellogéniques ou post-ponte et une charge en parasites supérieure aux femelles vitellogéniques. Pourtant, les femelles gravides réduisent leur activité locomotrice et restent plus près de leur refuge (Cooper *et al.* 1990 ; Braña 1993), ce qui devrait réduire les taux de rencontre avec des parasites. Cependant, les femelles gravides augmentent leur temps passé immobile en thermorégulation. Le volume important occupé par les œufs dans la cavité abdominale (Weiss 2001) entraîne un encombrement marqué et une réduction des prises alimentaires. L'augmentation du parasitisme en phase de gravidité révèle ainsi l'amplitude des contraintes de la reproduction et de la mobilisation importante des réserves.

Ainsi, nos résultats mettent en évidence un lien fort entre saison de reproduction et parasitisme. Les individus font face à des ressources trophiques limitées qui doivent être investies



dans des voies métaboliques concurrentielles (maintenance, croissance, reproduction) (Stearns 1992 ; Roff 1992). La reproduction impose des contraintes particulièrement fortes à la fois pour la fabrication des œufs chez les femelles mais également pendant la thermorégulation lors de la gravidité. Chez les mâles, la dominance et les comportements de territorialité occupent une portion importante de l'activité et sont associés à des taux d'hormones (testostérone) élevés avec un rôle immunosuppresseur. De plus, une charge élevée en parasites est associée à une diminution de la réponse à l'injection de PHA (Phytohaemagglutinin) (Huyghe *et al.* 2010). Les tiques sont des agents de transmission de parasites sanguins et des études complémentaires sur les déterminants de ces taux d'hémoparasites seraient particulièrement pertinentes.

Remerciements

Nous remercions l'ensemble des stagiaires qui ont apporté leur aide lors de la capture des individus et la collecte des données. Nous remercions Arzhela Hemery pour son aide aux analyses statistiques. Cette étude a été financée par l'Agence Nationale de la Recherche (projet ECTOCLIM).



Discussion





La théorie des traits d'histoire de vie prédit que les pressions de sélection vont favoriser une répartition optimale de l'effort reproducteur dans la vie d'un organisme. Les compromis d'allocation sont au cœur des processus évolutifs avec notamment un compromis entre la reproduction et la croissance. La taille corporelle influence fortement la fécondité et l'investissement dans la croissance peut être avantageux pour favoriser la fécondité. Outre la taille corporelle, l'accumulation de réserves peut aussi permettre une fécondité supérieure. Les pressions de sélection sur la fécondité peuvent donc toucher plusieurs paramètres qui peuvent différer selon l'ontogénie de l'individu. Ainsi, les priorités d'allocation peuvent varier avec l'âge et cette dimension constitue une composante importante de ce travail.

Outre les aspects quantitatifs (fécondité), la qualité de la reproduction est un paramètre central. Ainsi, la qualité phénotypique des jeunes ou les conditions de développement post-natales peuvent fortement influencer les trajectoires individuelles. La phénologie de la reproduction est en ce sens une facette centrale notamment en milieu tempéré où les contraintes climatiques sont significatives. En effet la date de ponte conditionne le temps d'activité pour les nouveau-nés avant le premier hivernage et les conditions météorologiques associées à la croissance. Nous avons donc cherché à clarifier les déterminants et l'implication de la phénologie de la reproduction. Par ailleurs, les contraintes s'expriment aussi sur le développement embryonnaire et nous avons manipulé les conditions de développement afin de mesurer les effets à moyen terme sur la survie et la croissance.

Enfin, la reproduction impose des contraintes significatives et contrastées chez les mâles et les femelles. La clarification de ces contraintes est essentielles pour mieux comprendre les conflits écophysiologiques et les déterminants de la qualité individuelle. Nous avons étudié une population de lézard des murailles (*Podarcis muralis*) au Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (Centre-Ouest de la France). Ce suivi de population a été initié en 2006 et s'est poursuivi sur une durée de 4 années durant lesquelles environ 1800 individus différents ont pu être marqués.

Reproduction en milieu tempéré

Chez le lézard des murailles, l'émergence s'accompagne d'exigences thermiques renforcées pour la maturation des gamètes. Chez les mâles, la spermiogénèse se traduit par des épisodes de thermorégulation précoces même dans des conditions thermiques suboptimales et où l'accès à la ressource trophique est limité (Badenhausser *et al.* 2009).

Chez les femelles, l'émergence est plus tardive mais l'engagement en reproduction est immédiat avec la mise en place de la vitellogénèse et la mobilisation des réserves pour la formation des œufs.



Cette espèce est particulièrement prolifique avec la production de pontes multiples qui impose un investissement reproducteur conséquent. Par exemple, les femelles peuvent s'investir dans plusieurs épisodes de ponte par an (jusqu'à 3) dont chacun peut représenter entre un tiers et la moitié de leur masse corporelle. Ces événements de reproduction sont donc particulièrement contraignants à la fois par les besoins énergétiques qu'ils requièrent et les besoins thermiques nécessaires à la réalisation des différentes activités (thermorégulation, recherche alimentaire) et l'optimisation du développement embryonnaire. Ces contraintes reproductrices spécifiques favorisent l'émergence de compromis physiologiques et comportementaux. Par exemple, une thermorégulation active peut être problématique en affectant le budget d'activité avec moins de temps disponible pour l'acquisition de ressources trophiques. Un « conflit » physiologique peut donc exister entre l'allocation directe dans la reproduction et les activités associées. La date de ponte (et la date de naissance) sont des composantes importantes du succès reproducteur et peuvent être l'objet de pression de sélection (Brommer *et al.* 2003) .

Coûts et bénéfices de la thermorégulation

La thermorégulation résulte d'un compromis entre coûts et bénéfices (Huey & Slatkin 1976). Les coûts associés à la thermorégulation peuvent être de 3 types : la dépense énergétique (augmentation du métabolisme avec la température), le risque de prédation (lié à une exposition accrue) et le temps alloué (le temps passé en thermorégulation n'est plus disponible pour la recherche de partenaires ou de nourriture). Le modèle théorique de Huey & Slatkin (1976) prédit donc que l'animal va exprimer un comportement de thermorégulation lorsque les bénéfices associés seront supérieurs aux coûts. Cette « décision » dépend autant de facteurs intrinsèques (préférences thermiques, statut physiologique) que de facteurs extrinsèques (pression de prédation, qualité thermique de l'habitat). Les stratégies visant à optimiser la thermorégulation répondent donc à un contexte écologique précis. Par exemple, l'investissement en thermorégulation devrait augmenter lorsque les bénéfices en terme de performance (fitness) sont élevés (Angilletta *et al.* 2002) ou avec l'augmentation de la qualité thermique de l'habitat, le coût principal de la thermorégulation. Néanmoins, ce modèle théorique a montré ses limites (Blouin-Demers & Nadeau 2005). En effet, contrairement aux prédictions du modèle de coûts-bénéfices de la thermorégulation (Huey & Slatkin 1976), Blouin-Demers et Nadeau (2005) ont montré une diminution de l'investissement en thermorégulation dans des habitats de haute qualité thermique, alors que les coûts sont réduits.

Conditions thermiques locales

Du fait d'une influence océanique marquée, le site d'étude est caractérisé par une forte nébulosité au printemps et à l'automne, contraignant les lézards des murailles dans leurs opportunités de thermorégulation. Au sein de notre site d'étude, les conditions thermiques sont limitantes au moment où les besoins thermiques sont les plus importants (Fig. 36). Ainsi, le temps journalier disponible pour maintenir une activité est relativement limité en début de saison et à l'automne. Ainsi les conditions thermiques constituent une contrainte significative à la fois pour la reproduction des adultes au printemps et la croissance des jeunes à l'automne. Dans un tel contexte, des stratégies individuelles sont attendues afin d'optimiser le compromis entre le temps passé en thermorégulation et la recherche alimentaire. Nous avons étudié en détail ces trajectoires individuelles en combinant une approche expérimentale et descriptive.

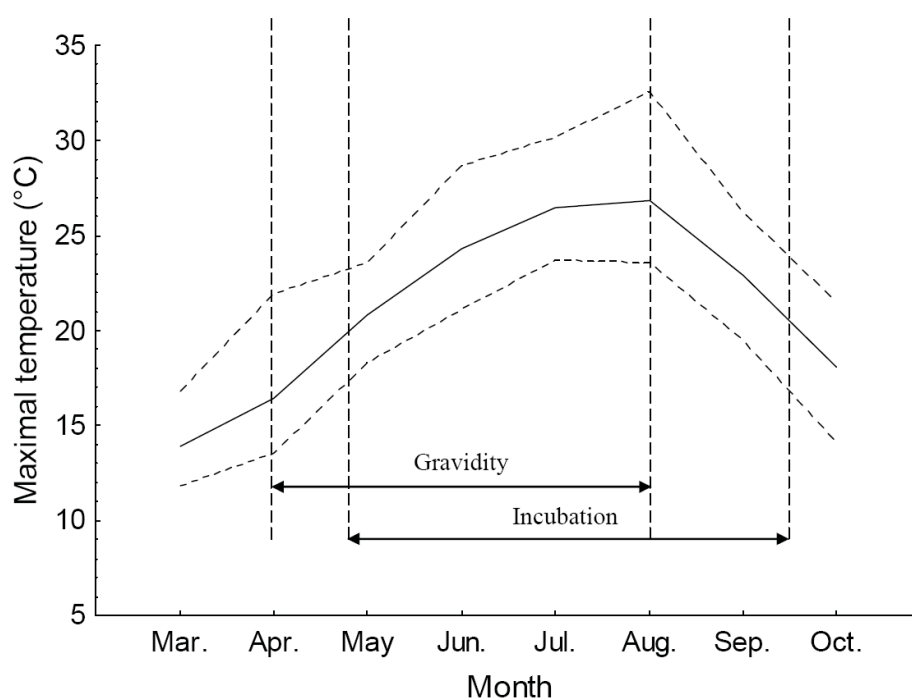


Figure 36 : Conditions thermiques enregistrées par la station météorologique de Niort sur la période 1990-2010. La ligne continue représente les maximales mensuelles moyennes et les lignes en pointillés représentent les températures maximales mensuelles extrêmes.

1. Contraintes thermiques et succès reproducteur

1.1. Sensibilité embryonnaire

La sensibilité thermique embryonnaire est une caractéristique universelle des vertébrés (Farmer 2000 ; Lourdais *et al.* 2008). Chez les squamates, les conditions thermiques lors du développement embryonnaire influencent à la fois la morphologie (Van Damme *et al.* 1992 ; Elphick and Shine 1998 ; Andrews *et al.* 2000 ; Lourdais *et al.* 2004), la physiologie (Deeming & Ferguson 1991 ; Du *et al.* 2010), le comportement (Burger 1989 ; Blouin-Demers *et al.* 2000) ou la survie (Burger 1998 ; Warner & Shine 2007 ; Uller & Olsson 2010).

Cette sensibilité embryonnaire se traduit bien souvent par un investissement maternel important dans la thermorégulation (Robert *et al.* 2006 ; Lourdais *et al.* 2008). Si, chez les squamates ovipares, l'influence des conditions thermiques lors de l'incubation ont été largement étudiées, très peu d'études ont considéré les influences avant l'oviposition (Du *et al.* 2005 ; Shine 2006 ; Telemeco *et al.* 2010). Ceci est d'autant plus surprenant que les stades précoces de développement sont particulièrement sensibles (Lindström 1999 ; Shine 2004).

Nous avons donc manipulé à la fois les opportunités de thermorégulation lors de la gravidité et les conditions thermiques d'incubation (23°C vs. 29 °C). Les opportunités de thermorégulation journalières (3h, 6h ou 9h) correspondent à des conditions écologiquement pertinentes et reflètent bien les variations inter journalières subies par les femelles. Le succès d'éclosion était élevé et similaire au sein de chacune des combinaisons de traitement. En revanche la dynamique du développement embryonnaire a été fortement impactée par les conditions d'incubation, les individus développés à 29°C ayant éclos environ 1 mois avant ceux incubés à 23°C. Les conditions d'incubation ont également influencé le phénotype des juvéniles. Les individus incubés à 23°C présentent une taille corporelle significativement inférieure à ceux développés à 29°C et une condition corporelle plus élevée. Les conditions d'incubation ont également impacté le comportement de thermorégulation, les individus développés en conditions fraîches présentant des températures préférées plus faibles que les individus incubés à 29°C (36.0 vs. 38.3°C), ainsi que le comportement de défense avec une réponse plus importante chez les premiers.

Contrairement à nos prédictions (sensibilité plus importante en début de développement), les opportunités de thermorégulation contrastées ont influencé le phénotype des nouveau-nés de façon assez mineure. En effet, malgré une sensibilité théorique plus importante aux stades précoces de développement, seul le comportement de défense semble avoir été impacté par ce traitement. Il

est important de noter que ces conditions n'étaient pas strictement imposées et permettaient ainsi des variations individuelles dans l'expression du comportement de thermorégulation. De plus, même dans le traitement le plus contraignant, les femelles gravides pouvaient tout le temps atteindre leur T_{set} , un paramètre crucial pour la qualité du développement.

1.2. Effets à long terme

Si l'impact à la naissance des conditions thermiques lors du développement embryonnaire a été largement étudié, peu de travaux se sont attachés à adresser les effets long-terme de telles perturbations. Pourtant, toutes les modifications morphologiques, physiologiques ou comportementales induites par les conditions de développement ne sont pas nécessairement directement impliquées dans la valeur sélective des individus. Ainsi, seule la prise en compte des trajectoires individuelles permet de comprendre l'importance de ces variations phénotypiques observées (Metcalf & Monaghan 2001 ; Shine 2004).

La phénologie de la reproduction conditionne la survie des descendants (Varpe 2007). En effet, des dates de naissance précoces coïncident avec une compétition intraspécifique faible, des environnements plus chauds et un niveau de ressource trophique élevé. Ces conditions permettent alors une période de croissance plus importante et vont être particulièrement bénéfiques en fin de saison quand la compétition intraspécifique est forte (Volk 1989 ; Madsen & Shine 1998). De plus, la survie hivernale augmente avec la taille corporelle (Bauwens 1981 ; Olsson & Shine 1997).

Au sein de notre étude (A1), la survie des individus incubés à 23°C ou 29°C est influencée par une date de ponte précoce. Notre protocole expérimental (incubation des œufs d'une même ponte à différentes températures) a permis de distinguer, les effets maternels (à travers la phénologie notamment) des effets du traitement expérimental, sur le phénotype à la naissance et les trajectoires individuelles. En influençant la survie hivernale au sein de chacun des traitements d'incubation, nos résultats marquent l'importance d'une date d'engagement en reproduction précoce (indice de la qualité de la femelle). De plus, la survie globale est bien plus forte chez les individus incubés au chaud et souligne l'importance de la date d'éclosion.

1.3. Possibilités de réponses compensatoires

La plasticité phénotypique observée à la naissance peut être réversible et des mécanismes de compensation peuvent intervenir (O'Steen & Janzen 1999 ; Shine 2004 ; Stahlschmidt & DeNardo 2009). Parmi les mécanismes identifiés, la croissance compensatoire a été largement étudiée (Metcalf & Monaghan 2001). La croissance compensatoire intervient généralement après des carences nutritives mais une croissance accélérée peut également être observée en réponse à des indices environnementaux perçus par l'organisme. Dans cette étude correspondant à l'article A1, une croissance compensatoire sur le premier mois de vie est observée chez les individus développés dans les conditions froides. Des taux de croissance plus élevés liés à des dates de naissance tardives ont également été reportés chez d'autres taxons (Nicieza & Metcalfe 1997 ; Nylin & Gotthard 1998). Cependant, certains coûts sont associés à une croissance accélérée. Par exemple, Nylin & Gotthard (1998) ont manipulé expérimentalement la photopériode au moment de l'éclosion de chenilles simulant une date de naissance tardive. Ces chenilles présentent alors une croissance compensatoire suffisante pour atteindre une taille leur permettant de rentrer en pupaison avant l'hiver. Cependant, ces taux de croissance accrus augmentent leur risque de prédation (dû à une plus forte exposition) et les rendent moins résistantes au jeûne lors d'une restriction alimentaire (Gotthard 2000) révélant ainsi des coûts écologiques et physiologiques. Les lézards des murailles développés en conditions fraîches n'ont pas été en mesure de maintenir des taux de croissance élevés sur le long terme et ont été affectés par une période de croissance pré-hivernale réduite.

Notre étude a également permis de révéler un autre mécanisme de compensation. En effet, les individus ayant subi des conditions d'incubation froides présentent un comportement de défense plus marqué que les autres individus. Ceci est vrai à la fois si l'on considère le traitement de gravidité et le traitement d'incubation. Notre étude n'est pas la seule à évoquer un effet des conditions d'incubation sur le comportement des juvéniles (Burger 1989 ; Downes & Shine 1999 ; Webb *et al.* 2001). Néanmoins, nous avons montré que ces variations observées impactaient la survie hivernale des juvéniles. En effet, les individus développés en conditions fraîches présentent une survie bien plus faible (14.8 % vs. 73.6 %) mais qui est favorisée par un comportement de défense accru. L'influence des opportunités de thermorégulation sur le comportement de défense laisse penser à une « empreinte maternelle » qui pourrait par exemple se traduire par une composition hormonale différente dans le jaune des œufs comme cela a été montré dans de précédentes études (Mousseau & Fox 1998 ; Meylan & Clobert 2004, 2005). La femelle pourrait alors anticiper les conditions thermiques de l'environnement à la naissance et orienter un phénotype des jeunes mieux adapté à



ce contexte (Reed *et al.* 2010). Par ailleurs, l'impact des conditions d'incubation sur ce comportement suggère également une réponse embryonnaire pendant l'incubation (Du *et al.* 2010).

Ces réponses de compensation (croissance compensatoire et comportement de défense amplifié) contribuent à la survie des individus malgré l'impact très négatif d'une date d'éclosion tardive. En effet, des dates d'éclosion tardives rendent le temps de croissance disponible pour les juvéniles avant leur premier hivernage très court alors que la taille corporelle est un facteur proximal de la survie hivernale (Bauwens 1981 ; Olsson & Shine 1997). Cette augmentation du comportement de défense pourrait refléter une meilleure capacité des individus à trouver de la nourriture ou à être plus efficaces lors d'une compétition intraspécifique élevée et ainsi se traduire par une croissance précoce plus rapide.

2. Ontogénie des compromis et stratégie d'allocation

2.1. Changement ontogénique dans les priorités d'allocation et la phénologie de la reproduction

Les compromis d'allocation sont au cœur de la théorie des traits d'histoire de vie et une optimisation de la ressource énergétique est cruciale pour maximiser la valeur sélective des individus (Roff 1992 ; Stearns 1992). Chez les organismes à croissance indéterminée, la croissance ne stoppe pas à la maturité. La fécondité étant liée à taille, un changement ontogénique dans les stratégies d'allocation est attendu. La taille n'étant pas strictement reliée à l'âge, il peut être très difficile de distinguer l'effet de la taille de l'effet de l'âge sur l'investissement reproducteur. Ainsi, connaître l'âge des individus implique bien souvent des suivis démographiques particulièrement longs.

Notre étude, basée sur un suivi démographique initié en 2006, nous a permis d'étudier l'influence de l'âge et de la taille corporelle sur différents paramètres comme la croissance, l'effort reproducteur et l'état des réserves. De fortes variations ontogéniques dans les priorités d'allocation et la phénologie ont ainsi pu être révélées. La taille corporelle est un déterminant majeur de la fécondité chez les ectothermes et notamment chez cette espèce. Les jeunes femelles investissent prioritairement dans la croissance plutôt que dans la reproduction et présentent par conséquent des dates de pontes plus tardives que les femelles âgées. A l'inverse, les femelles âgées maximisent leur effort reproducteur et réalisent leur première ponte environ 24 jours avant les femelles d'un an. Cet



engagement reproducteur précoce favorise alors la production de pontes additionnelles et donc optimise la fécondité annuelle. Nos résultats montrent également un changement ontogénique de la condition corporelle avec des réserves corporelles qui augmentent avec l'âge. Ce résultat suggère un changement dans les priorités d'allocation permettant une optimisation de l'effort reproducteur. La croissance réduisant avec l'âge, l'énergie acquise en dehors des périodes de reproduction peut être stockée afin d'anticiper les futurs besoins énergétiques imposés par la reproduction. Ces réserves énergétiques pourraient être particulièrement bénéfiques pour couvrir les besoins énergétiques lorsque les conditions trophiques sont limitées ou lorsque les compromis comportementaux (thermorégulation vs. recherche alimentaire) sont les plus marqués.

L'article A1 montre l'importance d'une date de ponte et d'une date d'éclosion précoces. Nous fournissons ici un lien fonctionnel entre l'âge, la phénologie et le succès reproducteur. De fortes pressions de sélection devraient s'exprimer sur la phénologie de la reproduction. Néanmoins, la taille corporelle influence fortement la fécondité et une grande taille permet de maximiser l'effort reproducteur. Les différentes pressions de sélection sur la taille corporelle et la phénologie ont façonné des trajectoires ontogéniques qui maximisent le succès reproducteur au cours de la vie (Charnov *et al.* 2007).

2.2. Importance des réserves

Notre étude a mis en évidence des variations de condition corporelle et révèle ainsi une stratégie de reproduction reposant en partie sur une capitalisation des ressources. En effet, nous avons trouvé un lien entre la condition corporelle initiale (en période pré-reproduction) et l'investissement maternel (A2). Cette étude ne permet pas de dire avec certitude si ces réserves sont utilisées directement dans l'investissement reproducteur ou pour soutenir les différentes activités (de thermorégulation, de recherche alimentaire, sociales). En effet, les lézards des murailles sont des animaux particulièrement actifs et thermophiles dont les capacités de locomotion (horizontale comme verticale) sont importantes. Ce mode de vie implique de forts besoins énergétiques. Anticiper la constitution de réserves en dehors des périodes de reproduction permettrait non seulement d'améliorer l'effort reproducteur mais constituerait également un moyen pour compenser une indisponibilité temporaire des ressources trophiques ou pour soutenir les besoins énergétiques lors de périodes de thermorégulation. Ainsi, grâce à un découplage entre l'acquisition et l'allocation des ressources, les individus les plus âgés pourraient allouer un temps plus important à la thermorégulation et expliquer ainsi les différences obtenues dans les dates de pontes.

2.3. Part relative des stratégies d'allocation (« income » vs. « capital ») selon la condition corporelle initiale et la séquence de ponte

Classiquement, on distingue les espèces qui se reproduisent grâce à une accumulation de réserves corporelles (reproducteurs sur capital) et les espèces qui investissent l'énergie récemment acquise par l'alimentation (reproducteurs sur alimentation courante). En réalité, il existe un continuum entre ces deux stratégies et une même espèce peut les combiner afin de maximiser l'effort et le succès reproducteurs (Warner *et al.* 2008 ; Telemeco & Baird 2011). Chez les espèces à pontes multiples qui investissent une part importante d'énergie en un temps relativement court, des ajustements dans les stratégies d'allocation sont attendus. Par exemple, certains squamates s'appuient sur leurs réserves pour les pontes précoces mais dépendent de l'alimentation courante pour la production de pontes plus tardives (Shanbhag & Prasad 1992 ; Brown & Shine 2002). Warner et collaborateurs (2008) ont exploré le lien temporel entre l'acquisition de l'énergie et sa dépense chez un lézard agamidé à pontes multiples (*Amphibolurus muricatus*) et ont testé un changement des stratégies d'allocation au cours des pontes successives. Ceci a été rendu possible en manipulant de façon expérimentale le régime alimentaire des criquets consommés par les lézards. Les auteurs ont montré au cours de cette étude que les femelles combinaient à la fois l'utilisation de stocks d'énergie endogènes et de la nourriture récemment acquise. Néanmoins, ils n'ont pas mis en évidence de changement de stratégie entre les premières et secondes pontes. Nos résultats révélant une capitalisation des réserves corporelles avant l'engagement en reproduction, il est probable que les premières pontes soient majoritairement financées par les réserves corporelles et que l'alimentation courante finance les besoins énergétiques des secondes pontes.

3. Contraintes reproductrices et stratégie d'appariement

3.1. Variations hormonales

Les animaux font face à d'importantes fluctuations environnementales (biotiques ou abiotiques) au cours de l'année. De telles variations peuvent être suffisamment fortes pour infliger un stress aux organismes et affecter leur performance et valeur sélective. Des réponses physiologiques et comportementales sont donc attendues afin d'optimiser la survie. L'axe hypothalamo-hypophysaire-

surrénalien régule notamment les fonctions majeures telles que l'allocation des ressources et la réponse au stress. Suite à un stress, l'augmentation de la sécrétion de glucocorticoïdes va favoriser la survie de l'organisme en supprimant des processus non vitaux (système immunitaire, comportement de reproduction). La reproduction impose des besoins énergétiques importants pour la formation des œufs mais aussi les activités associées (thermorégulation, recherche alimentaire, soins aux jeunes). Si des taux très élevés d'hormones de stress (corticostérone par exemple) inhibent la reproduction, une augmentation des taux basaux pendant la reproduction favorise la mobilisation des réserves énergétiques (Johnson *et al.* 1992 ; Moore & Jessop 2003). Chez les ectothermes, la température environnementale influence la température corporelle des individus et l'ensemble des processus physiologiques (Huey & Stevenson 1979 ; Angilletta *et al.* 2002) y compris le développement embryonnaire (Deeming & Ferguson 1991 ; Andrews *et al.* 2000 ; Birchard 2004) dont la qualité dépend des conditions thermiques. En climat tempéré, les opportunités de thermorégulation peuvent être limitantes et cette saisonnalité des contraintes et des bénéfices de la thermorégulation peuvent moduler la réponse adrénocorticale.

Nos résultats (A5) soulignent une variation saisonnière des taux basaux de corticostérone avec des taux élevés chez les 2 sexes en début de reproduction et une diminution en période post-reproductrice. Chez les mâles, les taux les plus élevés ont été mesurés tôt dans la saison, peu de temps après l'émergence, lorsque les besoins thermiques sont forts pour assurer la maturation des spermatozoïdes. Les ressources trophiques étant limitées à cette période, l'énergie requise pour soutenir les épisodes de thermorégulation est puisée dans les réserves corporelles. Cette élévation des taux basaux hormonaux pourrait donc être expliquée par le jeûne alimentaire que subissent les mâles (Woodward *et al.* 1991; Pravosudov *et al.* 2001).

Les femelles présentent un taux basal de corticostérone plus élevé que les mâles lors de la période de reproduction. Ce résultat est amplifié lorsque l'on considère le statut reproducteur des femelles. En effets les femelles gravides ont des taux supérieurs aux femelles vitellogéniques et post-ponte. De nouveau, la vitellogénèse et la gravidité impliquent des besoins énergétiques et thermiques importants et la corticostérone permettrait une importante mobilisation des réserves corporelles (Meylan *et al.* 2003). Le volume important occupé par les œufs dans la cavité abdominale (Weiss 2001), susceptible de réduire les capacités de locomotion et d'alimentation, couplé à l'augmentation du temps passé en thermorégulation impliquent une balance énergétique négative.

Selon l'hypothèse de la «corticostérone - valeur sélective» (Bonier *et al.* 2009a, 2009b), une suppression de la sécrétion en glucocorticoïdes est attendue pendant la reproduction afin de maximiser le succès reproducteur. Cependant, les taux de corticostérone en réponse au stress étaient élevés et indépendants de la saison. Cette étude n'est pas la seule à évoquer une absence de

modulation adrénocorticale pendant la reproduction (Moore *et al.* 2001 ; Cree *et al.* 2003) et peut également dépendre de la longueur de la saison de reproduction (Wingfield *et al.* 1998 ; Moore *et al.* 2001 ; Wingfield & Romero 2001) afin d'optimiser des opportunités de reproduction limitées. Enfin, il doit être avantageux pour une espèce présentant une forte fécondité associée à la production de pontes multiples de conserver une réponse au stress pendant la reproduction afin de maximiser sa survie et assurer la réalisation de pontes futures.

L'ensemble de ces résultats permet de mieux comprendre les contraintes reproductrices qui existent à la fois chez les mâles et les femelles et révèle un compromis dans l'allocation du temps d'activité fortement limité par les conditions environnementales (thermorégulation vs. recherche alimentaire).

3.2. Variations dans le parasitisme

D'après la théorie des traits d'histoire de vie, les organismes doivent allouer une quantité d'énergie limitée dans différentes voies compétitrices (maintenance, croissance et reproduction) (compromis d'allocation, Williams 1966 ; Stearns 1992). La reproduction impose des besoins énergétiques forts qui laissent apparaître des contraintes et des coûts pour les individus. Un conflit entre l'investissement en reproduction et le maintien d'un système immunitaire efficace apparaît (Adamo *et al.* 2001 ; Ardia 2005 ; French *et al.* 2007) et peut ainsi influencer la prévalence des endoparasites et des ectoparasites (Wikel 1996 ; Brossard & Wikel 1997 ; Wijffels *et al.* 1999).

Les résultats de notre étude (A6) montrent un fort effet de la saisonnalité avec une probabilité de parasitisme nettement supérieure lors du pic de la période de reproduction (avril à juin). De nouveau, ce résultat coïncide avec la forte demande énergétique imposée par les activités liées à la reproduction (recherche alimentaire, thermorégulation) et reflète le compromis d'allocation imposé par la reproduction (Stearns 1992) sur les deux sexes. Parce que cette saisonnalité du parasitisme peut refléter une saisonnalité des ectoparasites, nous avons exploré les facteurs proximaux du parasitisme au sein de la période de reproduction.

Les mâles présentent toutefois une probabilité d'être parasité supérieure aux femelles. Ces variations sont attribuées aux effets de la physiologie reproductrice des mâles sur le comportement et le système immunitaire (Zuk & McKean 1996). En effet, la reproduction implique l'élévation des taux de testostérone et peut alors supprimer la fonction immunitaire (hypothèse du handicap d'immunocompétence) (Salvador *et al.* 1996, Olsson *et al.* 2000). Ces taux de testostérone élevés sont notamment associés à la dominance des individus et une plus forte territorialité.



Chez les femelles, la probabilité et l'intensité du parasitisme sont influencées par le statut reproducteur et augmentent lors de la phase de gravidité. Les femelles gravides augmentent leur temps passé en thermorégulation et il est fort probable qu'elles ne s'alimentent pas pendant cette période en raison de la place importante qu'occupent les œufs dans la cavité abdominale (Weiss 2001). Ainsi, une forte mobilisation des réserves a lieu (renforcé par des taux supérieurs de corticostérone) afin de soutenir les besoins énergétiques de la reproduction. Ces forts besoins énergétiques sont alors en opposition avec les coûts de maintien du système immunitaire (Sheldon & Verhulst 1996 ; Huyghe *et al.* 2010) et pourraient expliquer l'augmentation du parasitisme.

3.3. Stratégies d'appariement

La multipaternité est une stratégie de reproduction commune à de nombreuses espèces animales (Jennions & Petrie 2000 ; Richard *et al.* 2005 ; Eizaguirre *et al.* 2007 ; Whittingham & Dunn 2010). Cette stratégie impose à la fois des coûts et des bénéfices pour les femelles. Les bénéfices peuvent être directs (plus grande probabilité de fertilisation, investissement paternel plus important grâce à des soins parentaux, des offrandes nuptiales, Andersson 1994) ou indirects d'ordre génétique (augmentation de la diversité génétique des descendants ou de leur qualité, Yasui 1998 ; Zeh & Zeh 2001). Les coûts majeurs reposent sur la transmission de maladies ou bactéries (Thrall *et al.* 2000, White *et al.* 2011).

De précédentes études ont déjà reporté l'existence de la multipaternité chez le lézard des murailles sans toutefois étudier les déterminants proximaux de cette stratégie. Cette espèce présente une asynchronie sexuelle dans les dates d'émergence, avec une sortie des mâles environ un mois plus précoce que les femelles. La sélection a en effet favorisé des dates de reproduction précoces, permettant d'optimiser le succès reproducteur (Olsson & Shine 1997 ; Warner & Shine 2007 ; Uller & Olsson 2010). Cependant, en climat tempéré, les conditions thermiques sont particulièrement contraignantes et seuls les individus de bonne qualité sont capables de soutenir les besoins énergétiques imposés par la thermorégulation, les ressources trophiques étant limitantes. Nous avons ainsi montré une différence dans les dates de première ponte liée à l'âge des femelles. Les femelles les plus âgées sont également celles présentant des tailles de ponte plus importantes. Ainsi il est plus avantageux pour les mâles de se reproduire avec ces femelles-ci afin d'augmenter leur nombre de descendants. Nos résultats soulignent une différence phénologique dans les stratégies de reproduction avec les secondes pontes présentant un taux de polyandrie supérieur aux premières pontes. Les conditions thermiques et trophiques deviennent plus favorables avec

l'avancée de la saison de reproduction et une augmentation de la proportion de mâles mâtures devrait avoir lieu et ainsi expliquer l'augmentation du pourcentage de polyandrie.

Nos données (A3) révèlent également un lien entre la taille corporelle et la monoandrie et suggèrent que les grandes femelles sont capables de s'accoupler avec un nombre de mâles plus réduit, en étant probablement plus efficaces pour éviter les tentatives d'accouplements forcés des mâles. Par ailleurs, la polyandrie est légèrement associée à un bénéfice direct (meilleur succès d'éclosion). Enfin, au sein des premières pontes, les femelles âgées adoptent majoritairement une stratégie monoandre qui devrait reposer sur les différences de phénologie dans les dates de ponte (faible nombre de mâles mâtures à cette période). Des études complémentaires sont requises afin notamment d'explorer en détails les caractéristiques des mâles (date d'émergence, condition corporelle, âge) qui parviennent à se reproduire.

4. Bilan

4.1. Déterminants de la survie : influence de la saison, de l'âge et de l'investissement reproducteur

La survie et la reproduction sont des éléments centraux de l'histoire de vie des organismes et représentent les composants principaux de la valeur sélective des individus (Stearns 1992). De précédentes études ont révélé des variations saisonnières de la survie des individus (Galán 1999 ; Schaub *et al.* 2001). Par exemple, les organismes endothermes qui hibernent présentent fréquemment de taux de mortalité élevés pendant l'hiver en raison notamment d'un manque de réserves corporelles (Lyman *et al.* 1982). Chez les ectothermes, le métabolisme dépendant directement de la température, les besoins énergétiques requis pendant cette phase de latence sont en revanche très réduits. Ainsi, les taux de survie en période hivernale sont relativement élevés chez les individus adultes (Bauwens 1981 ; Schaub *et al.* 2001). Cependant, comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, certains individus peuvent thermoréguler dans des conditions suboptimales et sont donc particulièrement exposés à des risques de prédation pour au moins deux raisons. Premièrement, une thermorégulation à une température suboptimale réduit les performances locomotrices des individus et donc leur capacité à échapper à un prédateur. Deuxièmement, seule une minorité d'individus est capable de soutenir les besoins énergétiques imposés par ces épisodes

de thermorégulation. Ainsi, le faible nombre d'individus susceptibles d'être prédatés augmente le risque de prédation.

La période de reproduction est associée à une augmentation du temps passé en thermorégulation et du temps en déplacement (pour la recherche de nourriture, de partenaires sexuels, de site de ponte) (Bonnet *et al.* 1999). De telles variations dans les niveaux d'activité augmentent les probabilités de rencontrer un prédateur et donc potentiellement le taux de mortalité. Chez les lézards extrêmement actifs et produisant des pontes multiples, l'augmentation de ce risque devrait être considérable.

Enfin, chez les juvéniles, la date de naissance est un paramètre crucial influençant la survie (Warner & Shine 2007 ; Uller & Olsson 2010 ; A1). Une date d'éclosion précoce coïncide avec des environnements thermiques plus favorables et une compétition intraspécifique plus faible ce qui affecte le temps d'activité et la croissance.

4.2. Importance des trajectoires individuelles

La majorité des modèles de dynamique de populations assume que les individus d'une même population répondent de façon homogène (Le Galliard *et al.* 2010 ; González-Suárez *et al.* 2011). Pourtant, de nombreuses variations interindividuelles existent et peuvent influencer les traits démographiques de la population (Benton *et al.* 2006). Les fluctuations des paramètres biotiques et abiotiques peuvent représenter d'importantes sources de variations individuelles et ainsi orienter les trajectoires ontogéniques et les performances des individus. Les conditions de développement précoces sont notamment des déterminants majeurs des variations dans les traits d'histoire de vie des individus (Gaillard *et al.* 1997 ; Lindström 1999). De telles variations peuvent conduire à des effets cohortes (Albon *et al.* 1987 ; Forchhammer *et al.* 2001 ; Reid *et al.* 2003 ; Descamps *et al.* 2008 ; Le Galliard *et al.* 2010). Deux catégories d'effets cohortes peuvent être distinguées : les effets cohortes numériques (différences de survie juvénile et de croissance) et les effets cohortes qualité retardée (performances reproductrices affectées) (Gaillard *et al.* 2003 ; Le Galliard *et al.* 2010).

Chez les squamates, les conditions climatiques (températures et précipitations) sont particulièrement importantes pour les processus physiologiques et notamment la reproduction et peuvent donc représenter des déterminants majeurs des variations de cohortes (Le Galliard *et al.* 2010). De plus, des variations dans la disponibilité en nourriture ou les dates de ponte peuvent également être d'importantes sources d'hétérogénéité (Le Galliard *et al.* 2010 ; González-Suárez *et al.* 2011). Nos différents résultats obtenus sur les variations ontogéniques dans le compromis

d'allocation, dans les réserves corporelles, l'influence de l'âge sur l'investissement reproducteur et les dates de ponte, ainsi que la mise en place de réponses compensatoires, montrent l'importance majeure de prendre en considération ces variations individuelles. De plus, le lézard des murailles est une espèce à pontes annuelles multiples qui se reproduit sur une période relativement longue (avril à juillet) et au sein de laquelle les fluctuations climatiques intra annuelles peuvent être beaucoup plus prononcées que les variations inter annuelles. Ainsi, les variations de cohortes entre les différentes pontes d'une même année pourraient être particulièrement conséquentes.

4.3. Limites dans l'exploration ontogénique

Le suivi démographique de la population initié en 2006 nous a permis d'explorer les changements ontogéniques précoces, intervenant globalement au cours des 4 premières années de vie des individus. En revanche, ce suivi est trop récent pour explorer de possibles effets du vieillissement sur les performances des individus. La sénescence, qui correspond à un déclin de la valeur sélective des individus avec l'âge a été reportée chez une diversité de taxons (Lecomte *et al.* 2010 ; Massot *et al.* 2011). Elle peut être expliquée par 3 théories non mutuellement exclusives. Premièrement, la théorie de l'accumulation de mutations délétères prédit que les mutations s'accumulent irrémédiablement dans le génome et sont susceptibles d'engendrer le déclin du succès reproducteur et la survie des individus avec l'âge (Haldane 1941 ; Medawar 1946 ; Medawar 1952). Dérivée de la théorie précédente, la théorie de la pléiotropie antagoniste suggère l'existence de gènes pléiotropiques favorisant la reproduction ou la survie dans la première partie de la vie, mais qui auraient des effets négatifs tardivement (Williams 1957). Enfin, la théorie du soma jetable est basée sur la place centrale que prennent les compromis d'allocation de l'énergie dans l'évolution des traits d'histoire de vie (Stearns 1992) et insiste sur le fait qu'un organisme ne peut pas à la fois investir à un niveau optimal dans la réparation de son organisme (maintenance somatique) et dans la reproduction (Kirkwood 1977).

Les effets du vieillissement doivent être adressés dans des études intégratives mesurant de multiples traits physiologiques (Lecomte *et al.* 2010 ; Massot *et al.* 2011). Ainsi, la poursuite de ce suivi démographique et la mesure de différents paramètres tels que l'effort reproducteur, le métabolisme, les taux hormonaux ou la réponse immunitaire constitueraient des éléments robustes pour explorer en détails des éventuels patrons de vieillissement chez les squamates (Robert & Bronikowski 2010 ; Massot *et al.* 2011).

5. Perspectives

5.1 La queue comme support énergétique ?

Suite aux résultats obtenus de l'article A2, nous avons exploré plus précisément les capacités de stockage des femelles. Chez les lézards, la section caudale peut constituer une zone de stockage significative (Doughty & Shine 1998 ; Chapple & Swain 2002 ; Chapple *et al.* 2002 ; Bateman & Fleming 2009) . Il s'agit d'une composante importante qui peut fournir une estimation de la condition corporelle indépendante de la masse et de la taille de l'individu. A partir d'images individuelles, il a été possible d'estimer les caractéristiques caudales (longueur, volume) des individus. Cette analyse originale apporte des informations précieuses. Tout d'abord, nous détectons des variations saisonnières dans les volumes caudaux (ajustés par la SVL et la longueur de queue). Les volumes les plus élevés sont observés au printemps et à l'automne (pré-reproduction) alors qu'une mobilisation significative existe pendant le printemps (phase de production des œufs) (Fig. 37).

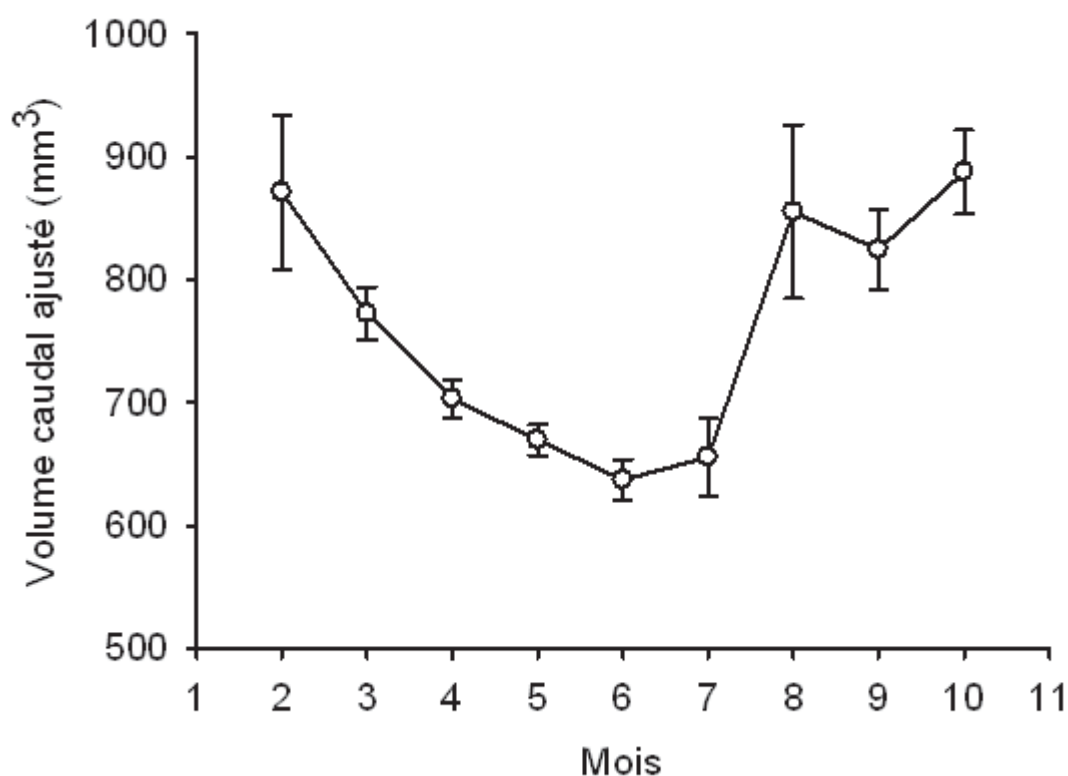


Figure 37 : Variations du volume caudal au cours de l'année chez les femelles adultes.

L'influence du statut reproducteur confirme ces observations. Les femelles non-reproductrices présentent des réserves caudales supérieures. Ces réserves se réduisent en phase de gravidité (phase de mobilisation) et sont considérablement diminuées après la ponte. On observe un effet des pontes successives (1 et 2) sur la condition caudale, ce qui souligne des contraintes énergétiques additives (Fig. 38). Nous détectons que la mobilisation caudale n'est pas homogène mais se manifeste principalement dans le tiers le plus proche du cloaque. L'étude de l'influence de l'âge démontre des réserves caudales plus élevées chez les individus âgés.

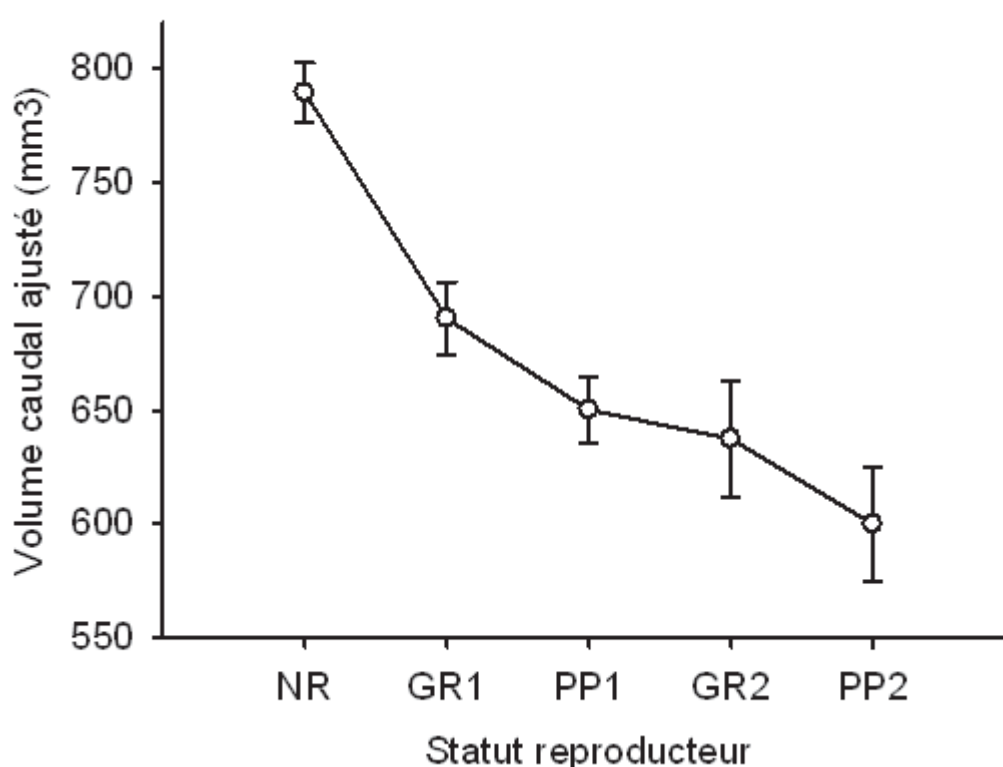


Figure 38 : Variations du volume caudal au cours des épisodes de pontes. NR : non reproductrice, GR : gravidité, PP : post-ponte.

En outre, la mobilisation caudale en phase de gravidité est plus importante chez les individus âgés (3 et 4 ans) en comparaison avec les femelles de 1 et 2 ans (Fig. 39). Nos travaux révèlent l'existence d'un changement ontogénique dans les stratégies d'allocation. Alors que les jeunes femelles se baseraient sur l'alimentation courante pour soutenir les besoins concurrentiels de reproduction et de croissance, les femelles âgées accumuleraient des réserves corporelles (notamment caudales) significatives et largement mobilisées pour la reproduction. Ces différences

offrent un cadre fonctionnel robuste pour comprendre les différences de phénologie et d'effort reproducteur.

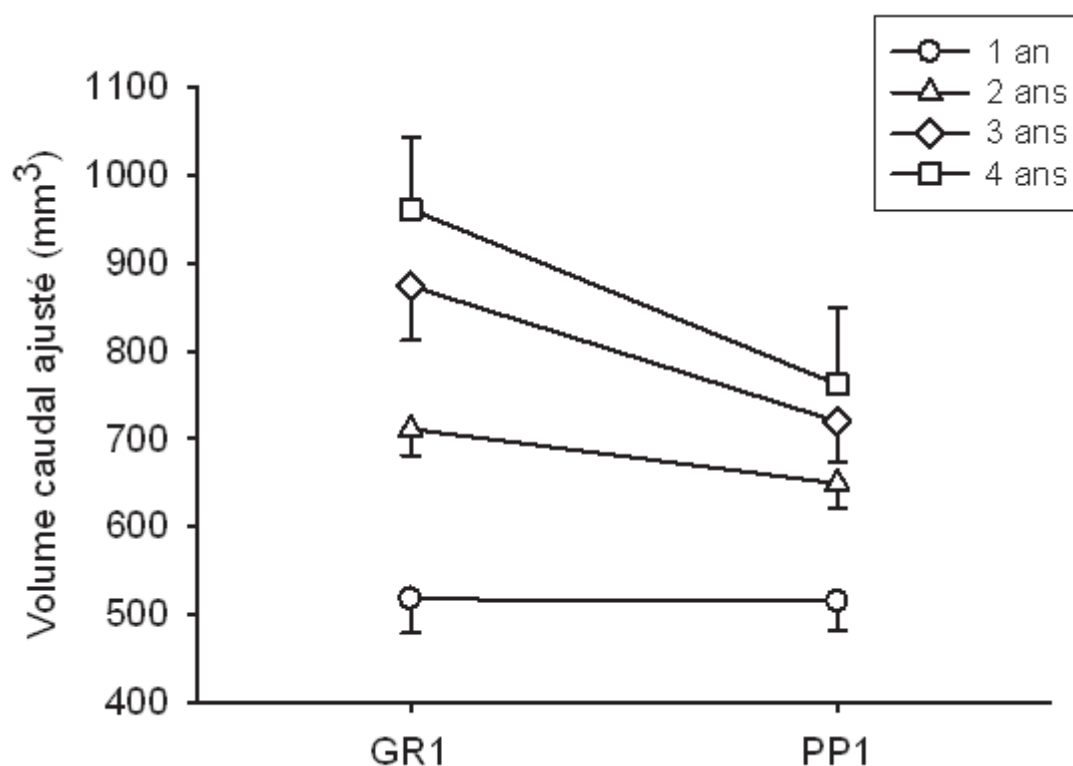


Figure 39 : Influence de l'âge sur la perte des réserves caudales lors de la première ponte. GR : gravid, PP : post-ponte.

Dans la présente étude, nous avons mis en évidence une diminution des réserves caudales entre le premier et le deuxième évènement de reproduction. Il serait donc intéressant d'explorer la part relative de chacune des deux stratégies de reproduction (« capital » vs. « income ») des femelles en fonction de la séquence de ponte. Nos prédictions sont que les premières pontes devraient davantage être soutenues par les réserves corporelles afin d'optimiser la phénologie de la reproduction et que les ressources énergétiques des secondes pontes reposent en majorité sur l'alimentation courante. De plus, les femelles les plus âgées, qui présentent également un effort reproducteur plus important, ne compromettent pas leur condition corporelle après la ponte et présentent même des réserves caudales supérieures aux jeunes femelles. Ainsi, comme les priorités d'allocation varient en fonction de l'âge (A2), nous prédisons également un changement ontogénique

dans la part relative de chacune de ces stratégies de reproduction avec les pontes des jeunes femelles soutenues principalement par l'alimentation courante.

5.2. Influence des réserves sur la date d'émergence et la thermorégulation

Nous allons prochainement explorer la dynamique des réserves caudales chez les mâles. Il est très probable que nous obtenions des résultats similaires à ceux des femelles, c'est-à-dire une variation ontogénique et saisonnière dans le stockage de réserves caudales. Le lézard des murailles présente une asynchronie sexuelle dans les dates d'émergence avec des sorties plus précoces d'environ 1 mois en faveur des mâles. Nous avons également observé des épisodes de thermorégulation lors de belles journées ensoleillées de décembre ou janvier par des mâles adultes de condition corporelle élevée. Notre hypothèse principale est que la condition corporelle et l'état des réserves caudales doivent être des prédicteurs robustes de la date d'émergence. En effet, ces réserves anticipées peuvent permettre de soutenir énergétiquement les phases de thermorégulation. Nous prévoyons d'explorer les déterminants de la date d'émergence (âge, condition corporelle) et l'intensité de thermorégulation. Les tapis de carrière (Flexbelt) grâce à leurs propriétés thermiques supérieures pourraient être de bons outils pour adresser cette question.

Les individus présentant une meilleure condition corporelle devraient alors favoriser la thermorégulation afin d'accélérer la spermiogénèse et donc leur calendrier de reproduction, un paramètre majeur de la valeur sélective des individus. Nos prédictions sont que les individus de bonne condition corporelle devraient privilégier la thermorégulation par rapport à la recherche alimentaire. A l'inverse, les individus de faible condition corporelle devraient ajuster leur temps passé en thermorégulation en fonction de la disponibilité des ressources alimentaires.



Références bibliographiques





- Abdelkrim J., Robertson B.C., Stanton J.A.L., Gemmell N.J., 2009.** Fast, cost-effective development of species-specific microsatellite markers by genomic sequencing. *Biotechniques* **46** : 185-191.
- Abrams P.A., 1991.** The fitness costs of senescence - the evolutionary importance of events in early adult life. *Evolutionary Ecology* **5** : 343-360.
- 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.
- Agarwala B.K., 2007.** Phenotypic plasticity in aphids (Homoptera: Insecta): components of variation and causative factors. *Current Science* **93** : 308-313.
- Albon S.D., Clutton-Brock T.H., Guinness F.E., 1987.** Early development and population dynamics in red deer. 2: Density-dependent effects and cohort variation. *Journal of Animal Ecology* **56** : 69-81.
- Amo L., Lopez P., Martin J., 2003.** Risk level and thermal cost affect the choice strategy and refuge use in the wall lizard *Podarcis muralis*. *Copeia* **2003**: 899-905.
- Amo L., Lopez P., Martin J., 2004.** Multiple predators and conflicting refuge use in the wall lizard, *Podarcis muralis*. *Annales Zoologici Fennici* **41** : 671-679.
- Andersson M., 1994.** *Sexual Selection*. Princeton: Princeton University Press.
- Andrews R.M., 2008.** Effects of incubation temperature on growth and performance of the veiled chameleon (*Chamaeleo calyptratus*). *Journal of Experimental Zoology A* **309** : 435-446.
- Andrews R.M., Mathies T., Warner D., 2000.** Effect of incubation temperature on morphology, growth, and survival of juvenile *Sceloporus undulatus*. *Herpetological Monographs* **14** : 420-431.
- Angelier F., Wingfield J.C., Weimerskirch H., Chastel O., 2010.** Hormonal correlates of individual quality in a long-lived bird: a test of the corticosterone-fitness hypothesis. *Biology Letters* **6** : 846-846.
- Angilletta M.J.J., 2009.** *Thermal acclimation. A theoretical and empirical synthesis*. New York: Oxford University Press Inc.
- Angilletta M.J.J., Niewiarowski P.H., Navas C.A., 2002.** The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* **27** : 249-268.



- Ar A., Belinsky A., Dmi'el R., Ackerman R.A., 2004.** Energy provision and utilisation. In: Deeming D.C., ed. *Reptilian incubation: environment, evolution and behaviour*. Nottingham: Nottingham University Press, 143–185.
- Ardia D.R., 2005.** Individual quality mediates trade-offs between reproductive effort and immune function in tree swallows. *Journal of Animal Ecology* **74** : 517–524.
- Ardia D.R., Clotfelter E.D., 2006.** Individual quality and age affect responses to an energetic constraint in a cavity-nesting bird. *Behavioral Ecology* **18** : 259–266.
- Arendt J.D., 1997.** Adaptive intrinsic growth rates : an integration across taxa. *The Quarterly Review of Biology* **72** : 149–177.
- Aubret F., Michniewicz R.J., Shine R., 2011.** Correlated geographic variation in predation risk and antipredator behaviour within a wide-ranging snake species (*Notechis scutatus*, Elapidae). *Austral Ecology* **36** : 446–452.
- Avery R.A., 1975.** Clutch size and reproductive effort in the lizard *Lacerta vivipara* Jacquin. *Oecologia* **19** : 165–170.
- Avery R.A., Basker A., Corti C., 1993.** “Scan” behaviour in *Podarcis muralis*: the use of vantage points by an actively foraging lizard. *Amphibia-Reptilia* **14** : 247–259.
- Ayers D.Y., Shine R., 1997.** Thermal influences on foraging ability: body size, posture and cooling rate of an ambush predator, the python *Morelia spilota*. *Functional Ecology* **11** : 342–347.
- Badenhausser I., Amouroux P., Lerin J., Bretagnolle V., 2009.** Acridid (Orthoptera: Acrididae) abundance in Western European Grasslands: sampling methodology and temporal fluctuations. *Journal of Applied Entomology* **133** : 720–73.
- Balm P.H.M., 1999.** *Stress physiology in animals*. Sheffield: Sheffield Academic Press.
- Barbault R., Mou Y.P., 1988.** Population dynamics of the common wall lizard, *Podarcis muralis*, in southwestern France. *Herpetologica* **44** : 38–47.
- Barker D.J., Osmond C., 1986.** Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *The Lancet* **327** : 1077–1081.
- Barnard S.M., Durden L.A., 2000.** *A veterinary guide to the parasites of reptiles. Vol. 2. Arthropods (excluding mites)*. Malabar: Krieger.



- Baron J.P., Le Galliard J.F., Tully T., Ferriere R., 2010.** Cohort variation in offspring growth and survival: prenatal and postnatal factors in a late-maturing viviparous snake. *Journal of Animal Ecology* **79** : 640–649.
- Bauwens D., 1981.** Survivorship during hibernation of the European common lizard, *Lacerta vivipara*. *Copeia* **1981** : 741–744.
- Bauwens D., 1999.** Life-history variation in lacertid lizards. *Natura Croatica* **8** : 239–252.
- Bauwens D., Hertz P.E., Castilla A.M., 1996.** Thermoregulation in a lacertid lizard: The relative contributions of distinct behavioral mechanisms. *Ecology* **77** : 1818–1830.
- Belliure J., Clobert J., 2004.** Behavioral sensitivity to corticosterone in juveniles of the wall lizard, *Podarcis muralis*. *Physiology and Behavior* **81** : 121–127.
- Bennett A.F., 1980.** The thermal dependence of lizard behaviour. *Animal Behaviour* **28** : 752–762.
- Benton T.G., Plaistow S.J., Coulson T.N., 2006.** Complex population dynamics and complex causation: devils, details and demography. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences* **273** : 1173–1181.
- Berger S., Martin L.B., Wikelski M., Romero L.M., Kalko E.K.V., Vitousek M.N., Rodl T., 2005.** Corticosterone suppresses immune activity in territorial Galapagos marine iguanas during reproduction. *Hormones and Behavior* **47** : 419–429.
- Beuchat C.A., Chaplin S.B., Morton M.L., 1979.** Ambient temperature and the daily energetics of two species of hummingbirds, *Calypte anna* and *Selasphorus rufus*. *Physiological Zoology* **52** : 280–295.
- Beyer E.C., Spotila J.R., 1994.** Seasonal variation in metabolic rates and maintenance costs of the eastern fence lizard, *Sceloporus undulatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **109** : 1039–1047.
- Biaggini M., Berti R., Corti C., 2009.** Different habitats, different pressure? Analysis of escape behaviour and ectoparasite load in *Podarcis sicula* (Lacertidae) populations in different agricultural habitats. *Amphibia-Reptilia* **30** : 453–461.
- Birchard G.F., 2004.** Effects of incubation temperature. In: Deeming D.C., ed. *Reptilian incubation: environment, evolution and behaviour*. Nottingham: Nottingham University Press, 103–123.
- Bishop J.A., Armbruster W.S., 1999.** Thermoregulatory abilities of Alaskan bees: effects of size, phylogeny and ecology. *Functional Ecology* **13** : 711–724.



- Blomberg S., Shine R., 1996.** Reptiles. In: Sutherland W.J., ed. *Ecological census techniques: a handbook*. Cambridge: Cambridge University Press, 218–226.
- Blouin-Demers G., Nadeau P., 2005.** The cost–benefit model of thermoregulation does not predict lizard thermoregulatory behavior. *Ecology* **86** : 560–566.
- Blouin-Demers G., Weatherhead P.J., 2001.** Habitat use by black rat snakes (*Elaphe obsoleta obsoleta*) in fragmented forests. *Ecology* **82** : 2882–2896.
- Blouin-Demers G., Kissner K.J., Weatherhead P.J., 2000.** Plasticity in preferred body temperature of young snakes in response to temperature during development. *Copeia* **2000** : 841–845.
- Blouin-Demers G., Weatherhead P.J., Row J.R., 2004.** Phenotypic consequences of nest-site selection in black rat snakes (*Elaphe obsoleta*). *Canadian Journal of Zoology* **82** : 449–456.
- Blumberg M.S., Lewis S.J., Sokoloff G., 2002.** Incubation temperature modulates post-hatching thermoregulatory behavior in the Madagascar ground gecko, *Paroedura pictus*. *Journal of Experimental Biology* **205** : 2777–2784.
- Bonier F., Martin P.R., Moore I.T., Wingfield, J.C., 2009a.** Do baseline glucocorticoids predict fitness? *Trends in Ecology and Evolution* **24** : 634–642.
- Bonier F., Moore I.T., Martin P.R., Robertson R.J., 2009b.** The relationship between fitness and baseline glucocorticoids in a passerine bird. *General and Comparative Endocrinology* **163** : 208–213.
- Bonneaud C., Mazuc J., Chastel O., Westerdahl H., Sorci G., 2004.** Terminal investment induced by immune challenge and fitness traits associated with major histocompatibility complex in the house sparrow. *Evolution* **58** : 2823–2830.
- Bonnet X., Bradshaw D., Shine R., 1998.** Capital versus income breeding: an ectothermic perspective. *Oikos* **83** : 333–342.
- Bonnet X., Naulleau G., Shine R., 1999.** The dangers of leaving home: dispersal and mortality in snakes. *Biology Conservation* **89** : 39–50.
- Bonnet X., Naulleau G., Shine R., Lourdais O., 2001.** Short-term versus long-term effects of food intake on reproductive output in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos* **92** : 297–308.
- Bonnet X., Aubret F., Lourdais O., Ladyman M., Bradshaw S.D., Maumelat S., 2005.** Do ‘quiet’ places make animals placid? Island versus mainland Tiger snakes. *Ethology* **111** : 573–592.



- Bradshaw D., 2007.** Environmental endocrinology. *General and Comparative Endocrinology* **152** : 125–141.
- Braña F., 1993.** Shifts in body temperature and escape behaviour of female *Podarcis muralis* during pregnancy. *Oikos* **66** : 216–222.
- Braña F., Ji X., 2000.** Influence of incubation temperature on morphology, locomotor performance, and early growth of hatchling wall lizards (*Podarcis muralis*). *Journal of Experimental Zoology* **286** : 422–433.
- Braña F., Ji X., 2007.** The selective basis for increased egg retention: early incubation temperature determines hatchling phenotype in wall lizards (*Podarcis muralis*). *Biological Journal of the Linnean Society* **92** : 441–447.
- Braña F., Bea A., Arrayago M.J., 1991.** Egg retention in lacertid lizards - relationships with reproductive ecology and the evolution of viviparity. *Herpetologica* **47** : 218–226.
- Breuner C.W., Patterson S.H., Hahn T.P., 2008.** In search of relationships between the acute adrenocortical response and fitness. *General and Comparative Endocrinology* **157** : 288–295.
- Brommer J.E., Pietiainen H., Kolunen H., 2003.** Natural selection on individual clutch size-laying date trends in the Ural owl. *Evolutionary Ecology Research* **5** : 229–237.
- Bronson F.H., 1989.** **Mammalian reproductive Biology.** Chicago University Press, Chicago.
- Brossard M., Wikel S.K., 1997.** Immunology of interactions between ticks and hosts. *Medical and Veterinary Entomology* **11** : 270–276.
- Brown G., Shine R., 2002.** Reproductive ecology of a tropical natricine snake, *Tropidonophis mairii* (Colubridae). *Journal of Zoology (London)* **258** : 63–72.
- Brown J.H., Gillooly J.F., Allen A.P., Savage M., West G.B., 2004.** Toward a metabolic theory of Ecology. *Ecology* **85** : 1771–1789.
- Brown S.G., Kwan S., Shero S., 1995.** The parasitic theory of sexual reproduction: parasitism in unisexual and sexual geckos. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences* **260** : 317–320.
- Buckley L.B., Rodda G.H., Jetz W., 2008.** Thermal and energetic constraints on ectotherm abundance: a global test using lizards. *Ecology* **89** : 48–55.
- Bull J.J., 1980.** Sex determination in reptiles. *Quarterly Review Biology* **55** : 3–21.



- Burger J., 1989.** Incubation temperature as long-term effects on behaviour of young Pine snakes (*Pituophis melanoleucus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **24** : 201–207.
- Burger J., 1998.** Effects of incubation temperature on hatchling pine snakes: implications for survival. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **43** : 11–18.
- Cabezas S., Blas J., Marchant T.A, Moreno S., 2007.** Physiological stress levels predict survival probabilities in wild rabbits. *Hormones and Behavior* **51** : 313–320.
- Cadby C.D., While G.M., Hobday A.J., Uller T., Wapstra E., 2010.** Multi-scale approach to understanding climate effects on offspring size at birth and date of birth in a reptile. *Integrative Zoology* **5** : 164–175.
- Calsbeek B., Hasselquist D., Clobert J., 2010.** Multivariate phenotypes and the potential for alternative phenotypic optima in wall lizard (*Podarcis muralis*) ventral colour morphs. *Journal of Evolutionary Biology* **23** : 1138–1147.
- Calsbeek R., Bonneaud C., Prabhu S., Manoukis N., Smith T.B., 2007.** Multiple paternity and sperm storage lead to increased genetic diversity in Anolis lizards. *Evolutionary Ecology Research* **9** : 495–503.
- Canoine V., Hayden T.J., Rowe K., Goymann W., 2002.** The stress response of European stonechats depends on the type of stressor. *Behaviour* **139** : 1303–1311.
- Casher L.E., Lane R.S., Barrett R.H., Eisen L., 2002.** Relative importance of lizards and mammals as hosts for ixodid ticks in northern California. *Experimental and Applied Acarology* **26** : 127–143.
- Castonguay M., Rollet C., Frechet A., Gagnon P., Gilbert D., Brethes J.C., 1999.** Distribution changes of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) in the northern Gulf of St Lawrence in relation to an oceanic cooling. *ICES Journal of Marine Science* **56** : 333–344.
- Charland M.B., Gregory P.T., 1990.** The influence of female reproductive status on thermoregulation in a viviparous snake, *Crotalus viridis*. *Copeia* **1990** : 1059–1068.
- Charnov E.L., Warne R., Moses M., 2007.** Lifetime reproductive effort. *The American Naturalist* **170** : 129–142.
- Christian K.A., Bedford G.S., 1995.** Physiological consequences of filarial parasites in the frillneck lizard, *Chlamydosaurus kingii*, in northern Australia. *Canadian Journal of Zoology* **73** : 2302–2306.



- Cichon M., 1997.** Evolution of longevity through optimal resource allocation. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences* **264** : 1383–1388.
- Civantos E., 2000.** Home-range ecology, aggressive behaviour, and survival in juvenile lizards, *Psammodromus algirus*. *Canadian Journal of Zoology* **78** : 1681–1685.
- Civantos E., Salvador A., Veiga J.P., 1999.** Body size and microhabitat affect winter survival of hatchling *Psammodromus algirus* lizards. *Copeia* **1999** : 1112–1117.
- Clark M.M., Galef B.G.J., 1995.** Prenatal influences on reproductive life history strategies. *Trends in Ecology and Evolution* **10** : 151–153.
- Clutton-Brock T.H., 1984.** Reproductive effort and terminal investment in iteroparous animals. *American Naturalist* **123** : 212–229.
- Coddington E.J., Cree A., 1995.** Effect of acute captivity stress on plasma concentrations of corticosterone and sex steroids in female whistling frogs, *Litoria ewingi*. *General and Comparative Endocrinology* **100** : 33–38.
- Cohen D., 1971.** Maximizing final yield when growth is limited by time or by limiting resources. *Journal of Theoretical Biology* **33** : 299–307.
- Cole L.C., 1954.** The population consequences of life history phenomenon. *Quarterly Review of Biology* **29** : 103–37.
- Congdon J.D., Dunham A.E., Tinkle D.W., 1982.** Energy budgets and life histories of reptiles. In: Gans C., Pough F.H., eds. *Biology of the Reptilia*. New York: Academic Press, 155–199.
- Cooper W.E., Vitt L.J.J., Hedges R., Huey R.B., 1990.** Locomotor impairment and defense in gravid lizards (*Eumeces laticeps*): behavioral shift in activity may offset costs of reproduction in an active forager. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **27** : 153–157.
- Costa F.B., Alves F.R., Costa A.P., Barros A.C.E., Guerra P.A., Sousa A.L., Oliveira A.S., 2009.** Ultrasonographic and radiographic determination of egg development of juraras (*Kinosternon scorpioides*) in captivity. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* **29** : 841–846.
- Cote J., Clobert J., Meylan S., Fitze P.S., 2006.** Experimental enhancement of corticosterone levels positively affects subsequent male survival. *Hormones and Behavior* **49** : 320–327.
- Cote J., Clobert J., Montes Poloni L., Haussy C., Meylan S., 2010.** Food deprivation modifies corticosterone-dependent behavioural shifts in the common lizard. *General and Comparative Endocrinology* **166** : 142–151.



- Cree A., Tyrrell C.L., Preest M.R., Thorburn D., Guillelte L.J.J., 2003.** Protecting embryos from stress: corticosterone effects and the corticosterone response to capture and confinement during pregnancy in a live-bearing lizard (*Hoplodactylus maculatus*). *General and Comparative Endocrinology* **134** : 316–329.
- Cricks H.Q.P., Sparks T.H., 1999.** Climate change related to egg-laying trends. *Nature* **399** : 423–424.
- Cuadrado M., Loman J., 1999.** The effects of age and size on reproductive timing in females *Chamaeleo chamaeleon*. *Journal of Herpetology* **33** : 6–11.
- Cyr N.E., Romero L.M., 2007.** Chronic stress in free-living European starlings reduces corticosterone concentrations and reproductive success. *General and Comparative Endocrinology* **151** : 82–89.
- Darwin C., 1859.** *On the origin of species by means of natural selection or the preservation favoured races in struggle for life*. London: John Murray.
- Dauphin-Villemant C., Xavier F., 1986.** Adrenal activity in the female *Lacerta vivipara* Jacquin: possible involvement in the success of gestation. In: Assenmacher I., Boissin J., eds. *Endocrine Regulation as Adaptive Mechanisms to the Environment*. Paris: CNRS, 241–250.
- Dauphin-Villemant C., Xavier F., 1987.** Nychthemeral variations of plasma corticosteroids in captive female *Lacerta vivipara* Jacquin: influence of stress and reproductive state. *General and Comparative Endocrinology* **67** : 292–302.
- Daut E.F., Andrews R.M., 1993.** The effect of pregnancy on thermoregulatory behavior of the viviparous lizard *Chalcides ocellatus*. *Journal of Herpetology* **27** : 6–13.
- Deeming D.C., Ferguson M.W.J., 1991.** Physiological effects of incubation temperature on embryonic development in reptiles and birds. In: Deeming D.C., Ferguson M.W.J., eds. *Egg incubation: its effects on embryonic development in birds and reptiles*. Cambridge: Cambridge University Press, 147–171.
- DeNardo D.F., 1996.** Reproductive biology. In: Mader D.R., ed. *Reptile Medicine and Surgery*. Philadelphia: W. B. Saunders, 212–223.
- Descamps S., Boutin S., Berteaux D., Gaillard J.M., 2007.** Female red squirrels fit Williams' hypothesis of increasing reproductive effort with increasing age. *Journal of Animal Ecology* **76** : 1192–1201.
- Descamps S., Boutin S., Berteaux D., McAdam A.G., Gaillard J.M., 2008.** Cohort effects in red squirrels: the influence of density, food abundance and temperature on future survival and reproductive success. *Journal of Animal Ecology* **77** : 305–314.



- Dorcas M.E., Hopkins W.A., Roe J.H., 2004.** Effects of body mass and temperature on standard metabolic rate in the eastern diamondback rattlesnake (*Crotalus adamanteus*). *Copeia* **2004** : 145–151.
- Doughty P., Shine R., 1997.** Detecting life history trade-offs: measuring energy stores in “capital” breeders reveals costs of reproduction. *Oecologia* **110** : 508–513.
- Downes S.J., Shine R., 1999.** Do incubation-induced changes in a lizard’s phenotype influence its vulnerability to predators? *Oecologia* **120** 9–18.
- Du W.G., Ji X., 2003.** The effects of incubation thermal environments on size, locomotor performance and early growth of hatchling soft-shelled turtles, *Pelodiscus sinensis*. *Journal of Thermal Biology* **28** : 279–286.
- Du W.G., Ji X., Shine R., 2005.** Does body volume constrain reproductive output in lizards? *Biology Letters* **1** : 98–100.
- Du W.G., Lu Y.W., Shen J.Y., 2005.** The influence of maternal thermal environments on reproductive traits and hatchling traits in a Lacertid lizard, *Takydromus septentrionalis*. *Journal of Thermal Biology* **30** : 153–161.
- Du W.G., Ye H., Zhao B., Warner D.A., Shine R., 2010.** Thermal acclimation of heart rates in reptilian embryos. *PLoS ONE* **5** : e15308.
- Dubois Y., Blouin-Demers G., Shipley B., Thomas D. 2009.** Thermoregulation and habitat selection in wood turtles *Glyptemys insculpta*: chasing the sun slowly. *Journal of Animal Ecology* **78** : 1023–1032.
- Dufaure J.P., Hubert J., 1961.** Table de développement du lizard vivipare : *Lacerta (Zootoca) vivipara*. *Archives d’Anatomie Microscopique et de Morphologie Expérimentale* **50** : 309-328.
- Dunham A.E., Grant B.W., Overall K.L., 1989.** Interfaces between biophysical and physiological ecology and the population ecology of terrestrial vertebrate ectotherms. *Physiological Zoology* **62** : 335-355.
- Dutton R.H., Fitzpatrick L.C., Hughes J.L., 1975.** Energetics of the rusty lizard *Sceloporus olivaceus*. *Ecology* **56** : 1378-1387.
- Eizaguirre C., Laloï D., Massot M., Richard M., Federici P., Clobert J., 2007.** Condition dependence of reproductive strategy and the benefits of polyandry in a viviparous lizard. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* **274** : 425–430.



- Elphick M., Shine R., 1998.** Longterm effects of incubation temperatures on the morphology and locomotor performance of hatchling lizards (*Bassiana duperreyi*, Scincidae). *Biological Journal of the Linnean Society* **63** : 429–447.
- Ericsson G., Wallin K., Ball J.P., Broberg M., 2001.** Age-related reproductive effort and senescence in free-ranging moose, *Alces alces*. *Ecology* **82** : 1613–1620.
- Ernst C.H., 1986.** Environmental temperatures and activities in the wood turtle, *Clemmys insculpta*. *Journal of Herpetology* **20** : 222–229.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S., 2005.** Arlequin (version 3.0) : An integrated software package for population genetics analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* **1** : 47–50.
- Excoffier L., Lischer H.E.L., 2010.** Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10** : 564–567.
- Fagerström T., Wiklund C., 1982.** Why do males emerge before females? Protandry as a mating strategy in male and female butterflies. *Oecologia* **52** : 164–166.
- Farmer C.G., 2000.** Parental care: the key to understanding endothermy and other convergent features in birds and mammals. *The American Naturalist* **155** : 326–334.
- Finch C.E., Rose M.R., 1995.** Hormones and the physiological architecture of life-history evolution. *Quarterly Review of Biology* **70** : 1–52.
- Fisher R.A., 1958.** *The genetical theory of natural selection*. Dover, New York.
- Fitzpatrick J.W., Woolfenden G.E., 1988.** Components of lifetime reproductive success in the Florida scrub jay. In: Clutton-Brock T.H., ed. *Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems*. Chicago: University of Chicago Press, 305–320.
- Forchhammer M.C., Clutton-Brock T.H., Lindström J., Albon S.D., 2001.** Climate and population density induce long-term cohort variation in a northern ungulate. *Journal of Animal Ecology* **70** : 721–729.
- Fordyce J.A., 2006.** The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *Journal of Experimental Biology* **209** : 2377–2383.
- Francis C.M., Cooke F., 1986.** Differential timing of spring migration in wood warblers (Parulinae). *Auk* **103** : 548–556.



- French S.S., DeNardo D.F., Moore M.C., 2007.** Trade-offs between the reproductive and the immune systems: facultative responses to the resources or obligate responses to reproduction? *The American Naturalist* **170** : 79–89.
- Gaillard J.M., Allaine D., Pontier D., Yoccoz N.G., Promislow D., 1994.** Senescence in natural-populations of mammals - a reanalysis. *Evolution* **48** : 509–516.
- Gaillard J.M., Loison A., Toigo C., Delorme D., Van Laere G., 2003.** Cohort effects and deer population dynamics. *Ecoscience* **10** : 412–420.
- Gaillard J.M., Boutin J.M., Delorme D., Van Laere G., Duncan P., Lebreton J.D., 1997.** Early survival in roe deer: causes and consequences of cohort variation in two contrasted populations. *Oecologia* **112** : 502–513.
- Galan P., 1999.** Demography and population dynamics of the lacertid lizard *Podarcis bocagei* in the north-west Spain. *Journal of Zoology (London)* **249** : 203–218.
- Gasc J.P., Cabela A., Crnobrnja-Isailovic J., Dolmen D., Grossenbacher K., Haffner P., Lescure J., Martens H., Martinez Rica J.P., Maurin H., Oliveira M.E., Sofianidou T.S., Veith M., Zuiderwijk A., 1997.** *Atlas of Amphibians and Reptiles in Europe*. Paris: Societas Herpetologica et Muséum National d'Histoire Naturelle, 356–357.
- Ghalambor C.K., McKay J.K., Carroll S.P., Reznick D.N., 2007.** Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* **21** : 394–407.
- Gilman C.A., Wolf C.O., 2007.** Use of portable ultrasonography as a non-destructive method for estimating reproductive effort in lizards. *Journal of Experimental Biology* **210** : 1859–1867.
- Gluckman P.D., Hanson M.A., Beedle A.S., 2007.** Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. *American Journal of Human Biology* **19** : 1–19.
- Godfray H.C.J., 1987.** The evolution of clutch size in parasitic wasps. *American Naturalist* **129** : 221–233.
- Gonzalez-Suarez M., Le Galliard J.F., Claessen D., 2011.** Population and life-history consequences of within-cohort individual variation. *The American Naturalist* **178** : 525–537.
- Gotthard K., 2000.** Increased risk of predation as a cost of high growth rate: an experimental test in a butterfly. *Journal of Animal Ecology* **69** : 896–902.



- Gotthard K., 2001.** Growth strategies of ectothermic animals in temperate environments. In: Atkinson D, Thorndyke M, eds. *Environment and animal development*. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 287–304.
- Grafen A., 1988.** On the uses of data on lifetime reproductive success. In: Clutton-Brock T.H., ed. *Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems*. Chicago: University of Chicago Press, 454–471.
- Greenberg N., Wingfield J.C., 1987.** Stress and reproduction: reciprocal relationships. In: Norris D.O., Jones R.E., eds. *Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles*. New York: Plenum, 461–503.
- Greenwald O.E., 1974.** Thermal dependence of striking and prey capture by gopher snakes. *Copeia* **1974** : 141–148.
- Guderley H., Seebacher F., 2011.** Thermal acclimation, mitochondrial capacities and organ metabolic profiles in a reptile (*Alligator mississippiensis*). *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology* **181** : 53–64.
- Guillette L.J.J., Cree A., Rooney A.A., 1995.** Biology of stress: interactions with reproduction, immunology and intermediary metabolism. In: Warnick C., Frye F.L., Murphy J.B., eds. *Health and welfare of captive reptiles*. London: Chapman and Hall, 32–81.
- Günther R.H., 1996.** *Die Amphibien und Reptilien Deutschlands*. Jena: Gustav Fischer Verlag.
- Gustafson L., Sutherland W., 1988.** The costs of reproduction in the collared flycatcher *Ficedula albicollis*. *Nature* **335** : 813–815.
- Gvoždík L., 2003.** Postprandial thermophily in the Danube crested newt, *Triturus dobrogicus*. *Journal of Thermal Biology* **28** : 545–550.
- Haldane J.B.S., 1941.** *New paths in genetics*. London: Allen and Unwin.
- Hales C.N., Barker D.J., Clark P.M., Cox L.J., Fall C., Osmond C., Winter P.D., 1991.** Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *British Medical Journal* **303** : 1019–1022.
- Hare J.R., Whitworth E., Cree A., 2007.** Correct orientation of a hand-held infrared thermometer is important for accurate measurement of body temperatures in small lizards and tuatara. *Herpetological Review* **38** : 311–315.



- Hare K.M., Pledger S., Thompson M.B., Miller J.H., Daugherty C.H., 2010.** Nocturnal lizards from a cool-temperate environment have high metabolic rates at low temperatures. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology* **180** : 1173–1181.
- Harvey R.E., Phillips J.G., Hall T.R., 1984.** Stress and adrenal function. *Journal of Experimental Zoology* **232** : 633–646.
- Hau M., 2001.** Timing of breeding in variable environments: tropical birds as model systems. *Hormones and Behavior* **40** : 281–290.
- Heath J.E., 1964.** Reptilian thermoregulation - Evaluation of field studies. *Science* **146** : 784–785.
- Heino M., Kaitala V., 1996.** Optimal resource allocation between growth and reproduction: why does indeterminate growth exist? *Functional Ecology* **10** : 245–251.
- Heino M., Kaitala V., 1999.** Evolution of resource allocation between growth and reproduction in animals with indeterminate growth. *Journal of Evolutionary Biology* **12** : 423–429.
- Heinrich B., 1990.** Is reflectance basking real? *Journal of Experimental Biology* **154** : 31–43.
- Henry C.J.K., Ulijaszek S.J., 1996.** *Long-term consequences of early environment*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Herczec G., Saarikivi J., Gonda A., Perala J., Tuomola A., Merila J., 2007.** Suboptimal thermoregulation in male adders (*Vipera berus*) after hibernation imposed by spermiogenesis. *Biological Journal of the Linnean Society* **92** : 19–27.
- Hopkins W.A., Roe J.H., Philippi T., Congdona J.D., 2004.** Standard and digestive metabolism in the banded water snake, *Nerodia fasciata fasciata*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **137** : 141–149.
- Huey R.B., Berrigan D., 1996.** Testing evolutionary hypotheses of acclimation. In: Johnston I.A., Bennett A.F, eds. *Phenotypic and evolutionary adaptation to temperature*. Cambridge: Cambridge University Press, 205–237.
- Huey R.B., Slatkin M., 1976.** Cost and benefits of lizard thermoregulation. *Quarterly Review of Biology* **51** : 363–384.
- Huey R.B., Stevenson R.D., 1979.** Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist* **19** : 357–366.
- Hussin J., Parent G.H. 1996.** Contribution à la connaissance du peuplement herpétologique de la Belgique - Note 9. Données nouvelles (1985-1995) sur la chorologie et sur l'écologie du Lézard



- des murailles, *Podarcis muralis* (LAURENTI, 1768), au Benelux. *Les Naturalistes belges* **77** : 51–64.
- Huyghe K., Van Oystaeyen A., Pasmans F., Tadic Z., Vanhooydonck B., Van Damme R., 2010.** Seasonal changes in parasite load and a cellular immune response in a colour polymorphic lizard. *Oecologia* **163** : 867–874.
- Jakob E.M., Marshall S.D., Uetz G.W., 1996.** Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos* **77** : 61–67.
- Jennions M.D., Petrie M., 2000.** Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biological Reviews* **75** : 21–64.
- Jessop T.S., Knapp R., Limpus C.J., Whittier J.M., 2002.** Dynamic endocrine responses to stress: evidence for energetic constraints and status dependence of breeding in male green turtles. *General and Comparative Endocrinology* **126** : 59–67.
- Ji X., Braña F., 1999.** The influence of thermal and hydric environments on embryonic use of energy and nutrients, and hatchling traits, in the wall lizards (*Podarcis muralis*). *Comparative Biochemistry and Physiology A* **124** : 205–213.
- Ji X., Braña F., 2000.** Among clutch variation in reproductive output and egg size in the wall lizard (*Podarcis muralis*) from a lowland population of northern Spain. *Journal of Herpetology* **34** : 54–60.
- Johnson E.O., Kamilaris T.C., Chrousos G.P., Gold P.W., 1992.** Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **16** : 115–130.
- Joly J., Saint Girons H., 1975.** Influence de la température sur la vitesse de la spermatogenèse, la durée de l'activité spermatogénétique et l'évolution des caractères sexuels secondaires du Léopard des murailles, *Lacerta muralis* L. (Reptilia, Lacertidae). *Archives d'Anatomie Microscopique* **64** : 317–336.
- Jönsson K.I., 1997.** Capital and income breeding as alternative tactics of resource use in reproduction. *Oikos* **78** : 57–66.
- Kalinowski S.T., Taper M.L., Marshall T.C., 2007.** Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* **16** : 1099–1106.



- Katsukawa Y., Katsukawa T., Matsuda H., 2002.** Indeterminate growth is selected by a trade-off between high fecundity and risk avoidance in stochastic environments. *Population Ecology* **44** : 265–272.
- Keller L., Reeve H.K., 1995.** Why do females mate with multiple males? The sexually selected sperm hypothesis. In: Slater P.J., Rosenblatt J., Snowdon C.T., Milinski M., eds. *Advances in the study of behavior vol. 24*. SanDiego: Academic Press, 291–315.
- Kirkwood T.B.L., 1977.** Evolution of aging. *Nature* **270** : 301–304.
- Klukowski M., 2011.** Effects of breeding season, testosterone and ACTH on the corticosterone response of free-ranging male fence lizards (*Sceloporus undulatus*). *General and Comparative Endocrinology* **173** : 295–302.
- Klukowski M., Nelson C.E., 2001.** Ectoparasite loads in free-ranging northern fence lizards, *Sceloporus undulatus hyacinthinus*: effects of testosterone and sex. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **49** : 289–295.
- Konovalov D.A., Heg D., 2008.** A maximum-likelihood relatedness estimator allowing for negative relatedness values. *Molecular Ecology Resources* **8** : 256–263.
- Konovalov D.A., Manning C., Henshaw M.T., 2004.** KINGROUP : a program for pedigree relationship reconstruction and kin group assignments using genetic markers. *Molecular Ecology Notes* **4** : 779–782.
- Konstantinov A.S., Pushkar V.Y., Aver'yanova O.V., 2003.** Effects of fluctuations of abiotic factors on the metabolism of some hydrobionts. *Biology Bulletin* **30** : 610–616.
- Kozłowski J., 1996.** Optimal allocation of resources explains interspecific life-history patterns in animals with indeterminate growth. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Science* **263** : 559–566.
- Kozłowski J., Uchmanski J., 1987.** Optimal individual growth and reproduction in perennial species with indeterminate growth. *Evolutionary Ecology* **1** : 214–230.
- Kozłowski J., Wiegert R.G., 1986.** Optimal allocation of energy to growth and reproduction. *Theoretical Population Biology* **29** : 16–37.
- Kruijt J.R., De Vos G.J., 1988.** Individual variation in reproductive success in male Black Grouse, *Tetrao tetrix*. In: Clutton-Brock T.H., ed. *Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems*. Chicago: University of Chicago Press, 279–290.
- Lack D., 1947.** The significance of clutch size. *Ibis* **89** : 302–352.



- Landys M.M., Ramenofsky M., Wingfield J.C., 2006.** Actions of glucocorticoids at a seasonal baseline as compared to stress-related levels in the regulation of periodic life processes. *General and Comparative Endocrinology* **148** : 132–149.
- Langley P.A., Clutton-Brock T.H., 1998.** Does reproductive investment change with age in tsetse flies, *Glossina morsitans morsitans* (Diptera: Glossinidae)? *Functional Ecology* **12** : 866–870.
- Lardner B., Loman J., 2003.** Growth or reproduction? Resource allocation by female frogs *Rana temporaria*. *Oecologia* **137** : 541–546.
- Le Galliard J.F., Le Bris M., Clobert J., 2003.** Timing of locomotor impairment and shift in thermal preferences during gravidity in a viviparous lizard. *Functional Ecology* **17** : 877–885.
- Le Galliard J.F., Marquis O., Massot M., 2010.** Cohort variation, climate effects and population dynamics in a short-lived lizard. *Journal of Animal Ecology* **79** : 1296–1307.
- Lecomte V.J., Sorci G., Cornet S., Jaeger A., Faivre B., Arnoux E., Gaillard M., Trouvé C., Besson D., Chastel O., Weimerskirch H., 2010.** Patterns of aging in the long-lived wandering albatross. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107** : 6370–6375.
- Lee P.L.M., Hays G.C., 2004.** Polyandry in a marine turtle: Females make the best of a bad job. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **101** : 6530–6535.
- Lelièvre H., Blouin-Demers G., Bonnet X., Lourdais O., 2010.** Thermal benefits of artificial shelters in snakes: A radiotelemetric study of two sympatric colubrids. *Journal of Thermal Biology* **35** : 24–331.
- Lelièvre H., Le Hénanff M., Blouin-Demers G., Naulleau G., Lourdais O., 2010.** Thermal strategies and energetics in two sympatric colubrid snakes with contrasted exposure. *Journal of Comparative Physiology B* **180** : 415–425.
- Leroi A.M., Bennett A.F., Lenski R.E., 1994.** Temperature acclimation and competitive fitness: an experimental test of the beneficial acclimation assumption. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91** : 1917–1921.
- Lescroël A., Dugger K.M., Ballard G., Ainley D.G., 2009.** Effects of individual quality, reproductive success and environmental variability on survival of a long-lived seabird. *Journal of Animal Ecology* **78** : 798–806.
- Lessells C.M., 1991.** The evolution of life histories. In: Krebs R., Davies N.D., eds. *Behavioural Ecology*. London: Blackwell, Oxford, 32–68.



- Lessells C.M., 2008.** Neuroendocrine control of life histories: what do we need to know to understand the evolution of phenotypic plasticity? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **363** : 1589–1598.
- Levins R., 1968.** *Evolution in changing environments*. Princeton: Princeton University Press.
- Lillywhite H.B., 1987.** Temperature, energetics, and physiological ecology. In: Seigel R.A., Collins J.T., Novak S.S., eds. *Snakes: ecology and evolutionary biology*. New York: Macmillan Publishing, 422–477.
- Lind J., Cresswell W., 2005.** Determining the fitness consequences of antipredation behaviour. *Behavioral Ecology* **16** : 945–956.
- Lindström J., 1999.** Early development and fitness in birds and mammals. *Trends in Ecology and Evolution* **14** : 343–348.
- Lindström J., Kokko H., 2002.** Cohort effects and population dynamics. *Ecology Letters* **5** : 338–344.
- Litzgus J.D., Hopkins W.A., 2003.** Effect of temperature on metabolic rate of the mud turtle (*Kinosternon subrubrum*). *Journal of Thermal Biology* **28** : 595–600.
- Loiseau C., Sorci G., Dano S., Chastel O., 2008.** Effects of experimental increase of corticosterone levels on begging behavior, immunity and parental provisioning rate in house sparrows. *General and Comparative Endocrinology* **155** : 101–108.
- Lourdais O., Bonnet X., Doughty P., 2002a.** Costs of anorexia during pregnancy in a viviparous snake (*Vipera aspis*). *Journal of Experimental Zoology* **292** : 487–493.
- Lourdais O., Heulin B., Denardo D.F., 2008.** Thermoregulation during gravidity in the children's python (*Antaresia childreni*): a test of the preadaptation hypothesis for maternal thermophily in snakes. *Biological Journal of the Linnean Society* **93** : 499–508.
- Lourdais O., Shine R., Bonnet X., Guillon M., Naulleau G., 2004.** Climate affects embryonic development in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos* **104** : 551–560.
- Lourdais O., Bonnet X., Shine R., Denardo D., Naulleau G., Guillon M., 2002b.** Capital-breeding and reproductive effort in a variable environment: a longitudinal study of a viviparous snake. *Journal of Animal Ecology* **71** : 470–479.
- Love O.P., Bird D.M., Shutt L.J., 2003.** Corticosterone levels during post-natal development in captive American kestrels (*Falco sparverius*). *General and Comparative Endocrinology* **130** : 135–141.



- Lubelczyk C.B., Elias S.P., Rand P.W., Holma M.S., Lacombe E.H., Smith R.P.J., 2004.** Habitat association of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in Maine. *Environmental Entomology* **33** : 900–906.
- Lutterschmidt W.I., Lutterschmidt D.I., Mason R.T., Reinert H.K., 2009.** Seasonal variation in hormonal responses of timber rattlesnakes (*Crotalus horridus*) to reproductive and environmental stressors. *Journal of Comparative Physiology B* **179** : 747–757.
- Lyman C.P. 1982.** Sensitivity to arousal, and recent theories of hibernation. In: Lyman C.P., Willis J.S., Malan A., Wang L.C.S., eds. *Hibernation and torpor in mammals and birds*. New York: Academic Press, 77–91, 283–301.
- Madsen T., Shine R., 1996.** Determinants of reproductive output in female water pythons (*Liasis fuscus*: Pythonidae). *Herpetologica* **52** : 146–159.
- Madsen T., Shine R., 1998.** Quantity or quality? Determinants of maternal reproductive success in tropical pythons (*Liasis fuscus*). *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Science* **265** : 1521–1525.
- Madsen T., Shine R., 2000.** Silver spoons and snake body sizes: prey availability early in life influences long-term growth rates of free-ranging pythons. *Journal of Animal Ecology* **69** : 952–958.
- Magnhagen C., 1991.** Predation risk as a cost of reproduction. *Trends in Ecology and Evolution* **6** : 183–185.
- Majláthová V., Majláth I., Haklová B., Hromada M., Ekner A., Antczak M., Tryjanowski P., 2010.** Blood parasites in two co-existing species of lizards (*Zootoca vivipara* and *Lacerta agilis*). *Parasitology Research* **107** : 1121–1127.
- Martín J., López P., 1999.** When to come out from a refuge is costly: risk-sensitive and state-dependent decisions in an alpine lizard. *Behavioural Ecology* **10** : 487–492.
- Martin J., López P., 2005.** Wall lizards modulate refuge use through continuous assessment of predation risk level. *Ethology* **111** : 207–219.
- Massot M., Clobert J., Chambon A., Michalakis Y., 1994.** Vertebrate natal dispersal: the problem of non independence of siblings. *Oikos* **70** : 172–176.
- Massot M., Clobert J., Montes-Poloni L., Haussy C., Cubo J., Meylan S., 2011.** An integrative study of ageing in a wild population of common lizards. *Functional Ecology* **25** : 848–858.



- Mathies T., Andrews R.M., 1997.** Influence of pregnancy on the thermal biology of the lizard, *Sceloporus jarrovi*: why do pregnant females exhibit low body temperatures? *Functional Ecology* **11** : 498–507.
- Matthews S.G., 2002.** Early programming of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Trends in Endocrinology and Metabolism* **13** : 373–380.
- McCleery R.H., Perrins C.M., 1988.** Lifetime reproductive success in the Great Tit, *Parus major*. In: Clutton-Brock T.H., ed. *Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems*. Chicago: University of Chicago Press, 136–153.
- McEwen B.S., Biron C.A., Brunson K.W., Bulloch K., Chambers W.H., Dhabhar F.S., Goldfarb R.H., Kitson R.P., Miller A.H., Spencer R.L., Weiss J.M., 1997.** The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. *Brain Research Reviews* **23** : 79–133.
- Medawar P.B., 1946.** Old age and natural death. *Modern Quarterly* **1** : 17–43.
- Medawar P.B., 1952.** *An unsolved problem of biology*. London: Lewis.
- Medlock J.M., Pietzsch M.E., Rice N.V.P., Jones L., Kerrod E., Avenell D., Los S., Ratcliffe N., Leach S., Butt T., 2008.** Investigation of ecological and environmental determinants for the presence of questing *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on Gower, South Wales. *Journal of Medical Entomology* **45** : 314–325.
- Meijer T., Drent R., 1999.** Re-examination of the capital and income dichotomy in breeding birds. *Ibis* **141** : 399–414.
- Metcalfe N.B., Monaghan P., 2001.** Compensation for a bad start: grow now, pay later? *Trends in Ecology and Evolution* **16** : 254–260.
- Meyers L.A., Bull J.J., 2002.** Fighting change with change: adaptive variation in uncertain world. *Trends in Ecology and Evolution* **17** : 551–557.
- Meylan S., Clobert J., 2004.** Maternal effects on offspring locomotion: influence of density and corticosterone elevation in the lizard *Lacerta vivipara*. *Physiological and Biochemical Zoology* **77** : 450–458.
- Meylan S., Clobert J., 2005.** Is corticosterone-mediated phenotype development adaptive? Maternal corticosterone treatment enhances survival in male lizards. *Hormones and Behavior* **48** : 44–52.



- Meylan S., De Fraipont M., Clobert J., 2004.** Maternal size and stress and offspring philopatry: An experimental study in the common lizard (*Lacerta vivipara*). *Ecoscience* **11** : 123–129.
- Meylan S., Dufty A.M., Clobert J., 2003.** The effect of transdermal corticosterone application on plasma corticosterone levels in pregnant *Lacerta vivipara*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **134** : 497–503.
- Meylan S., Haussy C., Voituron Y., 2010.** Physiological actions of corticosterone and its modulation by an immune challenge in reptiles. *General and Comparative Endocrinology* **169** : 158–166.
- Meylan S., Belliure J. Clobert J., De Fraipont M., 2002.** Stress and body condition as prenatal and postnatal determinants of dispersal in the common lizard (*Lacerta vivipara*). *Hormones and Behavior* **42** : 319–326.
- Mondal S., Rai U., 2001.** In vitro effect of temperature on phagocytic and cytotoxic activities of splenic phagocytes of the wall lizard, *Hemidactylus flaviviridis*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **129** : 391–398.
- Moore I.T., Jessop T.S., 2003.** Stress, reproduction, and adrenocortical modulation in amphibians and reptiles. *Hormones and Behaviour* **43** : 39–47.
- Moore I.T., Greene M.J., Mason R.T., 2001.** Environmental and seasonal adaptations of the adrenocortical and gonadal responses to capture stress in two populations of the male garter snake, *Thamnophis sirtalis*. *Journal of Experimental Zoology* **289** : 99–108.
- Moore M.C., Thompson C.W., Marler C.A., 1991.** Reciprocal changes in corticosterone and testosterone levels following acute and chronic handling stress in the tree lizard, *Urosaurus ornatus*. *General and Comparative Endocrinology* **81** : 217–226.
- Moore I.T., Thompson C.W., Marler C.A., 2000.** Behavioural and hormonal response to capture stress in the male res-sided garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*. *Animal Behaviour* **59** : 529–534.
- Morbey Y.E., Ydenberg R.C., 2001.** Protandrous arrival timing to breeding areas: a review. *Ecology Letters* **4** : 663–673.
- Morici L.A., Elsey R.M., Lance V.A., 1997.** Effects of long term corticosterone implants on growth and immune function in juvenile alligators, *Alligator mississippiensis*. *Journal of Experimental Zoology* **279** : 156–162.
- Mou Y.P., 1987.** *Ecologie comparée de deux populations de lézards des murailles, Podarcis muralis (Laurenti, 1768), en France.* Paris 6 University, PhD thesis.



- Mou Y.P., Barbault R., 1986.** Régime Alimentaire d'une Population de Léopard des Murailles, *Podarcis muralis* (Laurent, 1768) dans le Sud-Ouest de la France. *Amphibia-Reptilia* **7** : 171–180.
- Mousseau T.A., Fox C.W., 1998.** The adaptive significance of maternal effects. *Tree* **13** : 403–407.
- Munck A., Guyre P., Holbrook N., 1984.** Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews* **5** : 25–44.
- Nagy K.A., 2005.** Field metabolic rate and body size. *Journal of Experimental Biology* **208** : 1621–1625.
- Naulleau G., 1980.** Léopards de France. *Revue Française d'Aquariologie et d'Herpétologie* **3** : 65–96.
- Nembrini M., Oppliger A., 2003.** Characterization of microsatellite loci in the wall lizard *Podarcis muralis* (Sauria: Lacertidae). *Molecular Ecology Notes* **3** : 123–124.
- Newton I., 1988.** Age and reproduction in the Sparrowhawk. In: Clutton-Brock T.H., ed. Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems. Chicago: University of Chicago Press, 201–229.
- Nicieza A.G., Metcalfe N.B., 1997.** Growth compensation in juvenile Atlantic salmon: responses to depressed temperature and food availability. *Ecology* **78** : 2385–2400.
- Nishiguchi M.K., 2000.** Temperature affects species distribution in symbiotic populations of *Vibrio* spp. *Applied and Environmental Microbiology* **66** : 3550–3555.
- Nylin S., Gotthard K., 1998.** Plasticity in life-history traits. *Annual Review of Entomology* **43** : 63–83.
- O'Connor M.P., Sieg A.E., Dunhamy A.E., 2006.** Linking physiological effects on activity and resource use to population level phenomena. *Integrative and Comparative Biology* **46** : 1093–1109.
- O'Steen S., Janzen F.J., 1999.** Embryonic temperature affects metabolic compensation and thyroid hormones in hatchling snapping turtles. *Physiological and Biochemical Zoology* **72** : 520–533.
- Olsson M., Madsen T., 1996.** Costs of mating with infertile males selects for late emergence in female sand lizards. *Copeia* **2** : 462–464.
- Olsson M., Shine R., 1996.** Does reproductive success increase with age or with size in species with indeterminate growth? A case study using sand lizards (*Lacerta agilis*). *Oecologia* **105** : 175–178.
- Olsson M., Shine R., 1997.** The seasonal timing of oviposition in sand lizards (*Lacerta agilis*): why early clutches are better. *Journal of Evolutionary Biology* **10** : 369–381.



- Olsson M., Shine R., 1998.** Timing of parturition as a maternal care tactic in an alpine lizards species. *Evolution* **52** : 1861–1864.
- Olsson M., Matsen T., Shine R., 1997.** Is sperm really so cheap? Costs of reproduction in males adders, *Vipera berus*. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences* **264** : 455–459.
- Olsson M., Wapstra E., Madsen T., Silverin B., 2000.** Testosterone, ticks and travels: a test of the immunocompetence–handicap hypothesis in free-ranging male sand lizards. *Proceedings of the Royal Society of London B* **267** : 2339–2343.
- Oppliger A., Célérier M.L., Clobert J. 1996.** Physiological and behaviour changes in common lizards parasitized by haemogregarines. *Parasitology* **113** : 433–438.
- Oppliger A., Degen L., Bouteiller-Reute C., John-Alder H.B., 2007.** Promiscuity and high level of multiple paternity in common wall lizards (*Podarcis muralis*): data from microsatellite markers. *Amphibia-Reptilia* **28** : 301–303.
- Owens I.P.F., Thompson D.B.A., 1994.** Sex-differences, sex-ratios and sex-roles. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* **258** : 93–99.
- Padilla D.K., Adolph S.C., 1996.** Plastic inducible morphologies are not always adaptive : the importance of time delays in a stochastic environment. *Evolutionary Ecology* **10** : 105–117.
- Perrin N., Sibly R.M., Nichols N.K., 1993.** Optimal-growth strategies when mortality and production-rates are size-dependent. *Evolutionary Ecology* **7** : 576–592.
- Perry G., Garland T.G., 2002.** Lizard home ranges revisited: effects of sex, body size, diet, habitat, and phylogeny. *Ecology* **83** : 1870–1885.
- Peterson C.R., 1987.** Daily variation in the body temperatures of free-ranging garter snakes. *Ecology* **68** : 160–169.
- Phillips J.B., Klukowski M., 2008.** Influence of season and adrenocorticotrophic hormone on corticosterone in freeliving female eastern fence lizards (*Sceloporus undulatus*). *Copeia* **3** : 570–578.
- Piersma T., Drent J., 2003.** Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends in Ecology and Evolution* **18** : 228–233.
- Pigliucci M., 2001.** *Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture*. Baltimore: Johns Hopkins University Press.



- Pörtner H.O., 2002.** Climate variations and the physiological bases temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **132** : 739–761.
- Pottinger T.G., 1999.** The impact of stress on animal reproductive activities. In: Balm P.H.M., ed. *Stress Physiology in Animals*. Sheffield: Sheffield Academic Press, 130-77.
- Pravosudov V.V., Kitaysky A.S., Wingfield J.C., Clayton N.S., 2001.** Long-term unpredictable foraging conditions and physiological stress response in mountain chickadees (*Poecile gambeli*). *General and Comparative Endocrinology* **123** : 324–331.
- Qualls F.J., Shine R., 2000.** Post-hatching environment contributes greatly to phenotypic variation between two populations of the Australian garden skink, *Lampropholis guichenoti*. *Biological Journal of the Linnean Society* **71** : 315–341.
- Radder R.S., Shine R., 2007a.** Are the phenotypic traits of hatchling lizards affected by maternal allocation of steroid hormones to the egg? *General and Comparative Endocrinology* **154** : 111–119.
- Radder R.S., Shine R., 2007b.** Why do females lizards lay their eggs in communal nests? *Journal of Animal Ecology* **76** : 881-887.
- Reed T.E., Waples R.S., Schindler D.E., Hard J.J., Kinnison M.T., 2010.** Phenotypic plasticity and population viability: the importance of environmental predictability. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences* **277** : 3391–3400.
- Reid J.M., Bignal E.M., Bignal S., McCracken D.I., Monaghan P., 2003.** Environmental variability, life-history covariation and cohort effects in the red-billed chough *Pyrrhocorax pyrrhocorax*. *Journal of Animal Ecology* **72** : 36–46.
- Relyea R.A., 2002.** Costs of phenotypic plasticity. *The American Naturalist* **159** : 272–282.
- Reznick D.N., 1985.** Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* **44** : 257–267.
- Reznick D.N., 1992.** Measuring costs of reproduction. *Trends in Ecology and Evolution* **7** : 42–45.
- Richard M., Lecomte J., De Fraipont M., Clobert J., 2005.** Age-specific mating strategies and reproductive senescence. *Molecular Ecology* **14** : 3147–3155.
- Ricklefs R.E., 2000.** Density dependence, evolutionary optimization, and the diversification of avian life histories. *The Condor* **102** : 9–22.



- Ricklefs R.E., Wikelski M., 2002.** The physiology/life-history nexus. *Trends in Ecology and Evolution* **17** : 462–468.
- Rivier C., Rivest S., 1991.** Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanism. *Biology of Reproduction* **45** : 523–532.
- Robert K.A., Bronikowski A.M., 2010.** Evolution of senescence in nature: physiological evolution in populations of garter snake with divergent life histories. *The American Naturalist* **175** : 147–159.
- Robert K.A, Thompson M.B., Seebacher F., 2006.** Thermal biology of a viviparous lizard with temperature-dependant sex determination. *Journal of Thermal Biology* **31** : 292–301.
- Roff D.A., 1992.** *The evolution of life histories*. New York: Chapman et Hall, Routledge.
- Roff D.A., 2002.** *Life history evolution*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Romero L.M., 2002.** Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. *General and Comparative Endocrinology* **128** : 1–24.
- Romero L.M., Reed J.M., 2005.** Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under three minutes good enough? *Comparative Biochemistry and Physiology A Comparative Physiology* **140** : 73–79.
- Romero L.M., Wikelski M., 2001.** Corticosterone levels predict survival probabilities of Galapagos marine iguanas during El Nino events. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98** : 7366–7370.
- Rutberg A.T., 1987.** Adaptive hypotheses of birth synchrony in ruminants : an interspecific test. *The American Naturalist* **130** : 692–710.
- Saad A.H., Elridi R., 1984.** Corticosteroids and seasonal changes in reptilian immune responses. *Developmental and Comparative Immunology* **8** : 945–945.
- Sæther B.E., 1997.** Environmental stochasticity and population dynamics of large herbivores : a search for mechanisms. *Trends in Ecology and Evolution* **12** : 143–149.
- Saint Girons H., Duguy R., 1970.** Le cycle sexuel de *Lacerta murali* L. en plaine et en montagne. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle* **4** : 609–625.
- Salvador A., Veiga J.P., Martin J., Lopez P., Abelenda M., Puerta M., 1996.** The cost of producing a sexual signal: testosterone increases the susceptibility of male lizards to ectoparasitic infestation. *Behavioral Ecology* **7** : 145–150.



- Samson D.A., Werk K.S., 1986.** Size-dependent effects in the analysis of reproductive effort in plants. *The American Naturalist* **127** : 667–680.
- Sapolsky R.M., 1992.** Neuroendocrinology of the stress response. In: Becker J.B., Breedlove S.M., Crews D., eds. *Behavioral endocrinology*. Cambridge: MIT press, 287–324.
- Sapolsky R.M., Romero L.M., Munck A.U., 2000.** How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* **21** : 55–89.
- Schaffer W.M., 1974.** Optimal reproductive effort in fluctuating environments. *American Naturalist* **964** : 783–900.
- Schall J.J., Marghoob A.B., 1995.** Prevalence of a malarial parasite over time and space: *Plasmodium mexicanum* in its vertebrate host, the western fence lizard *Sceloporus occidentalis*. *Journal of Animal Ecology* **64** : 177–185.
- Schaub M., Vaterlaus-Schlegel C., 2001.** Annual and seasonal variation of survival rates in the garden dormouse (*Eliomys quercinus*). *Journal of Zoology* **255** : 89–96.
- Schlichting C.D., Pigliucci M., 1998.** Phenotypic evolution a reaction norm perspective. Sunderland: Sinauer Associates.
- Schulte U., 2008.** Die mauereidechse. Erfolgreich im Sclerptaud des Menschen. *Beiheft der zeitschrift für Feldherpetologie* 12, Laurenti verlag , Bielefeld, 160 p.
- Schwabl H., 1993.** Yolk is a source of maternal testosterone for developing birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **90** : 11446–11450.
- Schwarzkopf L., Shine R., 1991.** Thermal biology of reproduction in viviparous skinks, *Eulamprus tympanum*: why do gravid females bask more? *Oecologia* **88** : 562–569.
- Secor S.M., Nagy K.A., 1994.** Bioenergetic correlates of foraging mode for the snakes *Crotalus cerastes* and *Masticophis flagellum*. *Ecology* **75** : 1600–1614.
- Seebacher F., Shine R., 2004.** Evaluating thermoregulation in reptiles: the fallacy of the inappropriately applied method. *Physiological and Biochemical Zoology* **77** : 688–695.
- Seigel R.A., Ford N.B., 1987.** Reproductive ecology. In: Seigel R.A., Collins J.T., Novak S.S., eds. *Snakes: ecology and evolutionary biology*. New York: MacMillan Press, 210–252.
- Shanbhag B.A., Prasad B.S.K., 1992.** Fat body ovarian relationship in the garden lizard, *Calotes versicolor* (Daud.). *Journal of Experimental Zoology* **264** : 454–460.



- Shanbhag B.A., Radder R.S., Saidapur S.K., 2000.** Maternal size determines clutch mass, whereas breeding timing influences clutch and egg sizes in the tropical lizard, *Calotes versicolor* (Agamidae). *Copeia* **2002** : 1062–1067.
- Sheldon B.C., Verhulst S., 1996.** Ecological immunology: costly parasite defenses and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution* **11** : 317–321.
- Shine R., 1980.** Costs of reproduction in reptiles. *Oecologia* **46** : 92–100.
- Shine R., 1983.** Reptilian reproductive modes: the oviparity-viviparity continuum. *Herpetologica* **39** : 1–8.
- Shine R., 1992.** Relative clutch mass and body shape in lizards and snakes: is reproductive investment constrained or optimized? *Evolution* **46** : 828–833.
- Shine R., 2003.** Locomotor speeds of gravid lizards: placing ‘costs of reproduction’ within an ecological context. *Functional Ecology* **17** : 526–533.
- Shine R., 2004.** Adaptive consequences of developmental plasticity. In: Deeming D.C., ed. *Reptilian incubation: environment, evolution and behaviour*. Nottingham: Nottingham University Press, 187–210.
- Shine R., 2005.** Life-history evolution in reptiles. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **36** : 23–46.
- Shine R., 2006.** Is increased maternal basking an adaptation or a pre-adaptation to viviparity in lizards? *Journal of Experimental Zoology A* **305** : 524–535.
- Shine R., Elphick M., 2001.** The effect of short-term weather fluctuations on temperatures inside lizard nests, and on the phenotypic traits of hatchling lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* **72** : 555–565.
- Shine R., Harlow P., 1993.** Maternal thermoregulation influences offspring viability in a viviparous lizard. *Oecologia* **96** : 122–127.
- Shine R., Madsen T., 1996.** Is thermoregulation unimportant for most reptiles ? An example water pythons (*Liasis fuscus*) in tropical Australia. *Physiological Zoology* **69** : 252–269.
- Shine R., Elphick M.J., Harlow P.S., 1997.** The influence of natural incubation environments on the phenotypic traits of hatchling lizards. *Ecology* **78** : 2559–2568.
- Sibly R.M., Calow P., 1984.** Direct and absorption costing in the evolution of life cycles. *Journal of Theoretical Biology* **111** : 463–473.



- Sievert L.M., 1989.** Postprandial temperature selection in *Crotaphytus collaris*. *Copeia* **1989** : 987–995.
- Sievert L.M., Andreadis P., 1999.** Specific dynamic action and postprandial thermophily in juvenile northern water snakes, *Nerodia sipedon*. *Journal of Thermal Biology* **24** : 51–55.
- Silverin B., 1998.** Stress in birds. *Poultry and Avian Biology Reviews* **9** : 153–168.
- Simmons L.W., Emlen D.J., 2006.** Evolutionary trade-off between weapons and testes. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **103** : 16346–16351.
- Smith J.N.M., 1988.** Determinants of lifetime reproductive success in the song sparrow. In: Clutton-Brock T.H., ed. *Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems*. Chicago: University of Chicago Press, 154–172.
- Smith R.J., 2002.** Effect of larval body size on overwinter survival and emerging adult size in the burying beetle, *Nicrophorus investigator*. *Canadian Journal of Zoology* **80** : 1588–1593.
- Snucins E.J., Gunn J.M., 1995.** Coping with a warm environment - Behavioral thermoregulation by lake trout. *Transactions of the American Fisheries Society* **124** : 118–123.
- Sorci G., Colbert J., 1995.** Effects of maternal parasite load on offspring life-history traits in the common lizard (*Lacerta vivipara*). *Journal of Evolutionary Biology* **8** : 711–723.
- Sorrells S.F., Sapolsky R.M., 2007.** An inflammatory review of glucocorticoid actions in the CNS. *Brain, Behavior and Immunity* **21** : 259–272.
- Stahlschmidt Z.R., DeNardo D.F., 2009.** Obligate costs of parental care to offspring: egg brooding-induced hypoxia creates smaller, slower and weaker python offspring. *Biological Journal of the Linnean Society* **98** : 414–421.
- Stearns S.C., 1992.** *The evolution of life histories*. Oxford: Oxford University Press.
- Takahashi L.K., Kalin N.H., Barkdale C.M., Vanden Burgt J.A., 1988.** Stressor controllability during pregnancy influences pituitary-adrenal hormone concentrations and analgesic responsiveness in offspring. *Physiology and Behavior* **42** : 323–329.
- Telemeco R.S., Baird T.A., 2011.** Capital energy drives production of multiple clutches whereas income energy fuels growth in female collared lizards *Crotaphytus collaris*. *Oikos* **120** : 915–921.
- Telemeco R.S., Radde R.S., Baird T.A., Shine R., 2010.** Thermal effects on reptile reproduction: adaptation and phenotypic plasticity in a montane lizard. *Biological Journal of the Linnean Society* **100** : 642–655.



- Thompson W.R., 1957.** Influence of prenatal maternal anxiety on emotionality in young rats. *Science* **125** : 698–699.
- Thornhill R., 1980.** Rape in *Panorpa* scorpion flies and a general rape hypothesis. *Animal Behaviour* **28** : 52–59.
- Thrall P.H., Antonovics J., Dobson A.P., 2000.** Sexually transmitted diseases in polygynous mating system: prevalence and impact on reproductive success. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* **267** : 1555–1563.
- Tomašević-Kolarov N., Ljubisa Vljević K., Polović L., Džukić G., Kalezić M.L., 2010.** The body size, age structure and growth pattern of the endemic Balkan mosor rock lizard (*Dinarolacerta mosorensis* Kolombatović, 1886). *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **56** : 55–71.
- Tosini G., Avery R., 1996.** Pregnancy decreases set point temperatures for behavioural thermoregulation in the wall lizard *Podarcis muralis*. *Herpetological journal* **6** : 94–96.
- Tsikliras A.C., Antonopoulou E., Stergiou K.I., 2007.** A phenotypic trade-off between previous growth and present fecundity in round sardinella *Sardinella aurita*. *Population Ecology* **49** : 221–227.
- Tyrell C.L., Cree A., 1998.** Relationships between corticosterone concentration and season, time of day and confinement in a wild reptile (tuatara, *Sphenodon punctatus*). *General and Comparative Endocrinology* **110** : 97–108.
- Uller T., Olsson M., 2008.** Multiple paternity in reptiles: patterns and processes. *Molecular Ecology* **17** : 2566–2580.
- Uller T., Olsson M., 2010.** Offspring size and timing of hatching determine survival and reproductive output in a lizard. *Oecologia* **162** : 663–671.
- Vacher J.P., Geniez M., 2010.** *Les reptiles de France, Belgique, Luxembourg et Suisse*. Mèze : Biotope ; Paris : Muséum National d'Histoire Naturelle.
- Václav R., Prokop P., Fekiac V., 2007.** Expression of breeding coloration in European Green Lizards (*Lacerta viridis*): variation with morphology and tick infestation. *Canadian Journal of Zoology* **85** : 1199–1206.
- Van Damme R., Bauwens D., Braña F., Verheyen R.F., 1992.** Incubation temperature differentially affects hatching time, egg survival, and hatchling performance in the lizard *Podarcis muralis*. *Herpetologica* **48** : 220–228.



- Van de Pol M., Bruinzeel L.W., Heg D., Van der Jeugd H.P., Verhulst S., 2006.** A silver spoon for a golden future: long-term effects of natal origin on fitness prospects of oystercatchers (*Haematopus ostralegus*). *Journal of Animal Ecology* **75** : 616–626.
- Van Marken Lichtenbelt W.D., Vogel J.T., Wesselingh R.A., 1997.** Energetic consequences of field body temperatures in the green iguana. *Ecology* **78** : 297–307.
- Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P., 2004.** Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* **4** : 535–538.
- Varpe O., Jorgensen C., Tarling G.A., Fiksen O., 2007.** Early is better: seasonal egg fitness and timing of reproduction in zooplankton life-history model. *Oikos* **116** : 1331–1342.
- Veiga J.P., Salvador A., Merino S., Puerta M., 1998.** Reproductive effort affects immune response and parasite infection in a lizard: a phenotypic manipulation using testosterone. *Oikos* **82** : 313–318.
- Vervust B., Van Damme R., 2009.** Marking lizards by heat branding. *Herpetological Review* **40** : 173–174.
- Volkl W., 1989.** Prey density and growth: factors limiting the hibernation success in neonate adders (*Vipera berus* L.) (Reptilia: Serpentes, Viperidae). *Zoologischer Anzeiger* **222** : 75–82.
- Wapstra E., 2000.** Maternal basking opportunity affects juvenile phenotype in a viviparous lizard. *Functional Ecology* **14** : 345–352.
- Wapstra E., Uller T., While G.M., Olsson M., Shine R., 2010.** Giving offspring a head start in life: field and experimental evidence for selection on maternal basking behaviour in lizards. *Journal of Evolutionary Biology* **23** : 651–657.
- Warner D.A., Shine R., 2007.** Fitness of juvenile lizards depends on seasonal timing of hatching, not offspring body size. *Oecologia* **154** : 65–73.
- Warner D.A., Bonnet X., Hobson K.A., Shine R., 2008.** Lizards combine stored energy and recently acquired nutrients flexibly to fuel reproduction. *Journal of Animal Ecology* **77** : 1242–1249.
- Watkins T.B., Vraspir J., 2006.** Both incubation temperature and posthatching temperature affect swimming performance and morphology of wood frog tadpoles (*Rana sylvatica*). *Physiological and Biochemical Zoology* **79** : 140–149.



- Webb J., Brown G.P., Shine R., 2001.** Body size, locomotor speed and antipredator behaviour in a tropical snake (*Tropidonophis mairii*, Colubridae): the influence of incubation environments and genetic factors. *Functional Ecology* **15** : 561–568.
- Webb J.K., Brook B.W., Shine R., 2003.** Does foraging mode influence life history traits? A comparative study of growth, maturation and survival of two species of sympatric snakes from southeastern Australia. *Austral Ecology* **28** : 601–610.
- Weddelling K., Bosbach G., Hatchel M., Sander U., Schmidt P., Tarkhnishvili D., 2005.** Egg size versus clutch size: variation and trade-offs in reproductive output of *Rana dalmatina* and *R. temporaria* in a pond near Bonn (Germany). In: Ananjeva N., Tsinenko O., eds. *Herpetologia Petropolitana. Proceedings of the 12th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica, August 12–16, 2003*. St. Petersburg: Societas Europaea Herpetologica, 238–240.
- Weiss S.L., 2001.** The effect of reproduction on food intake in a sit-and-wait foraging lizard, *Sceloporus virgatus*. *Herpetologica* **57** : 138–146.
- Wessels F.J., Jordan D.C., Hahn D.A., 2010.** Allocation from capital and income sources to reproduction shift from first to second clutch in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Journal of Insect Physiology* **56** : 1269–1274.
- West-Eberhard M.J., 2003.** *Developmental plasticity and evolution*. Oxford: Oxford University Press.
- Whitaker P.B., Shine R., 2002.** Thermal biology and activity patterns of the eastern brownsnake (*Pseudonaja textilis*): a radiotelemetric study. *Herpetologica* **58** : 436–452.
- White G.C., Burnham K.P., 1999.** Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird study* **46**: S120-S139.
- White J., Richard M., Massot M., Meylan S., 2011.** Cloacal bacterial diversity increases with multiple mates: evidence of sexual transmission in female common lizards. *PLoS ONE* **6** : e22339.
- Whittingham L.A., Dunn P.O., 2010.** Fitness benefits of polyandry for experienced females. *Molecular Ecology* **19** : 2328–2335.
- Wijffels G., Hughes S., Gough J., Allen J., Don A., Marshall K., Kay B., Kemp D., 1999.** Peritrophins of adult dipteran ectoparasites and their evaluation as vaccine antigens. *International Journal for Parasitology* **29** : 1363–1377.
- Wikel S.K., 1996.** Host immunity to ticks. *Annual Review of Entomology* **41** : 1–22.



- Wikelski M., Lynn S., Breuner J.C., Wingfield J.C., Kenagy G.J., 1999.** Energy metabolism, testosterone and corticosterone in white-crowned sparrows. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology* **185** : 463–470.
- Wiklund C., Fagerström T., 1977.** Why do males emerge before females? A hypothesis to explain the incidence of protandry in butterflies. *Oecologia* **31** : 153–158.
- Williams G.C., 1957.** Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* **11** : 398–411.
- Williams G.C., 1966.** *Adaptation and natural selection*. Princeton: Princeton University Press.
- Williams T.D., 1996.** Intra- and inter-individual variation in reproductive effort in captive –breeding zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Revue canadienne de zoologie* **74** : 85-91.
- Wilson B.S., Wingfield J.C., 1994.** Seasonal and interpopulational variation in plasma levels of corticosterone in the side-blotched lizard (*Uta stansburiana*). *Physiological Zoology* **67** : 1025–1049.
- Wingfield J.C., 1988.** Changes in reproductive function of free-living birds in direct response to environmental perturbations. In: Stetson M.H., ed. *Processing of environmental information in vertebrates*. New York: Springer, 121–148.
- Wingfield J.C., 1994.** Modulation of the adrenocortical response to stress in birds. In: Davey K.G., Peter R.E., Tobe S.S., eds. *Perspectives in comparative endocrinology*. Ottawa: National Research Council of Canada, 520–528.
- Wingfield J.C., Romero L.M., 2001.** Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates. In: McEwen B.S., ed. *Handbook of Physiology Section 7: The Endocrine System. Vol IV: Coping with the Environment: Neural and Endocrine Mechanisms*. New York: Oxford University Press, 211–234.
- Wingfield J.C., Sapolsky R.M., 2003.** Reproduction and resistance to stress: when and how. *Journal of Neuroendocrinology* **15** : 711–724.
- Wingfield J.C., Maney D.L., Breuner C.W., Jacobs J.D., Lynn S., Ramenofsky M., Richardson R.D., 1998.** Ecological bases of hormone-behavior interactions: the ‘emergency life history stage’. *American Zoologist* **38** : 191–206.
- Winne C.T., Willson J.D., Andrews K.M., Reed R.N., 2006.** Efficacy of marking snakes with disposable medical cautery units. *Herpetological Review* **37** : 52–54.



- Woodley S.K., Moore M.C., 2002.** Plasma corticosterone response to an acute stressor varies according to reproductive condition in female tree lizards (*Urosaurus ornatus*). *General and Comparative Endocrinology* **128** : 143–148.
- Woodward C.J., Hervey G.R., Oakey R.E., Whitaker E.M., 1991.** The effects of fasting on plasma corticosterone kinetics in rats. *British Journal of Nutrition* **66** : 117–127.
- Wootton R.J., 1998.** *Ecology of teleost fishes* (2nd ed). London: Kluwer Academic Publishers.
- Worthman C.M., Kuzara J., 2005.** Life history and the early origins of health differentials. *American Journal of Human Biology* **17** : 95–112.
- Yasui Y., 1998.** The ‘genetic benefits’ of female multiple mating reconsidered. *Trends in Ecology and Evolution* **13** : 246–250.
- Zeh J.A., Zeh D.W., 2001.** Reproductive mode and the genetic benefits of polyandry. *Animal Behaviour* **61** : 1051–1063.
- Zera A.J., Harshman L.G., 2001.** The physiology of life history trade-offs in animals. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **32** : 95–126.
- Zhang Z., Schwartz S., Wagner L., Miller W., 2000.** A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational Biology* **7** : 203–214.
- Zuk M., McKean K.A. 1996.** Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *International Journal for Parasitology* **26** : 1009–1023.

ANNEXE 1 : Sélections de sites de pontes et conditions d'incubation

Les sites de ponte appropriés peuvent constituer une ressource rare pour la reproduction des ectothermes ovipares. En effet, des conditions microclimatiques favorables (thermiques et hydriques) peuvent avoir des conséquences dramatiques sur la qualité du développement. L'existence de site de pontes communautaires a fait l'objet d'un intérêt scientifique considérable avec plusieurs hypothèses alternatives (Blouin-Demers *et al.* 2004 ; Radder & Shine 2007).

Nous avons mis en évidence la mise en place rapide de sites de ponte communautaires avec une réponse dynamique suite à l'arrivée fortuite d'un nouveau support. A l'été 2006, un nombre important de pontes de lézards des murailles a été découvert dans un sac de sable sur le site du CEBC après la réalisation d'un chantier. A l'été 2007, un site de ponte artificiel a ainsi été créé afin de tester de façon expérimentale son utilisation comme site de ponte (Fig. 1).

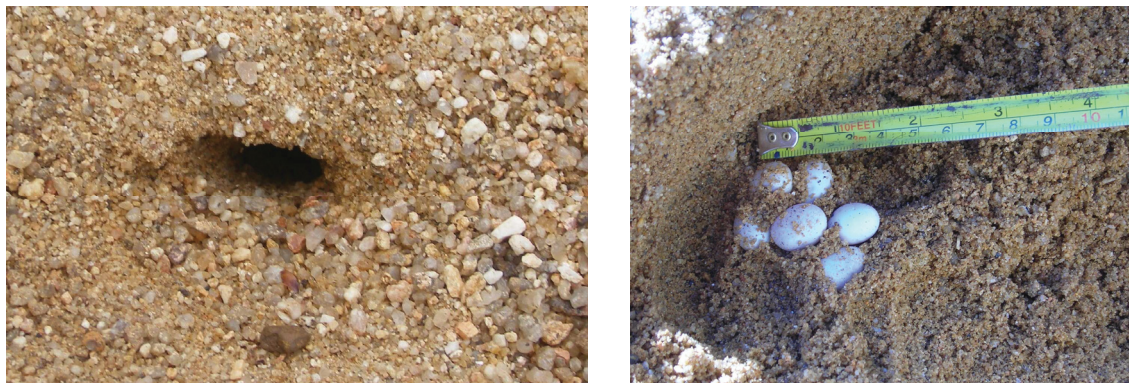


Figure 1 : A gauche : trace laissée dans le sable par une femelle après la ponte. A droite : découverte d'une ponte de 6 œufs.

Caractéristiques thermiques

Parallèlement, des loggers I-button (enregistreurs miniatures de température, Fig. 2) ont été placés à différentes profondeurs afin d'enregistrer les conditions thermiques d'incubation.



Figure 2 : iButton thermochron. Dimensions : 17mm de diamètre x 6 mm de haut. Poids : 4g. Précision : 0.5°C. Températures limites : -10 à +85°C. Chaque logger était entouré d'une gaine thermorétractable pour le protéger de l'humidité.

Nous avons classé les différentes journées en 2 catégories (froides ou chaudes) et représenté les cycles thermiques journaliers pour chaque classe de journée en fonction de la profondeur (0, 5, 10, 15 et 20 cm, Fig. 3).

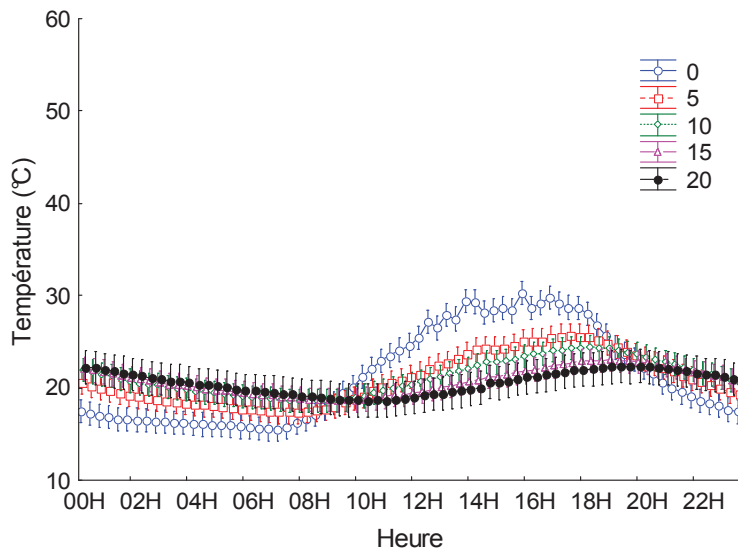
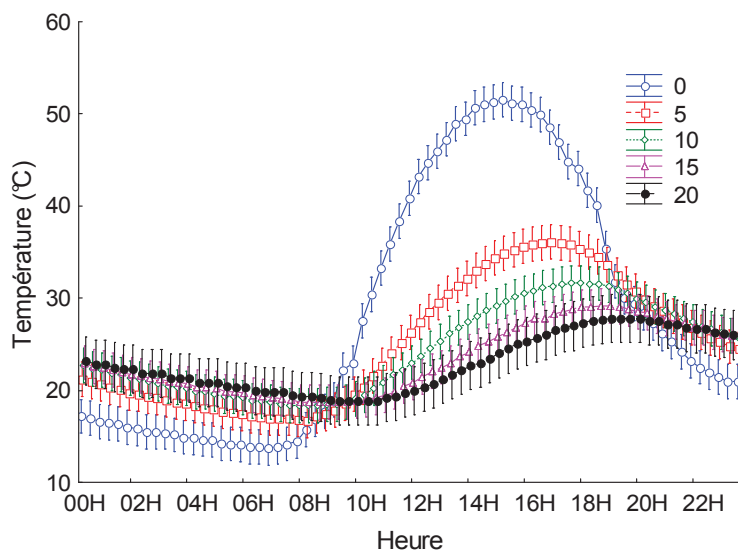
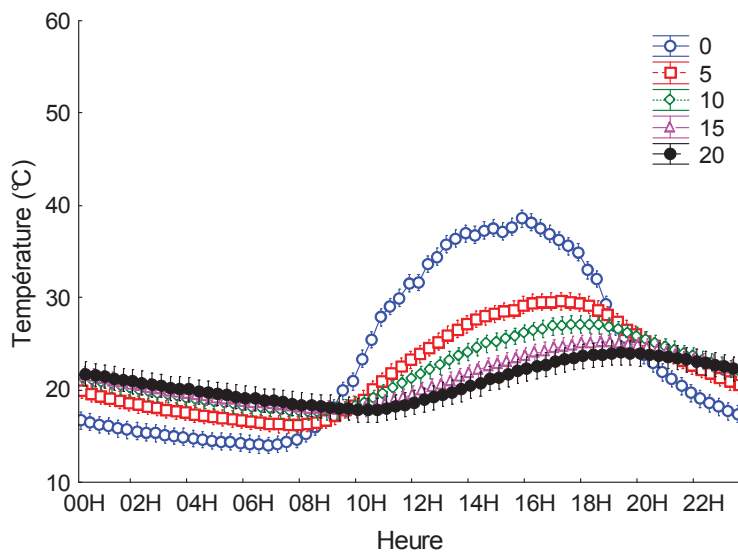


Figure 9: Cycles thermiques naturels journaliers dans un site de ponte en fonction de la profondeur. (A) Journées froides. (B) Moyennes journalières (C) Journées chaudes.



Ces résultats montrent que plus la profondeur de ponte augmente, plus la température maximale et les variations journalières sont faibles. Par ailleurs, l'hygrométrie (facteur également essentiel au bon développement des embryons) augmente avec la profondeur.

La profondeur moyenne des pontes récoltées était de 12cm et correspond certainement à un bon compromis entre une température d'incubation relativement élevée (tout en protégeant les œufs d'un éventuel pic de chaleur) et une hygrométrie favorable.

ANNEXE 2 : Planche de détermination du sexe

PLANCHE DE DETERMINATION DU SEXE DE *Podarcis muralis*



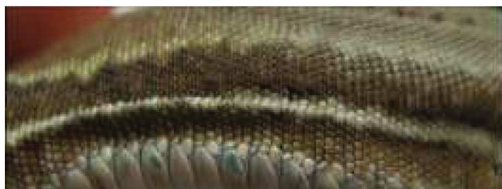
Dimorphisme de la base de la queue lié à la
présence d'hémipénis chez le mâle



<u>Scan de la femelle</u> <u>n°761 avec 27 rangées</u> <u>d'écailles ventrales</u>				<u>Scan du mâle n°1471</u> <u>avec 24 rangées</u> <u>d'écailles ventrales</u> <u>(on remarque la</u> <u>présence d'ocelles</u> <u>bleus)</u>	

Dimorphisme de la taille de la tête selon le sexe (celle
du mâle est plus massive)

Dimorphisme du motif sur les flancs



Dimorphisme des pores fémoraux

