

**UNIVERSITE PARIS XIII**

Ecole Doctorale Galilée

**THESE**

*pour obtenir le grade de*

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XIII**

Discipline : Ethologie

**Coévolution et reconnaissance sociale chez un parasite social et ses espèces hôtes :**

*Etude de la fourmi esclavagiste Myrmoxenus ravouxi et d'espèces sympatriques du genre Temnothorax*

*par*

**Olivier DELATTRE**

14 septembre 2012 devant le jury composé de :

Dominique Fresneau	Professeur Université Paris 13	Président
Jürgen Heinze	Professeur Université de Regensburg	Rapporteur
Alain Lenoir	Professeur Université de Tours	Rapporteur
Patrizia d'Ettorre	Professeur Université Paris 13	Examineur
Michel Isingrini	Professeur Université de Tours	Examineur
Pierre Jaisson	Professeur Université Paris 13	Examineur Directeur de thèse

**Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée (EA4443)**



## Remerciements

*Je tiens en tout premier lieu à remercier Pierre Jaisson, pour m'avoir permis d'effectuer cette thèse et, ce faisant, de mettre un pied dans un monde qui n'était pas à côté et qui m'a considérablement enrichi et émerveillé. Malgré les aléas que la recherche (et parfois la vie) vous réserve, il a toujours continué à soutenir cette thèse. Je l'en remercie sincèrement. Je le remercie également chaudement pour sa correction exhaustive de certains chapitres du présent manuscrit.*

*Bien évidemment, je remercie Jürgen Heinze, Alain Lenoir, Patrizia d'Ettorre et Michel Isingrini d'avoir accepté de siéger dans ce jury de thèse et de me faire l'honneur et le plaisir d'examiner mon travail.*

*Je remercie enfin Dominique Fresneau d'avoir accepté d'être le président de ce jury, et j'en profite pour saluer sa gentillesse et son humour. Sa curiosité intellectuelle fraîche et communicative a toujours stimulé le chercheur que j'ai essayé d'être. Son humanité m'a touché personnellement.*

*La fin d'une thèse est aussi l'occasion de remercier ceux qui vous ont formé durant votre parcours étudiant, aussi je remercie plus particulièrement Claude Baudoin et Patrick Gouat pour avoir été ces formateurs. Ils n'étaient bien sûrs pas seuls pour accomplir cette tâche titanesque et je n'oublie pas toutes ces personnes. Merci, vous faites du bon boulot.*

*Un laboratoire, c'est aussi une équipe ; et je crois que l'aboutissement d'une thèse, humble ou pas, « réussie » ou pas, est la consécration du travail d'une équipe de recherche toute entière, et doit d'ailleurs l'être.*

*Je tiens à remercier chaleureusement Monique, Catherine et Alain qui permettent que nos carrés tournent rond. Alain, parler avec toi fait voyager ; et partager nos albums photos permet de ne pas oublier que la vérité est aussi ailleurs. Catherine, merci d'avoir toujours géré les missions à haute vitesse de dernière minute ! Monique, tu nous es tout simplement indispensable. Il y aurait tellement de raisons de te dire merci qu'une thèse n'y suffirait sans doute pas.*

*J'adresse bien sûr ma sympathie à tous mes collègues qui, d'une manière ou d'une autre, ont permis de faire progresser l'étudiant, et donc la recherche. Plus particulièrement, je remercie sincèrement Stéphane et Nicolas d'avoir été ces référents et ces correcteurs qui, à leur temps défendant, m'ont permis d'avancer sur les traces des parasites sociaux. Je vous dois énormément. Je peux pas dire moins, vous pouviez difficilement faire plus...*

*Je remercie aussi Chantal et Jean-Christophe pour ces deux semaines de biomol qui ont duré plus qu'on ne le pensait, pour les résultats que l'on sait... Mais surtout pour leur sourire et leur disponibilité. J-C, je te souhaite vraiment le meilleur, t'es un type bien.*

*Une pensée toute particulière pour Manu, mon « Saturnin Lecouteau » à moi, ce drôle d'ultra-terrestre pas si perdu que ça dont la compagnie, l'amitié et l'aide sont certainement l'une des plus belles réussites de cette thèse. Je ne serai jamais loin, tu le sais.*

*Il serait difficile d'oublier Ronara, mon alter-ego féminin (et brésilien), rencontrée par surprise assise au bureau d'en face et devenue une amie de par son intégrité, son humanité et sa bienveillance (et son sale caractère, aussi). J'espère qu'on ne se perdra pas...*

*Un big up pour les gamergates du 6<sup>ème</sup> : Boris, Chloé, Marjo, Pierre, Sérafino. Vous êtes la nouvelle vague, enjoy the ride ! Je vous souhaite beaucoup de réussite, un peu moins de loose que moi, et tant qu'à faire beaucoup de bonheurs dans la vie, la vraie.*

*Une pensée également pour Marie-Claire et Paul (même si t'es vraiment un relou quand tu t'y mets), qui ont toujours animé l'étage des monstres et de qui je garde de très bons souvenirs. On s'est quand même bien marré.*

*A l'heure où ces pages se tournent, je pense bien sûr à Rum, qui a assuré le passage de relais et qui a toujours été là pour aller cueillir des fourmis, moyennant chocolat. Ta myrmécochance est insolente, mais tu sais ce qu'on dit ? On a que ce qu'on mérite.*

*Enfin, je remercie Thibaud Monnin pour sa gentillesse et sa disponibilité...et pour le sauvetage photo ! Chose promise, chose due.*

-----

*Comment ne pas remercier mes parents, tant il est vrai que s'il y a une chose dont je n'ai jamais eu à me plaindre, c'est de leur amour et de leur soutien ?... Aucune phrase, aussi jolie soit-elle, ne permettra de faire état de ce que je leur dois.*

*Je pense évidemment à mon incroyable famille, qui m'a toujours entourée de son affection, depuis mes premiers souvenirs jusqu'à aujourd'hui. J'ai de la chance d'être né parmi vous.*

*Mes sentiments vont bien sûr à Samantha, mon indéfectible première supportrice. C'est une chance et c'est un cadeau qui n'a pas de prix ; et qui t'a pourtant coûté cher. J'en mesure l'importance. Merci d'avoir toujours été là.*

*Je dédicace ce travail à tous ceux qui ont eu et ont encore un rôle dans ce que je suis ou dans ce que j'ai évité d'être :*

*-A Juliana, parce que depuis nos tours de béton en flammes, on en a fait du chemin... Et je ne sais pas si t'as remarqué mais en un sens, on se tient toujours la main.*

*-A Pierrot, mon frère d'âme et d'armes, parce que depuis plus de vingt ans et tous ces évènements, notre lien ne s'est jamais distendu, quelle que soit la distance. C'est un bien précieux et je suis heureux de t'avoir croisé sur les voies de l'Espérance... Je n'aurais pas voulu que ce soit autrement.*

*-A Tony, qui s'est imposé comme ami au fil de ces années par sa disponibilité et son épicurisme, et avec qui j'ai appris une leçon très importante : toujours rester sur ses gardes !*

*-A Ludo, parce que je sais que tu sais. Tu as ouvert le chemin, mais ne compte pas sur moi pour vendre mon âme à Philip ou Morris ! On se donne rendez-vous pour les prochains tours de piste, mon ami, ici ou ailleurs.*

*-A Nico H., qui prouve que l'homme descend du Toon, et qui en plus de ce don extraordinaire pour trouver des raccourcis qui n'en sont pas, a également un talent remarquable pour savoir être un ami, au sens le plus noble du terme. Je sais que t'es là. J'espère que tu sais que je le suis aussi. Mec, cette tranchée, on se la refait quand tu veux.*

*-A Seb : t'as vu, encore un ballon au fond de la cage ! Je sais... Il est temps que j'apprenne à courir aussi vite que toi mais si tu sais que ce qui compte, c'est l'endurance et la volonté.*

*-A Chloé et Mathias (et Adèle), Laëti et Yann (et Miya et Mystère), mes bobos à moi qui n'ont pas oublié d'être des gens biens et dont l'amitié m'enrichit à chaque fois que j'ai l'occasion d'en profiter.*

*-A Sylvain, qui a toujours eu une place particulière dans ma vie, comme dans celle de mes parents.*

*-A Sabine, à qui il serait difficile de ne pas consacrer un aboiement. Tu as toujours été une sœur et un exemple. Depuis les rires partagés de nos parents jusqu'aux premières expériences d'éthologie qu'un certain dieu descendu du Valhalla nous prodigua, nous tâchons tous les deux de nous accomplir dans nos vies et dans notre relation avec le vivant. Nos chemins ne se sont jamais séparés et grâce à ça, je suis vraiment moins seul. Merci. Tu es aussi la « mère » de mon plus merveilleux fardeau. Merci pour ça aussi, tant il y a un « avant » et un « après ».*

*-A Wotan (justement), qui n'aura pas toujours facilité le maintien de mon taux de cortisol à un niveau soutenable mais qui pourtant me rappelle chaque jour qu'il y a tant à dire sur les relations interspécifiques et sur leur place dans l'évolution des espèces...*

*- A tous ceux qui sont partis et que je préférerais voir ici...*

-----

*Enfin, je dédie les lignes qui suivent -fruit d'un cheminement qui n'est pas que le mien- à Camille et Michel, ensemble quelque part, parce que les sacrifices des uns sont parfois le ferment des bonheurs et des réussites des autres...*

# TABLE DES MATIERES

<b>Introduction</b>	<b>12</b>
<b>1- Le parasitisme social</b>	<b>13</b>
1.1/ L'eusocialité et le parasite	13
1.2/ Les différentes formes du parasitisme social	16
<b>2- L'esclavagisme</b>	<b>20</b>
2.1/ La règle d'Emery et l'origine de l'esclavagisme	20
2.2/ Le cycle de vie de la colonie esclavagiste	23
2.3/ Entrer dans la « forteresse »	26
<b>3- L'interaction hôte-parasite : Coévolution, adaptations et contre-adaptations</b>	<b>31</b>
3.1/ La coévolution	31
3.2/ Caractéristiques des espèces esclavagistes	32
3.3/ Impact de l'esclavagisme sur les populations hôtes	35
3.4/ Sélection et « résistance » des espèces hôtes	36
<b>4- Hypothèses de travail, intérêts du paradigme</b>	<b>39</b>
<b>Chapitre I: Présentation des espèces</b>	<b>45</b>
<b>1- Phylogénie des espèces</b>	<b>46</b>
<b>2- Ecologie et comportement</b>	<b>49</b>
2.1/ La fourmi esclavagiste <i>Myrmoxenus ravouxi</i>	49
2.2/ Les espèces hôtes : <i>Temnothorax rabaudi</i> et <i>Temnothorax unifasciatus</i>	53
2.3/ Les espèces non-hôtes : <i>Temnothorax nylanderi</i> et <i>Temnothorax parvulus</i>	56
<b>3- Récolte et méthode d'élevage</b>	<b>59</b>

## Chapitre II: La reconnaissance sociale chez la fourmi

**esclavagiste *M. ravouxi***—————63

*Résumé de l'article 1*—————64

### 1- Article 1: Opportunist slave-making ants *M. ravouxi* discriminate

**different host species**—————66

1.1/ Abstract—————67

1.2/ Introduction—————68

1.3/ Methods—————71

1.3.1) Species—————71

1.3.2) Experimental design ———71

1.3.3) Behavioral observations—————72

1.4/ Results—————73

1.4.1) Antennations—————73

1.4.2) Contacts—————74

1.4.3) Bites—————75

1.5/ Discussion—————76

1.6/ Acknowledgments—————80

1.7/ References—————81

## Chapitre III: Effet de la pression du parasite sur différentes espèces

**sympatriques, hôtes et non-hôtes**—————86

*Résumé de l'article 2*—————87

**1- Article 2: Do host species evolve a specific response to slave-making ants?**—————89

1.1/ Abstract—————90

1.1.1) Background	90
1.1.2) Results	90
1.1.3) Conclusions	90
1.2/ Introduction	92
1.3/ Results	95
1.3.1) Cuticular hydrocarbon profiles	94
1.3.2) Agonistic response of the recipient colonies	96
1.3.2.1. Bites	96
1.3.2.2. Bites (normalized by chemical distance)	98
1.3.3) Ejections	100
1.4/ Discussion	101
1.5/ Conclusions	106
1.6/ Material and Methods	106
1.6.1) Study species	106
1.6.2) Characterizing dissimilarity between cuticular hydrocarbons profiles	108
1.6.3) Behavioral observations	109
1.6.3.1. Bites	110
1.6.3.2. Ejections	111
1.7/ Acknowledgments	111
1.8/ Additional Files	112
1.9/ References	114

## **Chapitre IV: Effet du parasitisme social sur l'évolution de la tolérance**

**au couvain** 121

*Résumé de l'article 3* 122



## **1- Article 3: Social parasite pressure affects brood discrimination**

### **of host species in *Temnothorax* ants**—————125

1.1/ Abstract	126
1.2/ Introduction	127
1.3/ Material and Methods	131
1.3.1) Ethics Statement	131
1.3.2) Species	131
1.3.3) Behavioural assays	133
1.3.4) Statistical Methods	134
1.4/ Results	135
1.4.1) Agonistic Behaviours	135
1.4.2) Brood Grooming	137
1.5/ Discussion	138
1.6/ Conclusions	143
1.7/ Acknowledgements	143
1.8/ References	144

## **2- Comparaison de la tolérance au couvain hétérocolonial**

### **d'ouvrières esclavagistes et esclaves**—————150

2.1/ Introduction	150
2.2/ Matériel et Méthodes	153
2.2.1) Espèces	153
2.2.2) Protocole expérimental	153
2.2.3) Méthode statistique	154
2.3/ Résultats	155
2.4/ Discussion	157

## **Chapitre V : Suivi d'adoptions expérimentales chez des espèces**

**hôtes et non-hôtes de *M. ravouxi* ————— 162**

### **1- Importante mortalité des pupes de *M. ravouxi* dans des colonies**

**libres hôtes et non-hôtes sympatriques ————— 163**

1.1/ Introduction ————— 163

1.2/ Matériel et Méthodes ————— 165

1.3/ Résultats ————— 166

1.4/ Discussion ————— 167

**Chapitre VI: Discussion générale ————— 172**

**1- La « faille » de l'apprentissage ————— 173**

### **2- L'impact de l'esclavagisme sur les mécanismes de reconnaissance**

**des espèces sympatriques de *M. ravouxi* ————— 175**

**3- La reconnaissance sociale chez *M. ravouxi* : un modèle original ? ————— 179**

**4- La communauté d'espèces ————— 186**

**5- L'évolution du parasitisme social et de la virulence parasitaire ————— 188**

**6- Coévolution et spéciation ————— 193**

**7- Conclusion générale ————— 194**

**Bibliographie ————— 196**



# **Introduction**

# 1- Le parasitisme social

## 1.1/ L'eusocialité et le parasite

Les sociétés eusociales, dont les principaux représentants sont les insectes, particulièrement chez les hyménoptères sociaux (fourmis, abeilles, guêpes) et les isoptères (termites), forment des entités généralement fermées dans lesquelles les mécanismes de reconnaissance coloniale jouent le rôle crucial de première ligne de défense face aux concurrents, aux prédateurs et aux parasites. L'une des principales fonctions de cette reconnaissance coloniale est de préserver l'intégrité de la société, en réservant notamment le bénéfice des comportements altruistes à ses membres. Cet altruisme, est à l'origine de la formidable réussite écologique des insectes sociaux. Dans ces sociétés, jusqu'à plusieurs millions d'individus peuvent s'associer, notamment chez les fourmis et les termites, et investir l'essentiel de leurs ressources propres dans l'élevage et les soins consacrés à des congénères apparentés. Wilson (1971) proposa que l'eusocialité soit définie d'après trois critères que sont :

*-Une division du travail incluant la reproduction assurée par certaines femelles, les autres étant partiellement ou complètement stériles.*

*-Le chevauchement de deux ou plusieurs générations au sein d'une même société.*

*-La coopération des membres de la société dans les soins aux jeunes.*

Ces critères mettent en relief l'importance de la coopération dans ces sociétés comme mode de structuration sociale et comme avantage adaptatif dans la compétition pour l'acquisition des ressources de l'environnement.

L'eusocialité n'est apparue au cours de l'évolution que chez des groupes animaux où des comportements parentaux étaient déjà établis. Chez les fourmis, cette route subsociale aurait été tracée par des individus restant au sein du nid maternel au lieu de se disperser une fois à maturité, et qui auraient participé aux soins envers leurs frères et sœurs plus jeunes (Wilson 1975a). Plusieurs auteurs (Seger 1991 ; Jaisson 1993) ont également fait remarquer que les femelles de tous les hyménoptères sociaux élevaient leur progéniture au sein d'un nid et qu'elles étaient pourvues d'un aiguillon leur permettant de fournir à celle-ci des proies et de les protéger plus efficacement.

Si ces éléments doivent être considérés comme des pré-requis à l'évolution de la socialité chez les insectes, notamment chez les fourmis, différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer comment une structure eusociale altruiste a pu être sélectionnée et maintenue chez ces dernières. Nous n'en ferons pas le détail, mais plusieurs auteurs ont proposé l'éventualité d'une manipulation parentale de femelles (Michener & Brothers 1974) pouvant prendre une forme parasite dans le cas d'une substitution des œufs de leurs filles par les leurs (Charnov 1978 ; Craig 1979). Des études plus récentes se sont intéressées au rôle des bactéries endosymbiotes sur le comportement reproducteur de leurs hôtes, qui pourrait accroître leur propre propagation en contraignant les femelles à produire des mâles et donc à rester au sein du nid pour élever leur propres sœurs (Hurst 1997 ; Wenseleers *et al.* 1998). L'apparement généralement élevé qui relie les membres des sociétés d'hyménoptères, du fait de la reproduction haplodiploïde (Hamilton 1964), a longtemps été considéré comme un trait majeur dans l'explication de l'apparition à différentes reprises de sociétés altruistes eusociales d'hyménoptères. Bien que cette hypothèse reste pertinente dans le cas de sociétés monogynes, le taux d'apparement moyen de bon nombre de colonies polygynes et/ou polyandres rend plus difficile l'explication du

maintien d'une organisation eusociale (Keller & Fournier 2002), même s'il est vrai que polygynie et polyandrie apparurent probablement plus tard dans l'histoire évolutive des insectes sociaux (Crozier & Pamilo 1996 ; Hughes *et al.* 2008). De plus, différents animaux diplodiploïdes (arthropodes ou vertébrés) présentent une organisation eusociale (Jarvis 1981 ; Burda *et al.* 2000 ; Johns *et al.* 2009), alors que dans le même temps tous les animaux haplodiploïdes n'atteignent pas le stade de l'eusocialité, comme c'est le cas pour les cochenilles, par exemple. Différents auteurs (Alexander 1974 ; Anderson 1984) ont donc remis en question l'importance de l'haplodiploïdie dans l'évolution de l'eusocialité. Il existe de fait certainement plusieurs voies possibles qui abaissent le seuil de probabilité d'apparition de l'eusocialité.

La question du rôle de la sélection de parentèle dans l'apparition de l'eusocialité a elle aussi récemment fait l'objet d'un débat animé entre les auteurs (Wilson & Hölldobler 2005 ; Nowak *et al.* 2010, 2011 ; et Foster *et al.* 2006 ; Abott *et al.* 2011 ; Boomsma *et al.* 2011 ; Ferriere & Michod 2011 ; Herre & Wcislo 2011 ; Strassmann *et al.* 2011). Aujourd'hui, si tous s'accordent pour admettre que l'haplodiploïdie n'explique pas à elle seule l'apparition de l'eusocialité, nombre d'auteurs rappellent qu'un apparemment important et la construction d'un nid combiné à des contraintes écologiques et/ou des manipulations parentales, sont des pistes satisfaisantes pour expliquer l'apparition de comportements altruistes au cours de l'évolution. Boomsma (2009), notamment, souligne que l'eusocialité a pu se développer à partir de structures familiales simples, monogames et monoandres (Hughes *et al.* 2008 ; Cockburn 2010). Ratnieks et Wenseleers (2008) quant à eux, ont mis en avant le rôle clé qu'a pu jouer la manipulation parentale, via la coercition, pour favoriser la sélection de comportements altruistes dans les sociétés d'insectes (voir aussi Lehmann & Perrin, 2002).

Quoi qu'il en soit, les eusociétés, pouvant compter jusqu'à plusieurs millions d'individus, sont largement distribués dans la biosphère. Ainsi, la famille des *Formicidae* compte à ce jour plus de 12000 espèces, réparties en 21 sous-familles et 276 genres (Bolton 2003). Les fourmis sont un taxon ancien apparenté aux guêpes *Vespidae* (Baroni Urbani *et al.* 1992 ; Baroni Urbani 2000), dont la plus ancienne forme connue date d'une centaine de millions d'années (Nel *et al.* 2004) et pourrait être apparu au début du Crétacé (Wilson & Hölldobler 2005). Elles ont largement colonisé les différents biomes terrestres, avec une biomasse dépassant même celle des vertébrés terrestres dans les écosystèmes tropicaux (Hölldobler & Wilson 1990, 1996). Le succès écologique impressionnant des sociétés d'insectes en fait une ressource trophique intéressante car abondante pour les nombreux virus, bactéries et champignons qui les parasitent (Schmid-Hempel 1998), et les vertébrés qui s'en nourrissent. De plus, l'organisation sociale des fourmis peut être elle-même « parasitée » par d'autres fourmis (Wilson & Hölldobler 1990). Ainsi, certaines espèces ont en effet développé la capacité de détourner à leur profit les comportements altruistes prodigués dans les sociétés eusociales. Cette type particulier de parasitisme est appelé « parasitisme social » (Buschinger 1986).

### **1.2/ Les différentes formes du parasitisme social**

Le parasitisme social est défini par l'exploitation des ressources d'un hôte -à l'échelle d'une société entière- au profit d'une autre société dite « parasite », qui se révèle dépendante de la première (Hölldobler & Wilson 1990). Cette société parasite utilisera pour se développer les ressources que constituent à la fois l'habitat et les membres de la société hôte. On trouve des



exemples notables de parasitisme social chez les fourmis (Hölldobler & Wilson 1990), qui concerne environ deux cents espèces, soit approximativement 2% des espèces connues.

Il existe différents types d'interactions inter-myrmécéennes conduisant à l'existence de nids mixtes, mais nous nous bornerons à suivre la classification de Hölldobler et Wilson (1990) et de Buschinger (1990) pour ce qui relève du parasitisme social tel précédemment défini.

Ainsi, la xénobiose renvoie à l'existence de sociétés mixtes où les parasites vivent à l'intérieur même de la colonie de leur hôte, exploitant ses ressources mais conservant leur couvain dans des chambres séparées (Buschinger 1990). Les espèces xénobiontes sont dépendantes de leur hôte pour leur alimentation, et sollicitent les régurgitations trophallactiques des ouvrières hôtes grâce à des comportements spécifiques, tout en réduisant l'agressivité de ces dernières par un camouflage chimique parfois une allomone d'apaisement (Lenoir *et al.* 1992 ; Errard *et al.* 1997). On trouve des exemples de fourmis xénobiontes dans le genre *Formicoxenus*, qui parasite certaines espèces du genre *Myrmica*. Les jeunes parasites disposent de peu d'hydrocarbures cuticulaires à l'émergence, mais les acquièrent peu après et conservent cette signature coloniale mixte homogène par la suite grâce aux toilettages mutuels, qui peuvent représenter 45% de leur temps d'occupation à l'intérieur de la colonie. Ce mimétisme chimique permet aux *Formicoxenus* de ne pas être agressés au sein de la colonie hôte (Lenoir *et al.* 1997).

Les parasites sociaux dits « temporaires » ne s'appuient sur la ressource que constitue la société hôte qu'au moment de la fondation de la colonie. Ces espèces sont en fait devenues incapables de fonder une nouvelle colonie par elles-mêmes. La reine parasite, de petite taille, élimine la reine hôte avant de débiter le cycle de ponte. Les œufs, soignés par les ouvrières hôtes, arriveront plus aisément à émergence, et remplaceront peu à peu l'espèce hôte au sein de

la colonie. Les ouvrières de l'espèce parasite se révéleront capables d'assurer toutes les tâches de la vie coloniale, des soins au couvain au fourragement. Chez *Formica sanguinea*, la fondation requiert une colonie hôte. Mais la lignée esclavagiste pourra *in fine* remplacer complètement celle de ses esclaves (Ito & Higashi 1990 ; Hölldobler & Wilson 1990 ; Buschinger 2009). Les ouvrières de cette espèce restent donc capables de réaliser les tâches quotidiennes de la vie coloniale, jusqu'à prendre soin de leur propre couvain sans l'aide d'ouvrières esclaves. Certaines espèces réalisent néanmoins des raids réguliers, moins organisés cependant que les espèces dites « esclavagistes » (Mori *et al.* 2000a, 2001).

Ces dernières, en effet, exploitent en permanence la force de travail que constituent les ouvrières de l'espèce hôte (Wilson 1975b ; Buschinger 1986 ; d'Ettorre & Heinze 2001). Elles vivent donc au sein même de ces colonies, mélangeant leur couvain à celui de leur hôte. L'esclavagisme chez les fourmis ne concerne que quelques dizaines d'espèces (d'Ettorre & Heinze 2001). Le plus souvent, leur répertoire comportemental est appauvri, au contraire des parasites sociaux temporaires. Elles sont très adaptées à la conduite de raids qui permettent de renouveler périodiquement la population d'ouvrières esclaves (Alloway 1979) vivant dans leur colonie. Cette catégorie de parasite nous a plus particulièrement intéressé, du fait de la pression de sélection qui s'exerce ainsi sur les espèces hôtes, faisant évoluer les mécanismes de reconnaissance autant chez le parasite que chez les espèces hôtes, dont le succès reproducteur est largement compromis par les raids des esclavagistes (Foitzik & Herbers 2001; Hare & Alloway 2001; Johnson & Herbers 2006).

Enfin, certaines espèces sont spécialisées à l'extrême dans l'exploitation de leur hôte : ce sont les inquilines. Les reines inquilines épargnent la reine hôte et vivent à ses côtés, bénéficiant d'un apport constant d'ouvrières « esclaves ». Produisant essentiellement des sexués, ces

parasites ne développent parfois même plus de sociétés au sens propre, adoptant un mode de vie parasitaire quasi-individuel, en s'intégrant totalement à une autre société. Dans sa forme la plus extrême, l'espèce parasite est limitée à ses formes sexuées et conserve parfois même la reine hôte (Stumper & Kutter 1950 ; Sanetra & Buschinger 2000).

## 2- L'esclavagisme

### 2.1/ La règle d'Emery et l'origine de l'esclavagisme

Le myrmécologue Carlo Emery formula en 1909 une hypothèse que nous connaissons aujourd'hui sous le nom de « règle d'Emery », proposant que les espèces esclavagistes aient évolué par spéciation sympatrique à partir de leur espèce hôte ou au voisinage de celle-ci ; ou bien dans un scénario alternatif via une phase allopatrique suivie d'une phase sympatrique. En effet, deux sous-familles à elles seules regroupent toutes ces espèces (Hölldobler & Wilson 1990). Il s'agit des *Formicinae* (genres *Rossomyrmex*, *Polyergus* et *Raptiformica* de la tribu des formicini) et des *Myrmicinae* (genres *Chalepoxenus*, *Myrmoxenus* (synonyme : *Epimyрма*), *Harpagoxenus*, *Leptothorax*, *Protomognathus* et *Strongylognathus* de la tribu des leptothoracines.

L'évolution de stratégies parasites chez des espèces différentes appartenant à des sous-familles distinctes montre que l'esclavagisme a pu apparaître de manière indépendante et qu'il est peu probable que cette évolution ait suivi le même scénario évolutif dans tous les cas. La proximité constatée des espèces esclavagistes et des espèces hôtes au niveau de la phylogénie moléculaire (Sumner *et al.* 2004 ; Smith *et al.* 2007) est cohérente avec l'hypothèse d'une spéciation sympatrique à partir d'espèces proches (Savoilainen & Vepsäläinen 2003), même si des exceptions existent (Mashwitz *et al.* 2000). Logiquement, il paraît plus parcimonieux de penser que les espèces parasites ont pu évoluer phylogénétiquement à partir d'espèces souches devenues leurs hôtes, partageant des similitudes dans le cycle de vie, la communication,

l'alimentation ou l'élevage des jeunes. La proximité phylogénétique rendrait moins difficile pour le parasite le fait de duper la reconnaissance chimique spécifique et coloniale de l'hôte pour l'exploiter efficacement. De plus, certaines fourmis pratiquent le parasitisme intraspécifique, comme dans le genre *Myrmecocystus* (*Formicinae* ; cf. Hölldobler 1976 ; Bartz & Hölldobler 1982 ; Kronauer *et al.* 2003). Les colonies matures de *Myrmecocystus mimicus* et *Myrmecocystus depilis* attaquent et pillent les colonies voisines moins développées. Kronauer *et coll.* (2003) ont montré que les colonies de *M. depilis* pouvaient contenir des ouvrières de l'espèce proche *M. mimicus*, dont elle se serait récemment séparée par spéciation allopatrique. Cet exemple renseigne sur les modalités d'une transition possible du parasitisme intraspécifique au parasitisme interspécifique. Néanmoins, il s'agit ici de parasitisme facultatif, alors que les fourmis esclavagistes sont normalement dépendantes de leurs espèces hôtes.

Les fourmis esclavagistes ont été essentiellement recensées dans les régions tempérées ou froides (Kutter 1969; Hölldobler & Wilson 1990). Ce fait, mis en corrélation avec le mode de fondation dépendante de la reine parasite, a conduit à penser que le parasitisme social aurait été favorisé par le coût élevé de la fondation solitaire dans ces zones. La phase d'hibernation implique de résister aux rigueurs climatiques, ce que ne parviennent pas à faire toutes les femelles reproductrices n'ayant pas fondé une colonie suffisamment tôt (Heinze 1993). De plus, ces « gynes » doivent trouver un site de nidification adapté à la fondation tout en évitant les prédateurs. Or, les milieux tempérés et froids proposent des conditions de vie plus variables que les milieux plus tamponnés, comme les forêts tropicales. Aussi, la découverte d'un site de nidification protégeant efficacement contre les rigueurs climatiques peut s'avérer plus difficile.

En fait, plusieurs hypothèses, pas forcément exclusives (cf. d'Etterre & Heinze 2001), permettent aujourd'hui de proposer de retracer un scénario évolutif qui a pu conduire à l'apparition du parasitisme social.

La première a son origine dans les réflexions de Darwin (1859), qui proposa que les ancêtres des espèces esclavagistes puissent avoir été des prédateurs de leurs futures espèces hôtes. Leurs proies, ramenées au nid, émergeant prématurément, auraient contribué au succès reproductif de la colonie prédatrice, amorçant une sélection de traits relatifs au parasitisme. Par exemple, chez le parasite temporaire *Formica sanguinea*, les ouvrières ramènent également des ouvrières tuées provenant de la colonie cible lors des raids (Czechowski & Rotkiewicz 1997 ; Mori *et al.* 2001). De fait, certaines espèces mangent effectivement le couvain de leur espèce hôte (Buschinger & Pfeifer 1988 ; Mori *et al.* 2000a), mais les parasites sociaux ne sont pas systématiquement apparus dans les taxons myrmécophages, tandis que les taxons les plus riches en espèces esclavagistes semblent ne jamais consommer leurs hôtes (Hölldobler & Wilson 1990).

La seconde hypothèse est celle de la compétition territoriale (Wilson 1975 ; Alloway 1980 ; Stuart & Alloway 1982 ; Pollock & Rissing 1989). La plupart des espèces parasites se retrouvent dans les zones tempérées ou froides, où les sites de nidification et les ressources sont plus rares qu'en milieu tropical. Aussi, des invasions opportunistes et sporadiques entre colonies homospécifiques en compétition auraient pu favoriser la sélection de stratégies parasitaires (Foitzik & Heinze 1998). De là, les différentes lignées se seraient isolées peu à peu au plan reproductif.

La troisième hypothèse (Buschinger 1970) voit dans l'existence de sociétés polygynes polydomiques (colonie comportant plusieurs nids) une alternative intéressante pour une piste

évolutive ayant conduit au parasitisme social. Ce dernier pourrait en effet avoir émergé par spéciation sympatrique à partir des fragments de ces sociétés polydômes. Dès lors, le comportement de transport de couvain de nid à nid serait devenu une forme primitive de raid à l'endroit des colonies voisines. Pourtant, de nombreuses espèces esclavagistes sont monogynes et vivent dans des colonies monodomes. L'hypothèse pourtant séduisante de Buschinger ne peut être considérée pour toutes les espèces esclavagistes connues car il aurait fallu que toutes ces espèces aient perdu le trait de la polygynie.

Enfin, certains auteurs ont proposé que des espèces parasites aient pu apparaître via la sélection de reines plus petites au sein de colonies polygynes (Hora *et al.* 2005 ; Vepsalainen *et al.* 2009 ; Lenoir *et al.* 2011). Ces reines, dites microgynes, sont spécialisées dans la production de sexués et empruntent de facto le chemin du parasitisme social. Ce phénomène a pu être favorisé par l'« assortative mating », où les individus tendent à se reproduire avec d'autres semblables à eux-mêmes (Laland 1994 ; McKinnon *et al.* 2004 ; Kozak *et al.* 2011). Il semble donc aujourd'hui prudent de penser que l'esclavagisme résulte d'une combinaison de différentes voies évolutives et/ou selon des modalités divergentes selon les espèces (Stuart & Alloway 1983 ; Topoff 1990).

Si le cycle de vie de ces espèces est comparable, leurs stratégies comportementales peuvent être d'une étonnante diversité (Buschinger 1986).

## **2.2/ Le cycle de vie de la colonie esclavagiste**

Le cycle de vie des espèces parasites esclavagistes débute par l'entrée d'une reine nouvellement fécondée à l'intérieur d'une colonie hôte, dont elle usurpera le rôle de la reine après l'avoir éliminée. Chez différentes espèces, dont *Myrmoxenus ravouxi*, la reine parasite

s'agrippe à la reine hôte et « l'étrangle » peu à peu (Buschinger 1986). Ce comportement peut durer plusieurs semaines. Lorsque cette dernière meurt car privée de subsistance, la reine parasite a déjà acquis par transfert l'odeur coloniale et peut se consacrer à la production de sa propre descendance.



**Fig. 1.** « Etranglement » d'une reine hôte *T. unifasciatus* par une reine parasite *M. ravouxi* (photo Rumsaïs Blatrix).

La gyne semble profiter de la diapause hivernale pour pénétrer au sein d'une colonie dont les ouvrières sont moins actives (Buschinger 1986) et dispose également d'adaptations chimiques qui vont lui permettre d'usurper la place de la reine hôte (Topoff *et al.* 1988 ; Mori *et al.* 1995, 2000b). Ainsi, d'Ettoire *et al.* (2000) ont pu démontrer que les reines de certaines espèces utilisent des molécules pouvant agir comme répulsif pour l'espèce hôte lors de l'invasion, de



même que d'autres études ont pu montrer que les reines disposaient d'une signature chimique plus faible et mimétique (d'Ettorre *et al.* 1998), employant également les sécrétions de leur glande de Dufour comme allomone d'apaisement (Mori *et al.* 2000b). Une fois intégrée à la colonie hôte, la reine parasite pondra son propre couvain. Celui-ci sera soigné par les ouvrières hôtes, qui, dupées, deviennent les « esclaves » de la lignée parasite. Ce type de scénario pose des questions fascinantes sur les stratégies comportementales et les adaptations physiologiques de ces parasites sociaux (Lenoir *et al.* 2001). Ainsi, certaines études ont démontré que les reines parasites *Polyergus breviceps* et *Polyergus rufescens* disposaient d'une glande de Dufour hypertrophiée, dont la taille diminuait une fois l'intégration de la reine parasite réussie. Plusieurs auteurs, dont Topoff *et al.* (1988), Mori *et al.* (2000b, 2000c) et Visicchio *et al.* (2000) ont proposé et démontré que le contenu de cette glande agissait comme une allomone d'apaisement sur les ouvrières de l'espèce hôte, dont les comportements agonistiques diminuent. D'autres études (d'Ettorre *et al.* 2000) ont conduit à penser que cette allomone, probablement un ester (le decyl butanoate), agirait comme répulsif sur les ouvrières de l'espèce hôte. Des exemples similaires se retrouvent chez les *Myrmicinae*, dont *Harpagoxenus sublaevis* et *Doronomyrmex kutteri* (Allies *et al.* 1986).

Le stock d'esclaves est renouvelé par les ouvrières esclavagistes grâce à des raids périodiques, à l'occasion desquelles elles pillent le couvain des colonies voisines de l'espèce hôte. A leur éclosion, ces nouvelles esclaves assureront la maintenance du nid parasite ainsi que les tâches essentielles de fourragement et de soins aux jeunes. Les raids s'organisent le plus souvent en quatre temps (Buschinger *et al.* 1980). D'abord, des ouvrières parasites éclaireuses sortent de leur colonie et prospectent alentour à la recherche de colonies hôtes. Elles rentrent

ensuite à leur nid d'origine et y initient -via différentes modalités de recrutement- une attaque de la colonie cible.

Ainsi, certaines espèces telles que *Harpagoxenus sublaevis* ou *Chalepoxenus muellerianus* pratiquent un recrutement individuel par « *tandem running* » où l'ouvrière parasite recruteuse revient à plusieurs reprises à son nid pour guider ses sœurs vers la colonie visée (Buschinger *et al.* 1980). L'attaque est lancée une fois que la masse critique est atteinte. Un autre type de recrutement est celui s'effectuant par portage, où l'ouvrière parasite, en transportant l'une de ses sœurs jusqu'à la colonie ciblée, l'incite à son tour à devenir elle-même recruteuse (Ruano & Tinaut 1999). Ainsi, le nombre d'ouvrières parasites augmentera rapidement, doublant à chaque aller-retour. Le recrutement de groupe, que pratiquent des espèces telles que les *Myrmoxenus* (anciennement *Epimyrma*, *Myrmicinae*), est initié par une ouvrière parasite exploratrice et recruteuse qui va utiliser une phéromone de piste et un contact rapproché avec ses sœurs pour atteindre la colonie cible (Winter 1979). Chez ces espèces, une caractéristique jamais observée chez les Formicinae est que les raids incluent également des ouvrières esclaves. Enfin, le recrutement de masse, observé chez *Polyergus rufescens* ou *Formica sanguinea* (Mori *et al.* 2001), utilise une combinaison de phéromones de piste (Visicchio *et al.* 2000) et de repères d'orientations (Grasso *et al.* 1996, 1997).

### **2.3/ Entrer dans la « forteresse »**

Chez les fourmis, la reconnaissance sociale repose principalement sur la chimio-réception. L'odeur individuelle d'une fourmi provient non seulement de son environnement (Crosland 1989) mais aussi de ses propres productions cuticulaires (Bonavita-Cougourdan *et al.*

1987 ; Lahav *et al.* 1999), donc indirectement de son patrimoine génétique et de son activité métabolique. Cette odeur va par conséquent évoluer au cours de la vie, selon l'âge l'activité, la caste, et l'environnement des individus. Ainsi, une vieille ouvrière fourrageant présentera des variations dans la production olfactive par rapport à une jeune nourrice qui reste en permanence au nid. Ces variations peuvent être utilisées par les fourmis pour connaître le sous-groupe social auquel appartient un individu, et manifester un comportement approprié (Wagner *et al.* 1998 ; voir aussi Greene & Gordon 2003). Par exemple, une nourrice déposée à l'extérieur de son nid par un expérimentateur sera le plus souvent ramenée au nid par les fourrageuses qui la rencontrent (Bonavita-Cougourdan *et al.* 1993). Les conditions environnementales des fourmis ont un impact sur la production du signal cuticulaire et dans certains cas, des groupes de fourmis provenant d'un même nid mais nourries différemment peuvent développer rapidement une intolérance mutuelle (Le Moli & Mori 1990 ; Mori *et al.* 1992 ; Liang & Silverman 2000 ; Silverman & Liang 2001 ; Richard *et al.* 2004). D'autres expériences ont démontré que les composants du nid jouaient également un rôle dans la constitution de l'odeur coloniale (Katzav-Gozensky *et al.* 2004 ; Bos *et al.* 2011).

Les membres d'un même nid portent une odeur commune, sorte de visa colonial qui est la résultante du mixage des odeurs individuelles échangées via les contacts physiques, les comportements de toilettage mutuel et les trophallaxies (Soroker *et al.* 1994, 2003). Ces mécanismes comportementaux d'homogénéisation chimique au sein du nid permettent en permanence de maintenir un visa colonial commun à tous les individus (Dahbi & Lenoir 1998) qui servira en l'intégrant dans une image de référence, à discriminer les membres de la colonie (Crozier & Pamilo 1996), malgré de légères variations individuelles. Ainsi, les odeurs sont plus proches entre fourmis d'une même colonie qu'entre celles de colonies différentes. Ce patron ou image de référence (*template* en anglais) est intégré et appris dès les premiers temps de la vie de

l'individu (Isingrini *et al.* 1985). Ce *template* est connu sous le terme allemand de « *Gestalt* », qui signifie approximativement « forme structurée, porteuse de sens » (Crozier & Dix 1979). Ce mécanisme, flexible, opère par homogénéisation permanente d'un label colonial composé des odeurs individuelles mises en commun dans la colonie et par réactualisation perpétuelle de l'image de référence associée. La plasticité de ce mécanisme, dynamique dans le temps et admettant les variations de la composition du visa colonial, permet aux fourmis d'éviter les erreurs de reconnaissance qu'impliquerait un mécanisme de reconnaissance génétique ou fixé pour toute la vie de l'individu et de limiter le risque d'exclusion d'individus apparentés présentant un profil légèrement divergent du fait de mutations ou d'une quelconque influence environnementale. En effet, une simple dissociation en plusieurs groupes d'une même colonie conduit à une dérive chimique qui peut entraîner l'exclusion de sœurs apparentées d'un autre groupe (Dahbi *et al.* 1999).

La valeur adaptative d'un mécanisme de reconnaissance doit être abordée selon les bénéfices et les coûts qu'il engendre en termes de succès reproducteur pour les individus concernés. Dans ce cas, la problématique concerne le risque d'exclusion d'un individu apparenté du fait d'une signature chimique déviante par rapport à un modèle de reconnaissance fixé, encodé génétiquement ou acquis précocement. Le modèle de la Gestalt permet de comprendre comment les fourmis construisent et réactualisent en permanence un signal colonial reflétant la composition et l'environnement de la société. En contrepartie, le risque d'admettre un individu non-apparenté mais présentant d'importantes similitudes chimiques augmente, permettant à certaines espèces de parasiter la colonie (Reeve 1989 ; Liebert & Starks 2004 ; Fürst *et al.* 2011).



**Fig. 2.** Microgyne parasite *M. ravouxi* au centre d'une colonie hôte de *Temnothorax unifasciatus*. Une ouvrière parasite se trouve devant elle, indiquée par une flèche (photo Rumsais Blatrix).

Les parasites sociaux ne peuvent avoir émergé qu'en développant des stratégies comportementales permettant de duper les colonies hôtes en détournant les mécanismes de reconnaissance à leurs propres fins.

L'intégration d'individus étrangers au sein d'une colonie est une particularité du parasitisme social encore plus évidente si l'on considère les espèces esclavagistes, dont le cycle de vie est rythmé par le renouvellement chronique du stock d'esclaves à l'occasion des raids. Or, ce couvain nouvellement introduit doit être accepté par les ouvrières hôtes, sous peine de voir périlcliter la colonie. Cette acceptation relève sans doute d'un seuil de tolérance moins stricte que celui des fourmis appartenant à des colonies composées d'une seule espèce. Les ouvrières hôtes développent en effet un patron de reconnaissance plus large qui découle de la présence de composés provenant des deux espèces, qui élève leur seuil de tolérance hétérocolonial (Reeve

1989). On retrouve ce phénomène dans le cas des sociétés polygynes (Starks *et al.* 1998 ; Martin *et al.* 2009 ; Fürst *et al.* 2011). En effet, les deux espèces mettent en commun leurs hydrocarbures cuticulaires respectifs, conférant au label colonial une richesse plus importante, appris par les ouvrières hôtes (Vander Meer 1988 ; Vander Meer & Morel 1998). Cette flexibilité dans l'apprentissage de la signature coloniale se retrouve dans de nombreux exemples de colonies mixtes (Vienne *et al.* 1990 ; Errard 1994 ; Errard *et al.* 2006a) et permet aux individus de tolérer les variations du label colonial pourra connaître au cours du temps (Vander Meer *et al.* 1989 ; Newey *et al.* 2009 ; van Zweden *et al.* 2009).



**Fig. 3.** Colonie du parasite esclavagiste *M. ravouxi* (A) comportant les espèces hôtes *T. unifasciatus* (B) et *T. rabaudi* (C) (photo Rumsaïs Blatrix).

### **3- L'interaction hôte-parasite : Coévolution, adaptations et contre-adaptations**

#### **3.1/ La coévolution**

Les espèces évoluent au sein d'un système complexe dont les interactions intra- et interspécifiques constituent la trame, contribuant à la mosaïque géographique des espèces (Thompson 1994, 2005b). Ces interactions peuvent relever d'une simple compétition pour une ressource, qu'il s'agisse d'un habitat ou d'une proie.

Mais les espèces vivantes sont également partie intégrante de réseaux trophiques où prédateurs et proies sont en compétition pour leur survie. Dans cette course évolutive que Van Valen (1973) évoquait sous le terme paradigme de la « reine rouge », les espèces développent continuellement des adaptations et des contre-adaptations qui résultent de la pression de sélection réciproque que les espèces s'infligent. Ces interactions entre espèces peuvent au cours du temps impliquer des adaptations réciproques de plus en plus nombreuses et spécifiques. Ces modifications du pool génique ayant trait aux interactions avec une autre espèce amorceront une relation de coévolution entre ces espèces, qui conditionnera leurs évolutions respectives.

Le parasitisme social est une résurgence particulière de la prédation, puisqu'il s'agit d'exploiter les ressources que constituent les individus à l'échelle d'une société dans le temps. Pour accomplir son cycle de vie, l'espèce esclavagiste dépend de ses hôtes au moment de la fondation mais également tout au long de la vie de la colonie. De ce fait, les évolutions des espèces concernées sont intriquées, constituant un cas représentatif de coévolution.

### 3.2/ Caractéristiques des espèces esclavagistes

Les espèces esclavagistes disposent le plus souvent de caractères morphologiques et physiologiques qui facilitent l'exécution de leur stratégie comportementale particulière. Leur cuticule est plus résistante et leurs mandibules diffèrent souvent de celles des espèces autotrophes (Passera & Aron 2005). Ainsi, les *Polyergus* et les *Strongylognathus*, faisant respectivement partie des *Formicinae* et des *Myrmicinae*, arborent d'étroites mandibules qui leur permettent de transpercer leurs adversaires. Les espèces du genre *Harpagoxenus* (*Myrmicinae*) possèdent quant à elles des mandibules plus larges, dont elles se servent comme cisaille contre les défenseurs des colonies cibles. Elles semblent, comme les espèces du genre *Protomognathus*, employer des allomones de propagande issues de leur glande de Dufour qui ont pour désorganisent complètement les défenses adverses (Visicchio *et al.* 2000, 2001 ; Brandt *et al.* 2006), provoquant fuites et une forte agressivité intracoloniale. Les genres *Myrmoxenus* et *Chalepoxenus*, enfin, basent leur succès plutôt sur un aiguillon où débouche une glande à poison (Buschinger *et al.* 1980).





**Fig 4.** Ouvrière du genre *Polyergus*, détail des mandibules (photo Alex Wild).

Les différences entre espèces esclavagistes s’observent dans le mode de reproduction (essaimage, intranidal ou en périphérie du nid), la taille des colonies, le type de recrutement pour les raids, mais aussi les stratégies comportementales offensives. Certaines espèces recourent aux morsures, d’autres aux piqûres, certaines utilisent un arsenal chimique tel que les allomones de propagande. Chez *Harpagoxenus sublaevis*, ces allomones sont émises par la glande de Dufour et entraînent la désorganisation des défenses des colonies attaquées, dont les membres fuient et s’agressent mutuellement (Allies *et al.* 1986).

Chez *Polyergus rufescens*, une molécule (le décyl de butanoate) émise via la glande de Dufour des reines fondatrices semble ainsi agir comme répulsif sur les ouvrières de l’espèce hôte, ce qui permet à ces dernières de s’introduire à l’intérieur de la colonie sans être inquiétée (d’Ettorre *et al.* 2000).

Certaines esclavagistes utilisent le mimétisme chimique pour s'intégrer aux colonies hôtes (Franks *et al.* 1990). D'Ettorre et coll. (2002) ont ainsi mis en évidence que *Polyergus rufescens*, parasite social de certaines *Formica*, synthétisait un profil chimique similaire à celui de son espèce hôte la plus courante. Des adoptions expérimentales ont également permis de montrer que ces parasites sociaux étaient capables de modifier ce profil afin de le rapprocher de celui d'une espèce hôte non habituelle.

La spécificité de ces adaptations semble relever d'une sélection au niveau local. En effet, la répartition des espèces parasites ne recouvre jamais l'intégralité de l'aire de répartition de leurs espèces hôtes, alors qu'au sein d'une population parasitée le taux de parasitisme varie de 1 à 10% (Buschinger 1989). Cette pression locale, en particulier chez les espèces esclavagistes qui attaquent régulièrement les colonies voisines (Foitzik & Herbers 2001), va favoriser la sélection d'adaptations et de contre-adaptations qui contribuent à spécialiser les espèces concernées les unes vis à vis des autres, respectivement dans l'exploitation de l'hôte et dans la résistance au parasite (Foitzik *et al.* 2001, 2003; Hare & Alloway 2001; Blatrix & Herbers 2003; Brandt & Foitzik 2004; Fischer & Foitzik 2004; Brandt *et al.* 2005a; Fischer-Blass *et al.* 2006). L'étude de Foitzik et collaborateurs (2003) a permis par exemple de démontrer que les attaques de l'espèce esclavagiste *Harpagoxenus sublaevis* étaient moins efficaces contre des colonies hôtes issues d'une population où le parasite était absent que contre celles d'une population parasitée. Plus récemment, Ruano et coll. (2011) ont établi chez *Rossomyrmex minuchae* et son espèce hôte *Proformica longiseta* que les profils des hydrocarbures cuticulaires étaient plus proches entre parasite et hôte ayant la même origine géographique qu'entre ceux ayant une origine différente.

Des adaptations locales pourraient donc contribuer à la mosaïque géographique des espèces et accélérer le phénomène de spéciation (Thompson 1999, 2005), du fait de la sélection et du maintien de traits particuliers.

### **3.3/ Impact de l'esclavagisme sur les populations hôtes**

Les espèces parasites infligent un coût élevé aux espèces hôtes qu'elles exploitent, réduisant leurs succès reproducteur. Les fourmis esclavagistes sont en effet largement susceptibles d'influencer le taux de survie des colonies envahies ou prises pour cibles lors des raids (Foitzik and Herbers 2001; Hare and Alloway 2001; Johnson and Herbers 2006). L'élimination de la reine d'une colonie hôte revient à supprimer l'essentiel de la « capacité reproductrice » de cette colonie. Ensuite, les colonies situées à proximité seront visées par des raids réguliers. Foitzik et Herbers (2001) ont ainsi estimé à 50% la probabilité d'être attaqué pour les colonies de *Leptothorax* voisines d'une société esclavagiste de *Protomognathus americanus*. Pourtant, des études génétiques réalisées sur les ouvrières esclaves trouvées au sein de colonies parasitées montrent qu'elles n'appartiennent pas à ces colonies voisines, indiquant donc que les colonies pillées dont elles sont issues auraient soit été détruites, soit auraient déménagé. De même, le couvain récemment pillé ne montrait aucun lien de parenté avec les ouvrières hôtes adultes, suggérant qu'une colonie n'était probablement pas pillée deux fois et subissait donc un contre-coup important à la suite d'un raid. Le prélèvement du couvain affecte largement le renouvellement générationnel des colonies hôtes, affaiblissant leur aptitude à trouver des ressources ou à se défendre (Johnson & Herbers 2006). Enfin, l'assaut désorganise les défenses des colonies hôtes, ses membres évacuant la colonie rapidement et de manière erratique, rendant improbable sa reconstitution.

### 3.4/ Sélection et « résistance » des espèces hôtes

Pourtant, dans cette course aux armements qu'évoquait Van Valen (1973) comme image de la coévolution, il convient de ne pas considérer les espèces hôtes comme dénuées de défense ou sans solution contre-adaptative. Certaines d'entre elles développent en réponse des traits de résistance (Alloway 1990; Mori *et al.* 1991; Foitzik and Herbers 2001a; Foitzik *et al.* 2001 ; Herbers and Foitzik 2002 ; Achenbach & Foitzik 2009), ce qui confirme l'engagement dans une « course aux armements » évolutive (Dawkins & Krebs 1979). Ainsi, chez *Formica rufibarbis*, hôte de l'esclavagiste *Polyergus rufescens*, le seuil de tolérance varie, augmentant durant la saison de fondation et de raids de l'espèce esclavagiste (d'Ettorre *et al.* 2004). La flexibilité du modèle de reconnaissance de *Formica rufibarbis* permet à l'espèce hôte en fonction du cycle d'activité de *P. rufescens* et de la fréquence des rencontres entre les deux espèces de détecter plus efficacement une reine parasite fondatrice ou des ouvrières scoutes afin de mieux protéger la colonie. Cette moindre tolérance, temporaire s'appuie sur la plasticité du seuil de tolérance de l'espèce hôte et lui évite d'étendre le risque d'erreur de reconnaissance de membres du nid hors de la saison propice aux attaques du parasite social. En fait, les espèces hôtes réagiront souvent à la pression de sélection en augmentant leur niveau de défense face au parasite, comme c'est le cas chez l'espèce hôte de *Protomognathus americanus* dans les populations où une seule espèce hôte est disponible (Blatrix & Herbers 2003 ; Brandt & Foitzik 2004).

De récentes études ont permis de démontrer que certaines espèces étaient capables de développer une défense spécifique au parasite. Achenbach et Foitzik (2009) ont mis en évidence que des ouvrières d'espèces hôtes appartenant au genre *Temnothorax* parasitées par *Protomognathus americanus* détruisaient spécifiquement le couvain parasite. Cette destruction

engendre une réduction de la capacité des esclavagistes à effectuer des raids efficaces sur les colonies voisines. Aussi, la sélection de ce comportement supposerait, selon les auteurs, un apparemment important au sein des populations de *Temnothorax* étudiées. De fait, la question de la sélection de traits de résistance au parasitisme a déjà été discutée (Gladstone 1981), et la « rébellion » de fourmis hôtes semble peu probable. Une ouvrière hôte n'a en effet que très peu de chance de rejoindre sa colonie d'origine, parfois détruite et souvent déplacée. Outre la difficulté de traverser seule et sans piste chimique utilisable l'environnement extérieur jusqu'à sa colonie d'origine, sa signature chimique en diffère très certainement et rend improbable son acceptation au sein de cette dernière. Plus important encore, la manifestation d'un tel comportement est fortement improbable étant donné que l'ouvrière hôte, enlevée et adoptée avant son émergence, ne conservera certainement pas l'image de référence chimique propre à sa colonie d'origine. Selon Achenbach et Foitzik, seul l'apparemment important entre colonies voisines au sein de la population hôte parasitée peut expliquer l'émergence de stratégies de résistance.

Bien qu'aucune étude à notre connaissance n'ait testé cette possibilité, les conflits intracoloniaux pour la production de sexués (mâles) par les ouvrières hôtes pourraient constituer une alternative plausible à la sélection de traits rebelles chez les ouvrières de ces espèces. En effet, nous savons que chez les insectes sociaux, des conflits reproducteurs peuvent survenir du fait de l'asymétrie d'apparemment entre ouvrières et mâles produits par la reine ou les autres ouvrières (Trivers & Hare 1976 ; Wenseleers & Ratnieks 2006). Il peut devenir plus avantageux pour l'ouvrière en question de produire sa propre descendance mâle (Bourke 1988; Ratnieks *et al.* 2006), comme c'est le cas chez certaines espèces de *Temnothorax*, et d'entrer en conflit avec la reine (Cole 1981, Franks & Scovell 1983) ou/et les autres ouvrières (Heinze *et al.* 1997).

Or, des conflits peuvent survenir entre ouvrières au sein de colonies mixtes, où les individus sont faiblement ou non apparentés, à priori pour cette raison. Chez l'esclavagiste *Protomognathus americanus*, 70% des mâles sont produits par les ouvrières (Foitzik & Herbers 2001b). Chez *Harpagoxenus sublaevis*, de tels conflits concernent ouvrières esclavagistes et hôtes, ou hôtes d'espèces différentes entre eux (Heinze *et al.* 1994). Cette étude montre également que la cohérence de la signature d'une colonie mixte n'est pas toujours aboutie et que les ouvrières les composant peuvent en discriminer les autres membres, sur la base des caractéristiques spécifiques de leur label olfactif.

D'autres stratégies originales peuvent émerger en réponse à la pression des raids des espèces esclavagistes. Ainsi, les populations sympatriques de l'espèce hôte *Proformica longiseta* et de son parasite esclavagiste *Rossomyrmex minuchae* affichent une proximité chimique importante. Errard et collaborateurs (2006b) ont émis l'hypothèse que cette ressemblance avait été sélectionnée chez l'espèce hôte parce qu'elle diminuait l'impact des raids esclavagistes chez *P. longiseta*, en abaissant l'agressivité du parasite.

#### 4- Hypothèses de travail, intérêts du paradigme

Comme nous venons de le voir, l'esclavagisme chez les insectes sociaux est une stratégie comportementale complexe qui est aussi une forme de compétition extrême entre deux ou plusieurs espèces.

Si les gynes des espèces esclavagistes après leur fécondation doivent être capables de reconnaître leur espèce hôte, les ouvrières parasites à leur tour devront localiser et attaquer des colonies hôtes lors de raids, afin d'y prélever des ouvrières aptes à élever du couvain. Or, Mori et collaborateurs (1995) ont démontré par exemple que des tentatives de fondation chez *Polyergus rufescens* échouaient systématiquement avec *Formica rufibarbis*, une espèce non-hôte. Il n'est donc pas exclu de penser que les espèces non-hôtes présentent des adaptations ou des comportements défensifs plus efficaces pour résister aux attaques des espèces esclavagistes. Concernant les espèces hôtes, Achenbach et Foitzik (2009) ont pu mettre en évidence que des ouvrières esclaves du genre *Temnothorax* détruisaient spécifiquement le couvain parasite de leur colonie.

Sous cette pression, la solution pour le parasite serait de changer d'espèce hôte. Mais la « course aux armements » que se livrent ces espèces conduisent les parasites sociaux à se spécialiser dans l'exploitation d'une ou plusieurs espèces hôtes, le plus souvent apparentées phylogénétiquement (Emery 1909 ; Buschinger 1990; Heinze 1991, 1995; Baur *et al.* 1995 ; Beibl *et al.* 2005) et partageant la même niche écologique. Il est probable que les liens entre espèces parasites et espèces hôtes trouvent leur origine dans une spéciation sympatrique qui expliquerait le partage

d'un certain nombre de caractéristiques écologiques qui désignent certaines espèces comme les hôtes naturels des parasites sociaux.

Une étude de Schumann et Buschinger (1994, 1995) réalisée à partir d'adoptions expérimentales a permis de démontrer que le choix des colonies ciblées lors des fondations et des raids esclavagistes était influencé par l'expérience précoce de la reine et des ouvrières parasites. Néanmoins, cette modification comportementale n'efface pas complètement la préférence pour l'espèce hôte principale, qui continue à être choisie autant que l'espèce adoptive. Les auteurs en ont conclu que la préférence des esclavagistes pour les espèces hôtes était liée à un mécanisme de reconnaissance interne spécifique, relatif aux espèces hôtes. Les espèces parasites pourraient disposer de mécanismes facilitant la reconnaissance de leurs espèces hôtes sans apprentissage préalable, constituant une sorte de préférence « innée ». Cette préférence pourrait être influencée mais non oblitérée par un apprentissage précoce sur une espèce différente. Les mécanismes à l'œuvre ne sont pas encore complètement élucidés, et la proximité génétique et olfactive entre les espèces hôtes et leurs parasites (Emery 1909) peut aussi avoir un rôle dans la préférence naturelle montrée par les espèces parasites. Ces dernières pourraient détecter chez l'espèce hôte des indices chimiques spécifiques -éventuellement proches de ceux présents dans leur propre signature olfactive utilisée comme image de référence- qui faciliteraient sa reconnaissance. Il est également possible que la pression de sélection appliquée au parasite pour reconnaître son espèce hôte ait conduit à la sélection de mécanismes sensoriels tels que des récepteurs olfactifs spécifiques à certains de ces composés (cf. Hansson *et al.* 1999).

Les mécanismes de la reconnaissance sociale chez des espèces impliquées dans une interaction hôte-parasite apparaissent donc comme les traits les plus susceptibles d'évoluer sous



la pression de sélection. Cependant, peu d'études se sont réellement penchées sur la comparaison des effets de la coévolution à la fois sur une espèce parasite esclavagiste et ses espèces hôtes.

Aussi, dans le cadre de notre travail, nous nous sommes appliqués à mettre en lumière les effets de cette interaction coévolutive entre espèces esclavagistes et espèces hôtes chez les fourmis, afin d'en dégager les adaptations relatives. En particulier, nous nous sommes intéressés à l'évolution du système de reconnaissance coloniale des espèces concernées, qui constitue la pierre angulaire de la défense des colonies hôtes face aux attaques parasites. En ce sens, le parasitisme social constitue un excellent modèle pour mieux comprendre l'évolution des systèmes de reconnaissance des insectes sociaux. Nous verrons également que des liens théoriques existent entre ces modèles et les relations hôtes-parasites en général, en particulier avec la théorie de la virulence (Frank & Schmid-Hempel 2008), qui permettent de prédire l'évolution des interactions entre les fourmis esclavagistes et leurs hôtes.

La particularité de notre étude sera de s'intéresser également aux espèces non-hôtes sympatriques des parasites, afin de fournir des clés de compréhension importantes aux stratégies de défense contre le parasite et/ou mettre en relief les adaptations locales d'une espèce esclavagiste à son ou ses espèces hôtes. Convaincus que les interactions entre espèces doivent être envisagées le plus largement possible pour comprendre leurs histoires évolutives (cf. Thompson 1994, 2005b), nous avons comparé le comportement d'espèces hôtes et non-hôtes d'un parasite esclavagiste -*Myrmoxenus ravouxi*- au sein de plusieurs populations, afin de mieux comprendre le développement de mécanismes de reconnaissance et de résistance contre les parasites sociaux.

Nous avons également cherché à mieux connaître le développement du patron de reconnaissance du parasite, largement méconnu, qui pourtant joue certainement un rôle non négligeable dans l'accomplissement des raids esclavagistes (Schumann & Buschinger, 1995 ; Bono *et al.* 2007).

Aussi, après avoir présenté la phylogénie et l'écologie des espèces sur lesquelles nous avons travaillé (Chapitre I), nous articulerons la présentation des résultats obtenus autour de trois axes. Cette organisation suit le cycle de vie des colonies des espèces esclavagistes.

Le chapitre II concerne les capacités de discrimination de l'espèce parasite opportuniste choisie, à savoir *Myrmoxenus ravouxi*. En présentant à des ouvrières parasites un choix lors de rencontres dyadiques, nous avons pu tester le modèle de reconnaissance coloniale des ouvrières parasites et tenter de dissocier les composantes « génétique » et développementale de cette reconnaissance. Ces tests de choix impliquaient des ouvrières parasites, des ouvrières esclaves, des ouvrières hétérocoloniales issues d'une espèce hôte familière ou non familière et des ouvrières d'une espèce non-hôte. Les comparaisons multiples entreprises, via leur analyse statistique et le recoupement des données, nous auront permis de discuter de l'existence d'un modèle de reconnaissance original chez le parasite social *Myrmoxenus ravouxi*.

Notre deuxième partie (chapitre III) rapporte l'étude de comportements d'ouvrières d'espèces hôte ou non-hôte au sein de colonies soumises à l'introduction d'un éclaireur (ou *scout*), mimant la prospection des ouvrières esclavagistes lors des phases de raids. Cette expérience a été réalisée avec des colonies récoltées au sein d'une population où le parasite était présent et au sein d'une autre population où il n'était pas absent. Cette comparaison nous a permis de tester les effets de la pression du parasite localement, aussi bien chez des espèces hôtes

que chez une espèce non-hôte, afin de déterminer si cette pression de sélection avait favorisé le développement de mécanismes de résistance vis-à-vis du parasite social.

Nous avons ensuite comparé dans le chapitre IV les seuils de tolérance coloniale de différentes espèces : le parasite, un hôte ainsi que deux espèces non-hôtes, dont l'une subit cependant une pression de parasitisme intraspécifique. Pour ce faire, nous avons introduit une pue hétérocoloniale unique au sein de nos colonies tests. Si les pupes sont généralement considérées comme peu significatives chimiquement avant émergence (Lenoir *et al.* 1999), différentes études ont pourtant montré que le couvain pouvait être discriminé par certaines espèces hôtes (Johnson *et al.* 2005 ; Achenbach & Foitzik 2009 ; Achenbach *et al.* 2010). L'introduction de pupes renvoie bien évidemment au déroulement des raids des esclavagistes, qui rapatrient au sein de leur colonie le couvain volé aux colonies attaquées. Cette comparaison nous a permis de tester deux hypothèses. D'abord, nous avons supposé que les ouvrières de l'espèce hôte développaient un modèle de reconnaissance différent lorsqu'elles se développaient au sein d'une colonie mixte par rapport au cas où elles sont issues d'une colonie libre. Surtout, nous avons voulu déterminer si la pression de sélection appliquée par le parasite sur les espèces hôtes pouvait avoir favorisé la sélection d'un modèle de reconnaissance plus restrictif que chez les espèces non-hôtes sympatriques, pouvant affecter la discrimination du couvain. Nous avons également, dans une expérience complémentaire, testé si les pressions de sélection s'appliquant aux espèces esclavagistes pour reconnaître son hôte lors des raids pouvaient avoir affecté les mécanismes de reconnaissance d'une espèce opportuniste telle que *M. ravouxi*.

Pour compléter cette étude, nous avons enfin testé (Chapitre V) la survie du couvain parasite ou hôte introduit au sein de colonies parasitées ou non et au sein de colonies orphelines

de l'espèce hôte. Nous avons également testé la survie de pupes hétérocoloniales au sein de colonies de l'espèce non-hôte.

Nous discuterons dans le dernier chapitre (VI) l'importance des interactions coévolutives telles que le parasitisme social dans l'évolution des espèces. Chez les insectes sociaux, en particulier, la compétition entre les espèces hôtes et parasites a pu influencer le développement de mécanismes de discrimination des parasites esclavagistes. Nous aborderons enfin différents modèles théoriques concernant les relations hôtes-parasites pouvant permettre de prédire l'évolution de ces interactions et nous les discuterons à la lumière des résultats de nos différentes études. Nous conclurons sur le rôle général des pressions de sélection d'origine biotique dans l'évolution des espèces.

# **Chapitre I :**

## **Présentation des espèces**

*Aspects phylogénétiques, écologiques et comportementaux*

## 1- Phylogénie des espèces

La famille des *Formicidae* compte plus de 12000 espèces décrites, réparties en 21 sous-familles et 288 genres (Bolton 2003). Les fourmis sont un taxon datant du mésozoïque et apparenté aux guêpes *Vespidae* (Baroni Urbani *et al.* 1992 ; Baroni Urbani 2000), dont la plus ancienne forme connue date de plus de 100 millions d'années (Nel *et al.* 2004). Elles pourraient être apparues au début du crétacé, avant de se diversifier considérablement en suivant le développement de forêts dominées par les angiospermes (Wilson & Hölldobler 2005 ; Moreau *et al.* 2006).

La sous-famille des *Myrmicinae* est l'une des plus distribuées. Elle se caractérise notamment par des pupes dépourvues d'un cocon (Hölldobler & Wilson 1990). C'est aussi l'une des seules sous-familles, avec les *Formicinae* (et les *Dolichoderinae*, dans une moindre mesure, cf. Lloyd *et al.* 1986), à avoir vu apparaître des parasites sociaux au cours de son évolution, notamment des espèces esclavagistes (d'Ettorre & Heinze 2001).

A elle seule, la tribu *Formicoxenini* compterait au moins six émergences évolutives indépendantes de l'esclavagisme (Beibl *et al.* 2005), qui semblent s'être chacune différenciées d'un ancêtre commun avec leurs espèces hôtes (Emery 1909). Les genres *Myrmoxenus* et *Chalepoxenus*, par exemple, paraissent montrer déjà une longue histoire évolutive indépendante de celles de leurs hôtes (Beibl *et al.* 2005).

La fréquence élevée d'espèces esclavagistes au sein de cette tribu (d'Ettorre & Heinze 2001) est certainement liée au succès écologique des espèces que comptent les *Formicoxenini*. *Leptothorax* et *Temnothorax* sont ainsi parmi les genres les plus représentés dans les forêts boréales et tempérés, avec des densités pouvant atteindre la dizaine de colonies au m<sup>2</sup> (Heinze *et*

al. 1996, Foitzik & Heinze 1998). Nous avons souvent observé des densités de 1 à 3 colonies au m<sup>2</sup> dans les populations où nous avons récolté.

Nous nous sommes intéressés à la fourmi esclavagiste *Myrmoxenus ravouxi* et à ses hôtes. *M. ravouxi* est un parasite social relativement opportuniste qui exploite différentes espèces du genre *Temnothorax* : *T. albipennis*, *affinis*, *interruptus*, *nigriceps*, *unifasciatus*, *rabaudi* et *tuborum* (Buschinger 1989, Seifert 2007). La proximité entre ces espèces hôtes entre elles (cf Fig. I-1) est notable, ce qui nous laisse penser qu'ils partagent une origine phylogénétique commune. Cette parenté d'espèces nous renseigne sur le scénario plausible de l'évolution de l'esclavagisme au sein de ce clade. Si l'on se réfère à une acception lâche de la règle d'Emery (1909 ; voir aussi Baur *et al.* 1995 ; Parker & Rissing 2002 ; Sumner *et al.* 2004), l'espèce esclavagiste *M. ravouxi* a pu évoluer par spéciation sympatrique ou allopatrique (cf. Wilson 1971 ; Buschinger 1990 ; Hölldobler & Wilson 1990 ; Bourke & Franks 1991 ; Johannesson 2001 ; Via 2001 ; Berlocher 2003 ; Savolainen & Vepsäläinen 2003 ; revue dans Buschinger 2009) à partir d'une espèce devenue hôte et qui serait l'ancêtre des espèces hôtes actuelles. Le parasite social aurait alors pu accompagner les espèces filles de son hôte d'origine. En effet, si ces espèces proches partagent des niches écologiques et des cycles de vie similaires, elles peuvent toutes constituer des cibles potentielles pour l'espèce esclavagiste et lui permettre de s'étendre sur de nouvelles aires de peuplement.

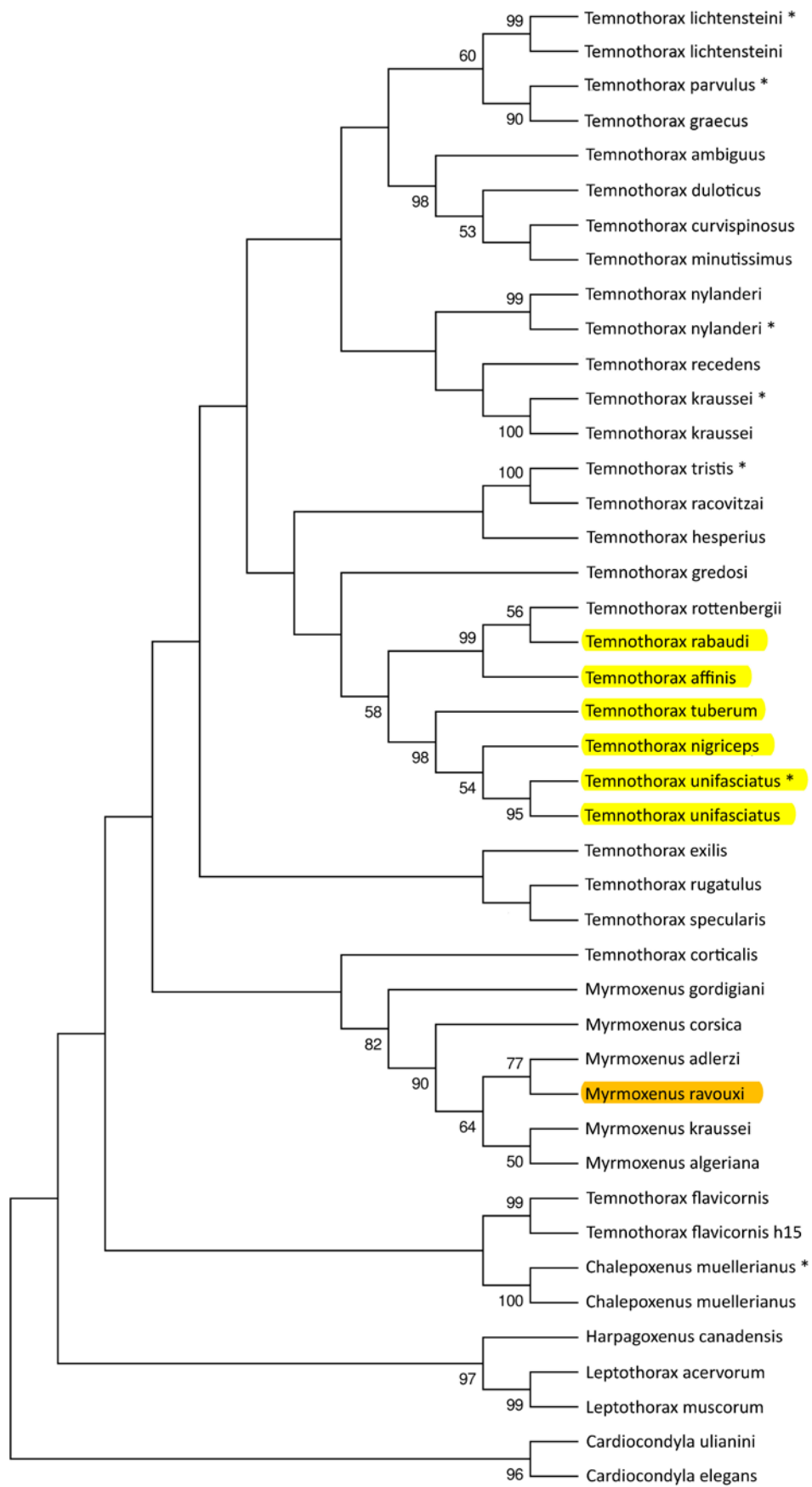




Fig. I-1. Arbre phylétique de quelques espèces de la tribu des *formicoxenini* où figurent l'espèce esclavagiste *M. ravouxi* (surlignage orange) et quelques unes de ses espèces hôtes (surlignage jaune). L'arbre a été construit par maximum de parcimonie à l'aide du logiciel MEGA 4 à partir d'échantillons de nos populations et des données disponibles sur Genbank (Beibl et al. 2005, 2007). Seules les valeurs de bootstrap supérieures à 50 sont figurées.

## **2- Ecologie et comportement**

### **2.1/ La fourmi esclavagiste *Myrmoxenus ravouxi***

*Myrmoxenus ravouxi* (André 1896) est une espèce largement représentée en Europe occidentale, depuis l'Espagne jusqu'à la Grèce (Buschinger 1997). C'est la seule espèce du genre à pouvoir être trouvée au Nord des Alpes (Seifert 2007). En France, elle est essentiellement présente sous les climats méditerranéens, et n'a jamais été signalée au nord de la Loire, ce qui tient sans doute à son caractère thermophile. On la trouve donc surtout dans des zones ensoleillées et relativement sèches.

L'espèce est monogyne, de petite taille (2 à 3 mm). Elle est munie d'un important organe à venin qui lui sert lors des raids (Buschinger *et al.* 1980). Les gynes de cette espèce sont d'une taille voisine des ouvrières (2.5-3.5 mm) et pourraient donc être qualifiées de « microgynes » (Elmes 1991 ; Rüppell & Heinze 1999 ; Rüppell *et al.* 2001 ; Lenoir *et al.* 2011). Les sexués essaient à la fin de l'été (fin août approximativement) dans des vols nuptiaux au terme desquels la gyne fécondée se pose et se cache vraisemblablement jusqu'aux premiers froids. A ce moment, elle se met en quête d'une colonie hôte où elle cherchera à usurper la place de la reine. La fondation a donc lieu en automne, mais on peut retrouver jusqu'au milieu du printemps des colonies dans

lesquelles la gyne parasite est accrochée à la reine hôte, sans que l'on sache à quel moment l'introduction s'est faite.

Les colonies de *M. ravouxi* ont une longévité pouvant atteindre dix ans (Buschinger & Winter 1983), avec un nombre d'ouvrières parasites et hôtes croissant avec le temps. Le développement du couvain de l'espèce parasite peut être assez long, avec une phase d'hibernation des larves avant émergence, qui se situe l'année suivante (Buschinger 1989). L'essaimage des sexués survient à la fin du mois d'août ou début septembre (Buschinger 1989).

*M. ravouxi* est donc un parasite social relativement opportuniste (Buschinger 1989, Seifert 2007) dont l'hôte principal semble être *Temnothorax unifasciatus* (Seifert 2007). L'esclavagiste fait cependant preuve d'une grande adaptabilité et utilisera souvent comme hôte l'espèce la plus représentée localement. Il arrive parfois que des colonies comprennent plusieurs espèces hôtes (cf. Fig. I-2), avec des proportions de l'ordre de 1/5 (Buschinger & Winter 1983). Dans les populations où le parasite est présent, 1 à 10% des colonies de l'espèce hôte seront parasitées (Buschinger 1989).



**Fig. I-2.** Colonie parasitée composée de trois espèces différentes : le parasite social *Myrmoxenus ravouxi* (A) et les espèces hôtes *Temnothorax unifasciatus* (B) et *rabaudi* (C). Le parasite est reconnaissable à son corps brun-jaunâtre, sa tête sombre. Il affiche une bande diffuse plus sombre sur l'abdomen (photo Olivier Delattre).

Les colonies de *M. ravouxi* vivent entre des pierres ou dans des branches mortes préalablement creusées par des larves d'insectes xylophages, le plus souvent dans la litière ou le long de barres rocheuses. Elles peuvent également être trouvées dans les branches mortes, selon l'espèce parasitée. Ces colonies sont à peu près aussi populeuses que celles de leurs hôtes, comptant de quelques dizaines à plusieurs centaines d'individus (100 à 400 le plus souvent) (Buschinger & Winter 1983). Néanmoins, une faible proportion de ces ouvrières est issue de la ponte de la reine parasite. Quelques dizaines d'ouvrières parasites pourront être trouvées à l'intérieur du nid, le plus souvent peu actives, avec un répertoire comportemental relativement appauvri qui contraste avec l'intense activité de prospection observée en périodes de raids

(Buschinger & Winter 1983). Comme chez leurs hôtes, les ouvrières de *M. ravouxi* peuvent provenir de larves produites l'automne précédent ou au début du printemps et arrivant à maturité vers le mois de mai sous les latitudes européennes. Cette période de maturation concorde avec celle des raids qui suivra bientôt, au début de l'été (juin, juillet), et permettra donc aux colonies parasites de disposer d'un nombre important d'ouvrières parasites. Lors des raids, les ouvrières esclavagistes jouent le rôle d'éclaireuses, d'initiatrices et de force de frappe principale. Une fois une colonie de l'espèce hôte repérée, les éclaireuses (*scouts*) pratiquent un recrutement de groupe qui leur permet de prendre la tête d'une cohorte d'ouvrières parasites qui se dirigent vers la colonie ciblée. Ce cheminement s'opère en restant au contact de l'ouvrière qui précède, bien que des phéromones de piste puissent être vraisemblablement utilisées (Winter 1979). Une fois parvenues à leur cible, les ouvrières parasites entament un court siège avant de s'infiltrer dans la colonie. Des combats surviennent à l'extérieur comme à l'entrée du nid, où l'appareil à venin des parasites semble garantir de meilleures chances de succès. Elles piquent fréquemment à la tête ou entre les segments du gastre (Seifert 2007). Une fois à l'intérieur du nid assiégé, les ouvrières parasites provoquent une réaction de panique qui pourrait être due à des allomones de propagande (d'Ettorre *et al.* 2000 ; Visicchio *et al.* 2000, 2001). Elles pratiquent également des antennations rapides et vigoureuses des ouvrières de la colonie hôte, dont une part s'enfuit avec du couvain de manière désorganisée. Peu de conflits se déroulent à l'intérieur de la colonie.

Une fois cette dernière envahie et presque vidée de ses occupantes, les parasites se saisissent du couvain (larves et pupes), qu'elles transportent à leur nid (Winter 1979 ; Buschinger *et al.* 1980 ; Buschinger & Winter 1983).

## **2.2/ Les espèces hôtes : *Temnothorax rabaudi* et *Temnothorax unifasciatus***

Le genre *Temnothorax* est l'un des plus représentés chez les myrmicines, avec plusieurs centaines d'espèces (MacKay 2000 ; Bolton 2003). Les ouvrières font en général de 2 à 3 mm, tandis que les reines atteignent 4 à 5 mm. Le couvain est produit en général selon deux cycles annuels, le premier au printemps et au début de l'été avec production d'ouvrières, et le second au cours de l'été avec la production de sexués. Le couvain peut également végéter d'une année sur l'autre avant l'émergence (Plateaux 1971). Il n'est pas rare de voir des larves produites pendant l'été se nymphoser au printemps suivant, après un hiver au sein du nid.

*Temnothorax rabaudi* (Bondroit 1918) est une espèce thermophile, vivant néanmoins dans des zones ombragées ou légèrement humides, telles que du bois mort humide. Monogynes, les colonies peuvent inclure quelques dizaines à plusieurs centaines d'individus. C'est l'une des espèces hôtes du parasite esclavagiste *M. ravouxi*, notamment dans les zones où la végétation est abondante et l'humidité suffisante. (Fig. I-3). Les ouvrières mesurent de 2 à 3 mm, certains individus ayant parfois une taille plus importante. Les essaimages ont lieu en juillet-août.



**Fig. I-3.** Colonie de *T. rabaudi*. Les ouvrières sont brun-jaunâtre, avec une tête plus sombre et de petites bandes diffuses sur les segments du gastre. La reine est brunâtre, presque uniformément (photo Olivier Delattre).

*Temnothorax unifasciatus* (Latreille 1798) est une espèce répandue, nichant au sein de cavités du bois mort ou de crevasses dans les rochers, parfois même entre deux pierres superposées. C'est une espèce thermophile habitant les zones sèches et ensoleillées et se nourrissant de petits arthropodes, parfois de nectar et de miellat (Seifert 2007). Elle mesure de 2 à 3 mm (4 à 5 mm pour la reine) (cf. Fig. I-4).

Après la mort de la reine, des agressions surviennent entre les ouvrières, au terme desquelles un petit nombre, à la hiérarchie partiellement préétablie (Brunner & Heinze 2009), deviennent fertiles (Heinze *et al.* 1997 ; Stroeymeyt *et al.* 2007).

Monogynes, les colonies de *T. unifasciatus* peuvent atteindre une longévité de douze ans et se composent de plusieurs dizaines à quelques centaines d'individus (Seifert 2007). Les essaimages ont lieu pendant l'été, fin juillet-début août.

*T. unifasciatus* est utilisée comme hôte par les esclavagistes *M. ravouxi* ou *Chalepoxenus muellerianus*. Elle est sans doute l'hôte principal de ces deux espèces (Seifert 2007).



**Fig. I-4.** Colonie de *T. unifasciatus*. L'espèce présente une couleur orange clair, avec une nette bande noire sur le premier segment du gastre. La reine est en général très colorée, alternant zones claires et sombres sur tout le corps (photo Olivier Delattre).

### 2.3) Les espèces non-hôtes : *Temnothorax nylanderi* et *Temnothorax parvulus*

*Temnothorax nylanderi* (Förster 1850) est une espèce largement distribuée en Europe.

Elle mesure de 2 à 3 mm pour les ouvrières et de 4 à 5 pour les gynes (Fig. I-5).



**Fig. I-5.** Colonie de *T. nylanderi*. C'est une espèce brunâtre dont la tête et le gastre sont assez sombres (photo Thibaud Monnin).

*T. nylanderi* niche essentiellement dans des glands creux et des branches mortes à même le sol ou légèrement enfouis dans la litière et préalablement creusées par d'autres invertébrés. Elle peut choisir des emplacements plus ou moins ombragés selon la latitude et apprécie peu les zones trop sèches. Les essaimages ont lieu au début de l'été, en juin-juillet.



Elle n'est pas connue pour être l'hôte d'un parasite social. Pourtant, différentes études (Heinze *et al.* 1996 ; Foitzik & Heinze 1998, 2000) ont démontré que des colonies de cette espèce fusionnaient chroniquement, une seule reine restant en vie. Ce parasitisme intraspécifique (Hölldobler & Wilson 1990) trouverait son origine dans la compétition intraspécifique pour les sites de nidification (Foitzik & Heinze 1998). La fusion des colonies de *T. nylanderi* serait également liée à un seuil de tolérance hétérocolonial bas, peut-être par manque de variabilité génétique imputable à un effet de goulot d'étranglement sur la population lors de la dernière période de glaciation (Foitzik *et al.* 2007).

La fourmi *Temnothorax parvulus* (Schenck 1852 ; cf. Fig. I-6) est, quant à elle, proche morphologiquement de *T. nylanderi*, sans pour autant partager avec elle des zones d'hybridation comme *Temnothorax crassispinus* (Pusch *et al.* 2006). Ceci est lié à des périodes d'essaimage distinctes au cours du nyctémère (Plateaux 1978a et b). C'est une fourmi plus thermophile que la précédente (Seifert 2007), vivant dans le bois mort, dans des sites exposés et ensoleillés, sous les pierres ou dans la litière.



**Fig. I-6.** Colonie de *T. parvulus*. L'espèce est de couleur orangée uniforme, avec une simple bande fine et diffuse barrant l'abdomen (photo Olivier Delattre).

*T. parvulus* peut être trouvée en populations très denses ou au contraire être totalement absente d'un site. En laboratoire, la reine peut atteindre l'âge de 10 à 12 ans (Seifert 2007). Les essaimages ont lieu en été. *T. parvulus* ne semble pas souffrir du parasitisme intraspécifique qui affecte *T. nylanderi*. Pourtant, les colonies pourraient occasionnellement se fractionner au printemps (Seifert 2007), compensant peut-être une densité trop importante à l'intérieur du nid. Il semble que cette espèce ne soit jamais exploitée par un parasite social (Buschinger 1997), bien qu'elle soit distribuée dans des zones peuplées de plusieurs espèces parasites comme *M. ravouxi* ou *Chalepoxenus muellerianus*.

### 3- Récolte et méthode d'élevage

Les colonies que nous avons utilisées ont été récoltées en France dans différents sites (Fig. I-7), à même le sol, dans des branches mortes ou entre des pierres. Ces sites n'étaient ni privés, ni protégés par une mesure gouvernementale ou internationale.

A Fontainebleau (48°40'N, 2°70'E), le plus septentrional de nos sites de collecte, nous avons récolté *T. nylanderi* et *T. unifasciatus*. Aucune espèce parasite n'est connue pour être présente dans ces populations.

Vaison-la-Romaine (44°14'N, 5°04'E) a été notre principal site de récolte de colonies parasitées par *M. ravouxi*. Le principal hôte du parasite dans ce site était *T. unifasciatus*, mais nous avons également trouvé des colonies composées de trois espèces, avec *T. rabaudi*, l'une des nombreuses espèces présentes du genre. Ce site était ensoleillé, exposé à l'est et plutôt sec mais n'ayant d'une bonne couverture végétale assez diversifiée (pins, chênes verts).

Notre parasite esclavagiste a également pu être récolté à Anduze (N44°3' E3°59'), mais y utilisait comme espèce hôte *T. rabaudi*. Le site, plus en altitude, était ensoleillé mais plus humide que celui de Vaison-la-Romaine. Le couvert végétal était essentiellement constitué de pins.

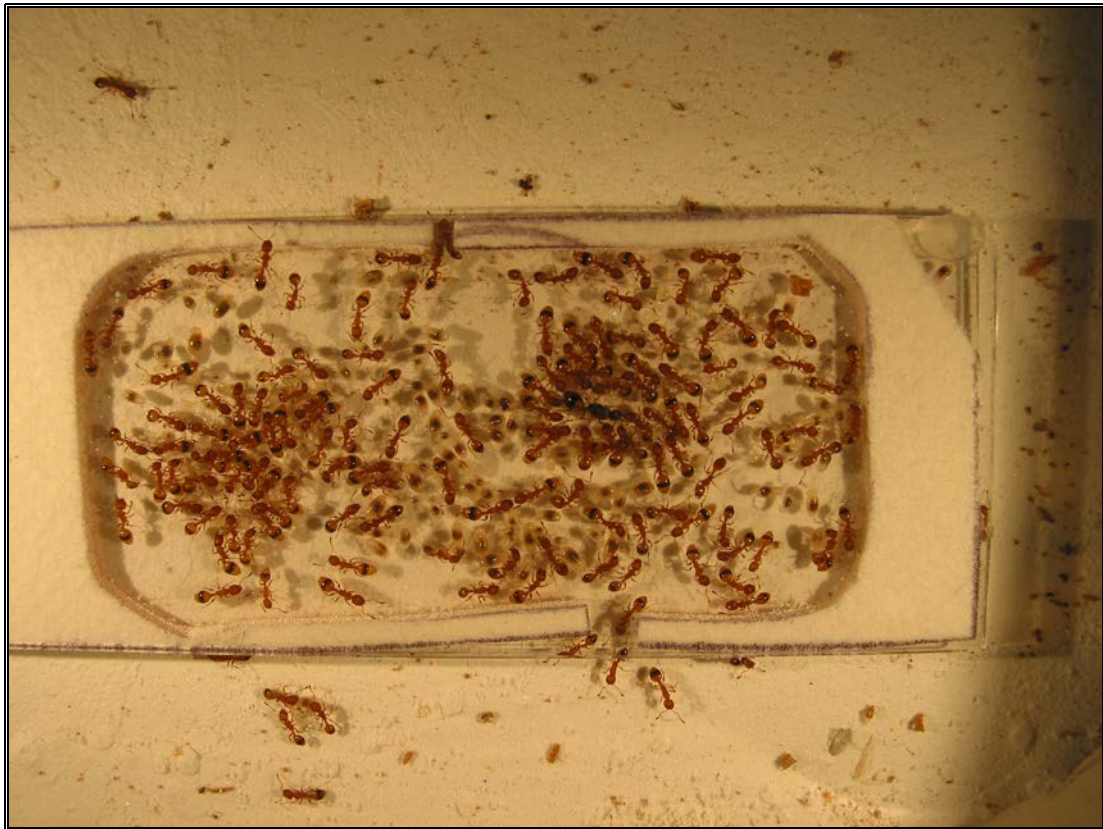
Certaines de nos colonies, notamment celles de l'espèce non-hôte *T. parvulus*, ont été récoltées près de Montpellier (43°60'N, 3°87'E). Le parasite social *M. ravouxi* était présent sur ce site, tout comme *T. unifasciatus*, notamment. Le site était ensoleillé et sec, avec un couvert de type méditerranéen bas et parfois dense.



**Fig. I-7.** Carte de France figurant les sites de récolte de nos colonies expérimentales

Au laboratoire, les colonies étaient placées dans des boîtes en plastique de 15x10x5 cm dans lesquelles était coulé un sol en plâtre, humidifié régulièrement pour conserver une hygrométrie suffisante. Les colonies elles-mêmes étaient installées entre deux lamelles de verre séparées par un morceau de linoleum épais de 2mm et découpé afin que les fourmis disposent

d'une chambre pour s'installer (Fig. I-8). Ces lamelles jointes étaient disposées à même le sol de l'aire de fourrage.



**Fig. I-8** : Nid d'une colonie de *T. unifasciatus* composée de deux lames de verre superposées et séparées par un morceau découpé de linoleum (photo Olivier Delattre).

Les colonies étaient nourries une fois par semaine, parfois deux pendant l'été lors de leur pic d'activité, avec des drosophiles et du miel disposés dans l'aire de fourrage. En hiver, les colonies étaient installées dans une salle froide maintenue à 8°C pour leur permettre d'entrer en diapause. Celle-ci avait lieu en général de fin novembre à fin février, pour stimuler la période de

ponte au sortir de l'hiver et maintenir les colonies dans un cycle normal d'activité. Du printemps à l'automne, les colonies vivaient dans une salle climatisée permettant d'instaurer un gradient de température jour/nuit d'environ 8-10°C. Les températures étaient progressivement augmentées du printemps à l'été, puis redescendues de la même manière jusqu'en automne. La température nocturne était fixée en fonction de la saison, avec un maximum de 25°C en été, pour une température nocturne de 15°C. L'hygrométrie était maintenue à environ 50%. La photopériode était de 12/12h, sauf pendant l'hiver où les fourmis, en diapause, étaient placées dans une salle sombre.

## **Chapitre II:**

### **La reconnaissance sociale**

**chez la fourmi esclavagiste *M. ravouxi***

## ***Résumé de l'article 1***

Les sociétés d'insectes ont eu un succès écologique considérable (Hölldobler & Wilson 1990) et peuvent de ce fait représenter une ressource intéressante pour les prédateurs et les parasites (Schmid-Hempel 1998). Certaines espèces se sont spécialisées dans le détournement à leur profit de la ressource de travail que constituent les colonies d'insectes. Parmi elles, les fourmis esclavagistes sont d'autant plus remarquables que, pour profiter de la force de travail que représentent les ouvrières de leurs espèces hôtes, elles réalisent chroniquement des raids de pillage dans les colonies voisines de la leur. Ces raids leur permettent de renouveler le stock d'esclaves en rapportant le couvain dérobé au nid. Le but de notre étude était de déterminer si une espèce esclavagiste opportuniste (*M. ravouxi*) capable d'exploiter plusieurs espèces hôtes discriminait ces dernières sur la base de préférences induites par l'apprentissage ou en partie innées.

Nous avons montré que les ouvrières de l'espèce esclavagiste étudiée étaient capables de discriminer leur espèce hôte familière (avec laquelle elles avaient été élevées) mais aussi une espèce hôte non-familière d'une espèce non-hôte. Elles ont également consacré plus de temps d'exploration (antennations) et sont restées plus au contact direct de leur espèce hôte familière que d'une espèce non-hôte, nous permettant de poser l'hypothèse qu'elles demeuraient capables de discriminer la première d'une espèce non-hôte sur la base d'un apprentissage précoce ayant lieu à l'occasion des échanges d'hydrocarbures cuticulaires entre les individus de la colonie et résultant en la formation d'une image de référence (Lenoir *et al.* 1999).

Nous avons également démontré que les ouvrières *M. ravouxi* ne discriminaient pas les ouvrières conspécifiques hétérocoloniales de leurs propres sœurs parasites.



Ces résultats nous permettent de supposer que l'espèce esclavagiste *M. ravouxi* utilise un modèle de reconnaissance complexe basé à la fois sur des préférences innées et acquises pour reconnaître les différentes espèces qui composent son environnement social. De plus, elles semblent être capables de reconnaître différentes espèces hôtes, même lorsqu'elles ne sont pas familières avec. Ce résultat nous renseigne sur l'importance des pressions de sélection qui s'appliquent aux parasites sociaux pour être capables de reconnaître leurs espèces hôtes, du fait des coûts qu'engendrent les erreurs de reconnaissance pour le succès reproducteur des colonies parasites.

**1- Article 1 :**

**Opportunist slave-making ants *M. ravouxi* discriminate  
different host species from a non-host species**

Soumis à la revue *Insectes Sociaux* (05/2012)

Accepté le 25 Août 2012 (sous presse)

Olivier Delattre, Nicolas Châline, Stéphane Chameron, Emmanuel Lecoutey and Pierre Jaisson

*Laboratoire d’Ethologie Expérimentale et Comparée, Université Paris 13, 99 avenue Jean-  
Baptiste Clément, 93430 Villetaneuse, France. +33-(0)1.49.40.32.59*

## 1.1/ Abstract

Slave-making ants exploit the worker force of host colonies permanently and have to make recurrent raids in order to replenish the slave's stock. Some of these parasite species exploit different host species and few studies so far have been devoted to host species recognition mechanisms. Here, we tried to determine if opportunist slave-making ants using different host species rely on innate or experience-induced preferences to discriminate host from non-host species. We show that *Myrmoxenus ravouxi* slave-making workers are not only more aggressive toward heterocolonial host and potential host species workers when compared to non-host species workers, but also toward heterocolonial host workers than toward heterocolonial conspecifics. Moreover, *M. ravouxi* workers display more antennations and contacts toward the heterocolonial host species when compared to the non-host species. We also show that they do not discriminate between homocolonial and heterocolonial conspecifics. Together, our results suggest that this opportunistic slave-making ant species may have a complex social recognition template based on both innate and experience-based mechanisms.

Keywords: Social parasitism, Slave-making ants, Social recognition, *Temnothorax*, Coevolution

## 1.2/ Introduction

Slave-making ants invade and periodically raid neighboring colonies of their host species to pillage their brood (Buschinger, 1986, 2009), creating “chimeric” societies of two or more species. With a lifespan of sometimes more than ten years, these colonies may comprise individuals from different colonies and/or species with no overt conflict. Slave brood is brought back from raided host colonies, following a typical behavioral sequence (Buschinger et al., 1980).

For example, in the slave-making ant *Myrmoxenus ravouxi*, around the end of spring, parasite workers prospect around the nest until they find a host colony. Then, when a scout is successful, it returns to its nest and stimulates her parasite nestmates. This “group-recruitment” will launch the raid itself (Winter, 1979). After almost all defenders have fled or have been killed by the parasite workers, the members of the parasite colony (both parasites and slaves) take the brood and bring it back to their nest, where it will emerge. *M. ravouxi* is an opportunistic slave-maker parasitizing more than five *Temnothorax* species (Buschinger and Winter, 1983; Buschinger, 1989, 1997; Seifert, 2007). Such a strategy could represent an adaptive advantage for the parasite, thus accounting for the wider repartition area of *M. ravouxi* within its genus (Buschinger, 1997; Seifert, 2007). Yet, it is still crucial for a slave-making worker to recognize its different host from the non-host species during raids. Indeed, workers from non-host species, more distant phylogenetically (Emery, 1909; Beibl et al., 2005), may not be suitable nurses for parasite brood. This could increase the mortality rate and impact the parasitized colonies’ fitness. Moreover, non-host defenses may be more difficult to overcome for parasite workers as social parasites often exhibit specific adaptations to their host species (Lenoir et al., 2001; Foitzik et al., 2001, 2003; Brandt and Foitzik, 2004). Therefore, discrimination abilities in parasite species between potential hosts and other species are likely to evolve to be more efficient to discriminate suitable host species.

Members of a colony use a neural template of a common colonial label, which is learned as early as pre-imaginal development phase in ants (Isingrini et al., 1985), to discriminate nestmates from aliens (Lenoir et al., 1999). Inside the colony, individual chemical cues are blended together in the common label via allogrooming, passive contacts and trophallaxis (Soroker et al., 1994; 2003). This mechanism has been termed the “Gestalt” model by Crozier and Dix (1979).

Experiments with artificial mixed-species colonies of ants have shown that the more complex the colonial odor, the less aggressive toward non-nestmates workers of these colonies were (Errard, 1994; Errard et al., 2006). This has been attributed to the fact that a richer colonial label leads ants to form a broader recognition template that increases their tolerance threshold, leading to more frequent acceptance errors (Reeve, 1989; Errard et al., 2006). Slave workers raise and feed parasite brood until the emergence, and forage for the entire colony, while slave-making workers are most of the time inactive inside the nest (Buschinger, 1986). Emerging parasite workers may thus learn the colonial label essentially from the interactions with their slave workers. They may develop also a larger colonial template which reduces their ability to discriminate their host from their own species (Errard, 1994; Errard et al., 2006).

*M. ravouxi* often lives in areas where different host species are present. Nonetheless, parasitized colonies with more than one enslaved species are rare and we do not know if this is because pillaged brood from a different host species are destroyed by slaves or if parasite workers exclusively raid neighboring colonies of the imprinted host species. Indeed, we know that the species of the actual slave workers may influence slave-maker workers behavior, since expressed preferences for a more common host in a population may yield to adaptive plasticity particularly during raids (Schumann and Buschinger, 1995). Nonetheless, the authors of this study also demonstrated that workers from the slave-making ant *Chalepoxenus muellerianus*, enslaving two

different host species, were displaying an innate preference toward their main host species, irrespective of the species they were reared with.

In this experiment, we choose to test if a highly opportunist slave-making parasite is able to discriminate between non host, potential host, host and parasite workers (homo or heterocolonial for the last two) to assess if these social parasites rely on innate or experience-induced preferences to discriminate their host species and raid neighboring colonies.

We studied whether *M. ravouxi* could discriminate (1) between a familiar (actual) and non-familiar host species, and (2) between a potential (unfamiliar) host species and a non-host species. We monitored slave-making workers' aggressiveness and affiliative behaviors, such as antennations and contacts, to test for host-species discrimination when different social stimuli are presented. We also tested whether *M. ravouxi* workers exhibited a different behavior towards their own species. Indeed, the gestalt model predicts that the colonial odor will be homogenized in a mixed species colony, making species discrimination difficult (Errard, 1994; Errard and Hefetz, 1997; Errard et al., 2006). However, the behavioral repertoire and the role of slaves and slave-makers in parasitized colonies is very different (Buschinger and Winter, 1983; Buschinger, 1986) and species recognition in this context could allow better productivity of parasitized colonies, which could for example increase raid efficiency.

## 1.3/ Methods

### 1.3.1) Species

We chose *Myrmoxenus ravouxi* as our focal species. This species is a slave-making social parasite with a wide distribution in Europe ranging from France to Greece (Buschinger, 1997). It is known to parasitize several species of the diversified genus *Temnothorax* (Buschinger, 1983, 1989, 1997), among which *Temnothorax unifasciatus* and *T. rabaudi*. We used the main host (*T. unifasciatus*) and a potential host species (*T. rabaudi*) from a *M. ravouxi* parasitized population to assess if the social parasite was able to discriminate between its host, a potential host and a non-host species (*T. nylanderii*).

We collected the parasite (N = 12), parasite-free host (N = 14), potential host (N = 9) and non-host (N = 7) colonies in Vaison-la-Romaine (44°14'N, 5°04'E) in August 2006. Colonies were reared at the lab in small plastic boxes (15x10x5cm) with a plaster soil as foraging area, in a nest made from two microscope slides superimposed with a 1mm free space between them. All colonies were fed once a week with honey and fruit flies. The experiments took place in the late spring, from May to June 2007, after a three-month wintering period at 8°C from December to March. The photoperiod was 12/12h with a night temperature of 15°C and a day temperature of 22°C at the time of the experiment. The humidity was kept around 60%.

### 1.3.2) Experimental design

We used dyadic presentations to test the discrimination abilities of *M. ravouxi* workers. Our experimental device was a circular arena (3 cm diameter) where two workers (used as stimuli) were tied at opposite sides with a thin nylon filament between their head and thorax. To limit moves and reciprocal interactions, these workers were also anesthetized beforehand with carbon dioxide during

fifteen seconds. Then, we introduced a slave-making worker in the arena, and we covered the device with a thin glass slide.

No ant was used for more than one test, neither as experimental focus nor as social stimuli.

#### 1.3.4) Behavioral observations

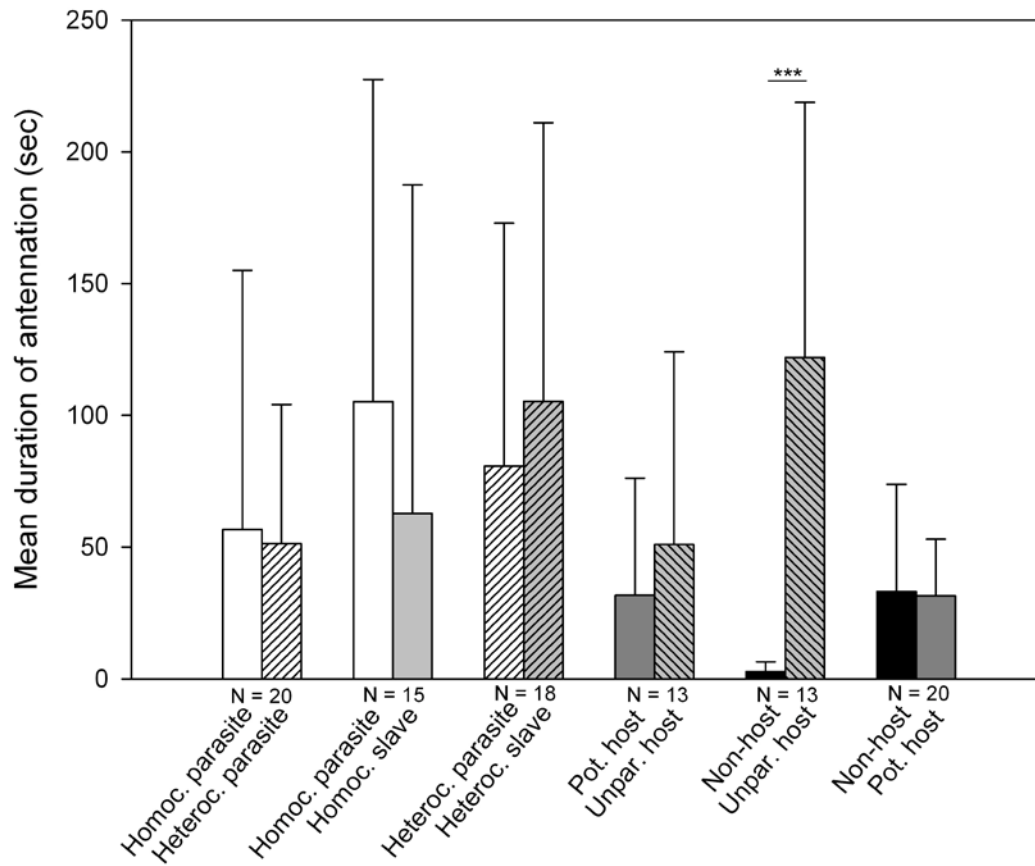
Our tests lasted for ten minutes. We recorded mean antennation and close-contact durations, which we assume are representative respectively of the interest for the congener and affiliative behaviors. The intensity of the agonistic response of *M. ravouxi* workers during the tests was assessed using the mean duration of bites. Stinging was also observed but less often than bites, maybe because parasite workers preferentially display this behavior during raids. We discarded the tests where no contact occurred within two minutes.

Comparisons were performed using permutation tests for paired samples. All statistical tests were implemented with StatXact (Cytel Studio, version 8.0.0, 2007).



## 1.4/ Results

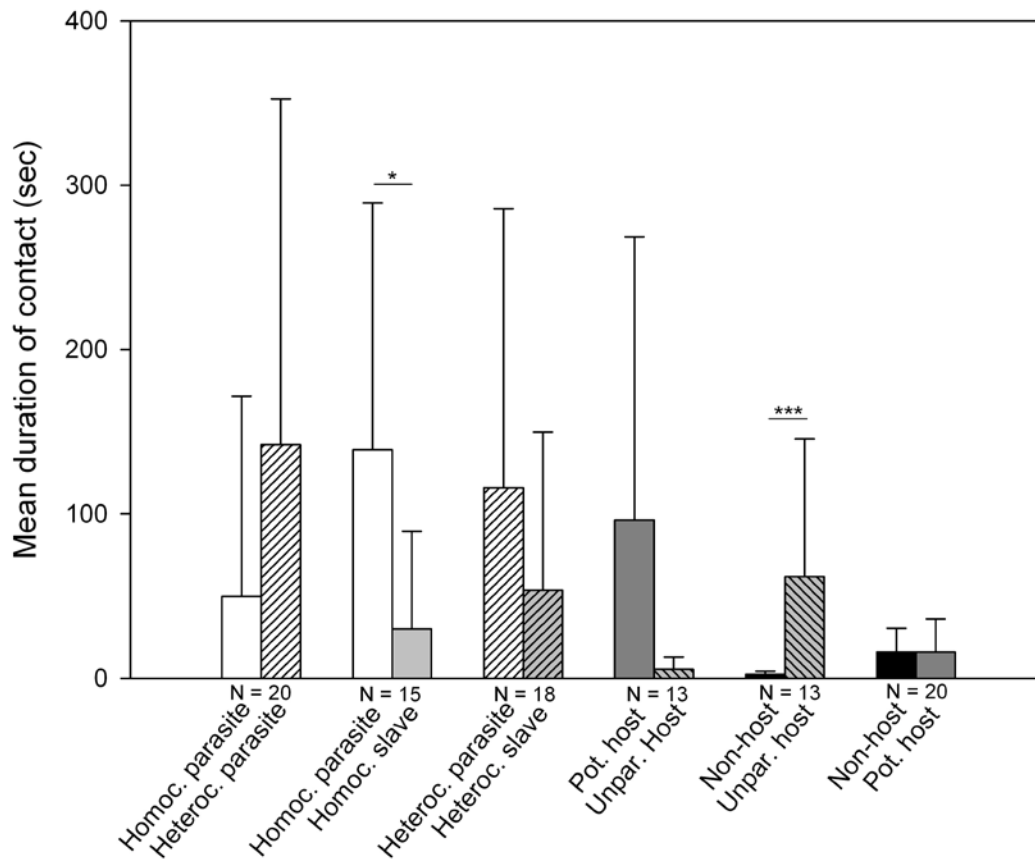
### 1.4.1) Antennations



**Fig. II-1.** Mean duration of antennation in seconds ( $\pm$ S.E) of *M. ravouxi* workers during test choices with homocolonial and heterocolonial *M. ravouxi* parasites (Homoc. parasite and Heteroc. parasite), homocolonial and heterocolonial *T. unifasciatus* slaves (Homoc. and Heteroc. slaves), unparasitized *T. unifasciatus* hosts (Unpar. host), potential *T. rabaudi* hosts (Pot. host) and *T. nylanderi* non-hosts (Non-host). \*\*\*  $P < 0.001$

*M. ravouxi* workers antennated heterocolonial workers from the host species *T. unifasciatus* longer than workers from the non-host species *T. nylanderii* (Fig. 1; Permutation test;  $t = -2.848$ ,  $P = 4.8 \cdot 10^{-4}$ ). Other comparisons were not statistically different ( $P > 0.368$ ).

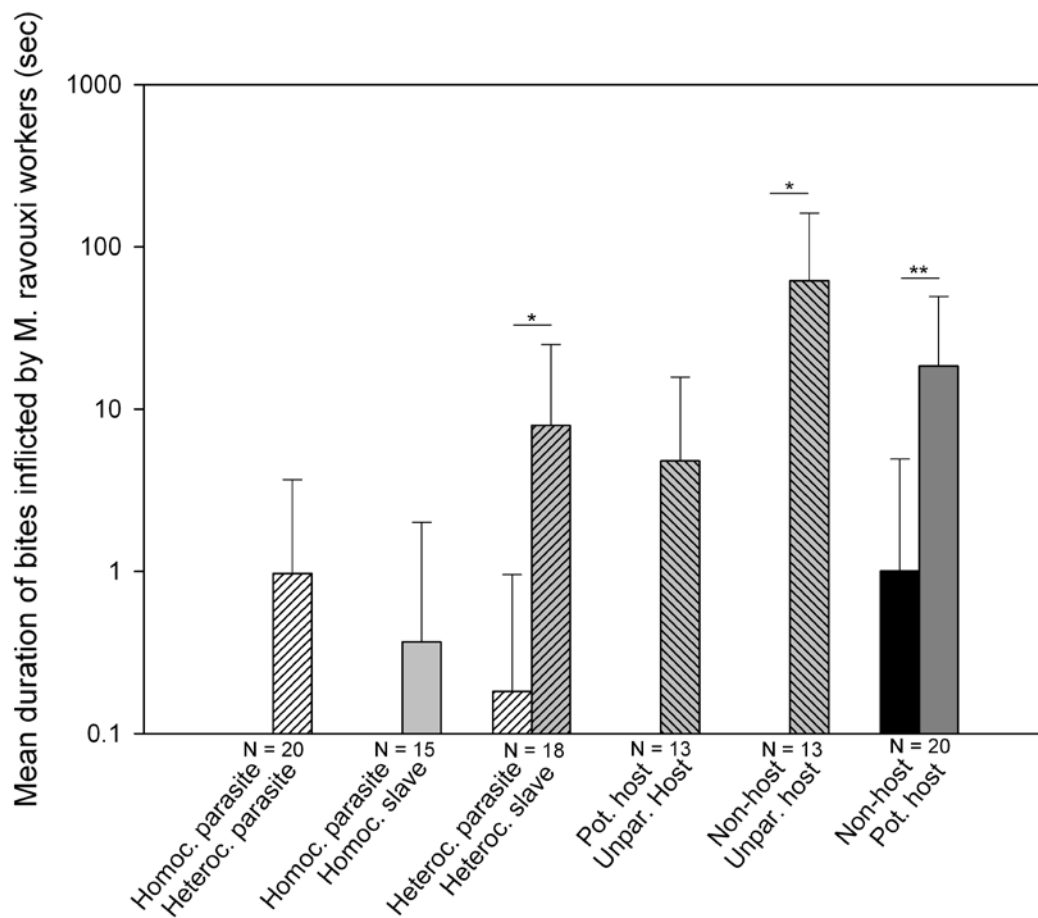
#### 1.4.2) Contacts



**Fig. II-2** Mean duration of contact in seconds ( $\pm$ S.E) during test choices with homocolonial and heterocolonial *M. ravouxi* parasites (Homoc. parasite and Heteroc. parasite), homocolonial and heterocolonial *T. unifasciatus* slaves ((Homoc. and Heteroc. slaves), unparasitized *T. unifasciatus* hosts (Unpar. host), potential *T. rabaudi* hosts (Pot. host) and *T. nylanderii* non-hosts (Non-host). \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$

*M. ravouxi* workers stayed more in contact with their parasite sisters than with their slaves (Fig. 2; Permutation test;  $t = 2.384$ ,  $P = 0.0134$ ). They also remained more time in contact with heterocolonial free-living host workers from the host species *T. unifasciatus* than with workers from the non-host species *T. nylanderi* ( $t = -2.169$ ,  $P = 9.8 \cdot 10^{-4}$ ). Other comparisons were not significant ( $P > 0.127$ ).

### 1.4.3) Bites



**Fig.II-3** Mean duration (logarithmic scale) of bites in seconds ( $\pm$ S.E) during test choices with homocolonial and heterocolonial *M. ravouxi* parasites (Homoc. parasite and Heteroc. parasite), homocolonial and heterocolonial *T. unifasciatus* slaves ((Homoc. and Heteroc. slaves), unparasitized

*T. unifasciatus* hosts (Unpar. host), potential *T. rabaudi* hosts (Pot. host) and *T. nylanderii* non-hosts (Non-host). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

*M. ravouxi* workers were more aggressive toward *T. unifasciatus* heterocolonial host workers than toward *M. ravouxi* heterocolonial parasite workers (Fig. 3; Permutation test;  $t = -1.831$ ,  $P = 0.0312$ ). They also bit more *T. unifasciatus* heterocolonial host workers than *T. nylanderii* non-host workers ( $t = -1.96$ ,  $P = 0.0156$ ). Finally, they aggressed more workers from the potential host species *T. rabaudi* than workers from the non-host species *T. nylanderii* ( $t = -2.198$ ,  $P = 9.8 \cdot 10^{-3}$ ). Other comparisons were not statistically different ( $P > 0.125$ ). Table 1 summarizes our different results.

### **1.5/ Discussion**

In heterospecific encounters, slave-making workers displayed more aggressive behaviors against workers from host and potential host species, than against non-host workers. Moreover, parasite workers did not bite more workers from the host than from the potential host species. Taken together, these results suggest that *M. ravouxi* workers discriminate host species from non-host species but not its host species from a potential host species. Our colonies were kept isolated in the lab from autumn to spring, so that no familiarization effect to any species could affect the behavioral response of our workers during the tests (Heinze et al., 1996; Knaden and Wehner, 2003; Sanada-Morimura et al., 2003). Therefore, *M. ravouxi* workers discrimination between host - familiar or not- and non-host species is at least partially independent of previous experience.

Because slave-making ants depend on their host species during the entire colony's life, raids are necessary to replenish the worker force as the slave stock decreases with time. Thus, the selection pressure is strong on parasite societies to be able to find and pillage host colonies and to

discriminate suitable host from non-host species (Foitzik et al., 2001, 2003; Hare and Alloway, 2001; Blatrix and Herbers, 2003; Brandt and Foitzik, 2004; Fischer and Foitzik, 2004; Brandt et al., 2005; Fischer-Blass et al., 2006). Therefore, a genetically based recognition template of potential hosts appears all the more adaptive than it can allow host-shifting or raiding on different species according to the most commonly available host species. Indeed, *Myrmoxenus ravouxi* exploits at least six different hosts (Buschinger, 1989; Seifert, 2007). Phylogenetic data suggest that these host species are closely related with each other, and that the *Myrmoxenus* genus has already a long independent evolutionary history from the *Temnothorax* genus (Beibl et al., 2005). We can thus hypothesize that this slave-making species derived from and/or parasitized a common ancestor to its group of host species (Emery, 1909; Baur et al., 1995; Parker and Rissing, 2002; Sumner et al., 2004). These species may share some common cuticular compounds which may be used by the slave-maker to recognize them as potential hosts. Moreover, *M. ravouxi* olfactory system may have been selected for better discrimination of host species, as a consequence of a coevolutionary process (Thompson, 1994) between this slave-making ant and its host species. However, the fact that we recorded no difference in aggressiveness of *M. ravouxi* workers for the host-potential host comparisons could also be interpreted as a consequence of a standardized environment, as we kept in isolation our colonies for six months prior to the tests. Some studies indeed demonstrated that diet and environment could influence the colony odor (Crosland, 1989; Liang and Silverman, 2000; van Zweden et al., 2009b; see Sturgis and Gordon, 2012). Still, van Zweden et al. (2009a) also showed that a homogenized environment will not affect the discrimination ability of ants, suggesting that heritable cues play the most important part in nestmate recognition (van Zweden et al., 2010).

Parasite workers antennated and stayed more in contact with their host species workers than with the non-host workers, displaying non-agonistic and affiliative behaviors towards them. This may be related to the fact that the recognition template of *M. ravouxi* workers comprises some of the familiar host species-specific chemical cues. In the study of Schumann and Buschinger (1995), *C. muellerianus* workers imprinted on the potential host label inspected potential host species nest entrances more often than workers imprinted on the main host species, so that an effect of experience could not be entirely rejected. In our experiment, *M. ravouxi* workers were certainly more familiar with the species-specific chemical cues of *T. unifasciatus*, and their recognition template is likely to include them, at least partially. This could explain here the more frequent affiliative behaviors displayed toward the host species. Heterocolonial workers from their host species may elicit affiliative or aggressive behaviors depending on whether they are perceived under or over the tolerance threshold of parasite workers (Reeve, 1989). Nonetheless, the experimental design used here offer a choice between different social stimuli at the same time. This forced the contrast between stimuli and may have influenced the behavioral decisions because of these stressful conditions, but gives us an interesting insight on the discrimination abilities of *M. ravouxi* workers.

We did not record any difference in aggressiveness of parasite workers toward their slaves and their sisters. Within parasitized colonies, parasite and slaves are likely to share common cuticular compounds and to display the same colonial label (Franks et al., 1990; Kaib et al., 1993; Bonavita-Cougourdan et al., 1996, 1997; d’Ettorre et al., 2002; Brandt et al., 2005; reviewed in Lenoir et al., 2001). Homocolonial slaves are perceived as nestmates by *M. ravouxi* workers (see Lenoir et al., 1999). Nonetheless, it has been demonstrated that in experimental mixed-species colonies, different species can keep distinct profiles (Errard et al., 2006). Here, *M. ravouxi* workers

displayed an affiliative preference for their nestmate sisters, as they stayed more in contact with them than with the slaves of their colony. Consequently, this test clearly showed that *M. ravouxi* workers discriminated their sisters from their slaves in these experimental conditions.

Parasite workers did not behave differently towards conspecific heterocolonial workers than towards their sisters but, in presence of a parasite and a slave of another colony, they were also more aggressive towards slaves. It reinforces the idea that parasite workers' discrimination between species inside a parasitized colony could be the consequence of them having a colonial template where species-specific cues play a major role, thus allowing the discrimination of host slaves, which display a slightly different chemical signature than the parasite workers. The high weight of parasite species-specific cues in the matching process between the perceived odor and the template, combined to the permissive tolerance threshold imposed by the mixed colony condition, could then explain the high tolerance for homospecific congeners, be they from another colony or not. This ability could even be beneficial since relying on specific cues may for instance enable *M. ravouxi* workers to avoid agonistic interactions when encountering heterocolonial homospecific workers during raiding periods. Although Schumann (1992) observed occasional intraspecific raids in *C. muellerianus* in a field study, since then, very few studies have been devoted to intraspecific slavery in slave-making ants (Le Moli et al., 1993; Kronauer et al., 2003). Moreover, it seems difficult to disentangle the mechanisms of such a behavior without repeated field observations coupled with population studies. Territorial conflicts could lead to attacks of neighboring colonies, and the brood then opportunely brought back into the nest (Wilson, 1975 ; Alloway, 1980 ; Stuart and Alloway, 1982 ; Pollock and Rissing, 1989; Foitzik and Heinze, 1998; see Buschinger, 2009). But Le Moli et al. (1993) recorded almost no aggressive behavior between residents and invaders in *Polyergus rufescens*, and pillages did not last. This could be interpreted as an “error” in the raiding

attempt, with invaders not completing the entire cycle of their raids. Indeed, during the raiding period, one may hypothesize that scouts could trail territorial marks of a colony to find a suitable target (Franks et al. 2007a, 2007b; Cao and Dornhaus, 2012). In parasitized colonies, because foragers are enslaved host workers only (Buschinger, 1986), these marks may contain species-specific host chemical cues that could be mistakenly lead parasite workers to initiate a raid, as observed by Schumann (1992) and Le Moli et al. (1993), on a parasite colony. Because parasitized colonies chemical label includes both species-specific cues of host and parasite species, it thus support the idea that host species-specific cues may also have a heavier relative weight either in the perceptual component or in the decision process of slave-making ants, which increase the efficiency of raids by facilitating the recognition of host species.

## **1.6/ Acknowledgments**

Olivier Delattre was supported by the French Ministry of Research. Nicolas Châline and Stéphane Chameron were supported by the ANR project SEUILS ANR-09-JCJC-0031.



## 1.7/ References

- Alloway T.M. 1980. The origins of slavery in leptothoracine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Am. Nat.* **115**: 247-261
- Baur A., Chalwatzis N., Buschinger A. and Zimmermann F.K. 1995. Mitochondrial DNA sequences reveal close relationships between social parasitic ants and their host species. *Curr. Genet.* **28**: 242-247
- Beibl J., Stuart R.J., Heinze J. and Foitzik S. 2005. Six origins of slavery in formicoxenine ants. *Insect. Soc.* **52**: 291-297
- Blatrix R. and Herbers J.M. 2003. Coevolution between slave-making ants and their hosts: host specificity and geographical variation. *Mol. Ecol.* **12**: 2809-2816
- Bonavita-Cougourdan A., Rivière G., Provost E., Bagnères A.G., Roux M., Dusticier G. and Clément J.L. 1996. Selective adaptation of the cuticular hydrocarbon profiles of the slave-making ants *Polyergus rufescens* Latr. and their *Formica rufibarbis* Fab. and *F. cunicularia* Latr. slaves. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **113**: 313-329
- Bonavita-Cougourdan A., Bagnères A.G., Provost E., Dusticier G. and Clément J.L. 1997. Plasticity of the cuticular hydrocarbon profile of the slave-making ant *Polyergus rufescens* depending on the social environment. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **116**: 287-302
- Brandt M. and Foitzik S. 2004. Community context and specialization influence coevolution between a slavemaking ant and its hosts. *Ecology* **85**: 2997-3009
- Brandt M., Heinze J., Schmitt T. and Foitzik S. 2005. A chemical level in the coevolutionary arms race between an ant social parasite and its hosts. *J. Evol. Biol.* **18**: 576-586
- Buschinger, A., Ehrhardt, W and Winter, U. 1980. The organization of slave raids in dulotic ants - a comparative study (Hymenoptera; Formicidae). *Z. Tierpsychol.*, **53**: 245-264.
- Buschinger A. and Winter U. 1983. Population studies of the dulotic ant, *Epimyrma ravouxi*, and the degenerate slavemaker, *E. kraussei* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomol. Gen.* **8**: 251-266
- Buschinger A. 1986. Evolution of social parasitism in ants. *Trends Ecol. Evol.* **1**: 155-160

- Buschinger A. 1989. Evolution, speciation, and inbreeding in the parasitic ant genus *Epimyрма* (Hymenoptera, Formicidae). *J. Evol. Biol.* **2**: 265-283
- Buschinger A. 1997. Socially parasitic formicoxenine ants from Western Europe - a review (Hymenoptera, Formicidae). In: *Proc. Int. Coll. Social Insects* (Kipyatkov V.E., Ed), vol 3-4. Russian Language Section of the IUSI, Socium, St. Petersburg, pp 1-9
- Buschinger A. 2009. Social parasitism among ants: a review (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol. News*, **12**: 219-235.
- Cao T.T. and Dornhaus A. 2012. Ants use pheromone markings in emigrations to move closer to food-rich areas. *Insect. Soc.* **59**: 87-92
- Crosland M.W.J. 1989. Kin recognition in the ant *Rhytidoponera confusa*. I. Environmental odour. *Anim. Behav.* **37**: 912-919
- Crozier R.H. and Dix M.W. 1979. Analysis of two genetic models for the innate components of colony odor in social Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **4**: 217-224
- d'Ettorre P., Mondy N., Lenoir A. and Errard C. 2002. Blending in with the crowd: social parasites integrate into their host colonies using a flexible chemical signature. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.* **269**: 1911-1918
- Emery C. 1909. Über den Ursprung der dulotischen, parasitischen und myrmekophilen Ameisen. *Biol. Centralbl.* (Berlin) **29**: 352-362
- Errard C. 1994. Development of interspecific recognition behavior in the ants *Manica rubida* and *Formica selysi* (Hymenoptera: Formicidae) reared in mixed-species groups. *J. Insect Behav.* **7**: 83-99
- Errard C. and Hefetz A. 1997. Label familiarity and discriminatory ability of ants reared in mixed groups. *Insect. Soc.* **44**: 189-198
- Errard C., Hefetz A. and Jaisson P. 2006. Social discrimination tuning in ants: template formation and chemical similarity. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **59**: 353-363
- Fischer B. and Foitzik S. 2004. Local co-adaptation leading to a geographical mosaic of coevolution in a social parasite system. *J. Evol. Biol.* **17**: 1026-1034

- Fischer-Blass B., Heinze J. and Foitzik S. 2006. Microsatellite analysis reveals strong but differential impact of a social parasite on its two host species. *Mol. Ecol.* **15**: 863-872
- Foitzik S. and Heinze J. 1998. Nest site limitation and colony take over in the ant, *Leptothorax nylanderi*. *Behav. Ecol.* **9**: 367-375
- Foitzik S., Deheer C.J., Hunjan D.N. and Herbers J.M. 2001. Coevolution in host-parasite systems: behavioural strategies of slave-making ants and their hosts. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.* **268**: 1139-1146
- Foitzik S., Fischer B. and Heinze J. 2003. Arms-races between social parasites and their hosts: Geographic patterns of manipulation and resistance. *Behav. Ecol.* **14**: 80-88
- Franks N., Blum M., Smith R.K. and Allies A.B. 1990. Behavior and chemical disguise of cuckoo ant *Leptothorax kutteri* in relation to its host *Leptothorax acervorum*. *J. Chem. Ecol.* **16**: 1431-1444
- Franks N.R, Dornhaus A., Hitchcock G., Guillem R., Hooper J. and Webb C. 2007a. Avoidance of conspecific colonies during nest choice by ants. *Anim. Behav.* **73**: 525-534
- Franks N.R, Hooper J.W, Dornhaus A., Aukett P.J, Hayward A.L. and Berghoff S.M. 2007b. Reconnaissance and latent learning in ants. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.* **274**: 1505-1509
- Hare J.F. and Alloway T.M. 2001. Prudent *Protomognathus* and despotic *Leptothorax duloticus*: differential costs of ant slavery. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**: 12093-12096
- Heinze J., Foitzik S., Hippert A. and Hölldobler B. 1996. Apparent dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nylanderi*. *Ethology* **102**: 510-522
- Isingrini M., Lenoir A. and Jaisson P. 1985. Preimaginal learning as a basis of colony-brood recognition in the ant *Cataglyphis cursor*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**: 8545-8547
- Kaib M., Heinze J. and Ortius D. 1993. Cuticular hydrocarbons profiles in the slave-making ant *Harpogoxenus sublaevis* and its hosts. *Naturwissenschaften* **80**: 281-285
- Knaden M. and Wehner R. 2003. Nest defense and conspecific enemy recognition in the desert ant *Cataglyphis fortis*. *J. Insect Behav.* **16**: 717-730

- Kronauer D.J.C., Gadau J. and Hölldobler B. 2003. Genetic evidence for intra- and interspecific slavery in honey ants (genus *Myrmecocystus*). *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.* **270**: 805-810
- Le Moli F., Grasso D.A, d'Ettorre P. and Mori A. 1993. Intraspecific slavery in *Polyergus rufescens* Latr. (Hymenoptera, Formicidae): field and laboratory observations. *Insect. Soc.* **40**: 433-437
- Lenoir A., Fresneau D., Errard C. and Hefetz A. 1999. Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: *Information Processing in Social Insects* (Detrain C, Deneubourg JL and Pasteels J, Eds), Birkhauser Verlag, Basel. pp 219-237
- Lenoir A., d'Ettorre P., Errard C. and Hefetz A. 2001. Chemical ecology and social parasitism in ants. *Annu. Rev. Entomol.* **46**: 573-599
- Liang D. and Silverman J. 2000. "You are what you eat": Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften* **87**: 412-416
- Parker J.D. and Rissing S.W. 2002. Molecular evidence for the origin of workerless social parasites in the ant genus *Pogonomyrmex*. *Evolution* **56**: 2017-2028
- Pollock G.B. and Rissing S. W. 1989. Intraspecific brood raiding, territoriality, and slavery in ants. *Am. Nat.* **133**: 61-70
- Reeve H.K. 1989. The evolution of conspecific acceptance thresholds. *Am. Nat.* **133** (3): 407-435
- Sanada-Morimura S., Minai M., Yokoyama M., Hirota T., Satoh T. and Obara Y. 2003. Encounter-induced hostility to neighbors in the ant *Pristomyrmex pungens*. *Behav. Ecol.* **14**: 713-718
- Schumann R.D. 1992: Raiding behavior of the dulotic ant *Chalepoxenus muellerianus* (Finzi) in the field (Hymenoptera: Formicidae, Myrmicinae). *Insect. Soc.* **39**: 325-333
- Schumann R.D. and Buschinger A. 1995. Imprinting effects on host-selection behavior of slave-raiding *Chalepoxenus muellerianus* (Finzi) workers (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology* **99**: 243-251
- Seifert B. 2007. *Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas*. Lutra Verlags- und Vertriebsgesellschaft, Tauer

- Soroker V., Vienne C., Hefetz A. and Nowbahari E. 1994. The postpharyngeal gland as a "Gestalt" organ for nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*. *Naturwissenschaften* **81**: 510-513
- Soroker V., Lucas C., Simon T., Fresneau D., Durand J.L. and Hefetz A. 2003. Hydrocarbon distribution and colony odour homogenisation in *Pachycondyla apicalis*. *Insect. Soc.* **50**: 212-217
- Stuart R.J. and Alloway T.M. 1982. Territoriality and the origin of slave raiding in leptothoracine ants. *Science* **215**: 1262-1263
- Sturgis S.J. and Gordon D.M. 2012. Nestmate recognition in ants (Hymenoptera: Formicidae): a review. *Myrmecol. News* **16**: 101-110
- Sumner S., Aanen D.K., Delabie J. and Boomsma J.J. 2004. The evolution of social parasitism in *Acromyrmex* leaf-cutting ants: a test of Emery's rule. *Insect. Soc.* **51**: 37-42
- Thompson J.N. 1994. *The coevolutionary process*. The University of Chicago Press, Chicago
- van Zweden J. S., Dreier S. and d'Ettorre P. 2009a. Disentangling environmental and heritable nestmate recognition cues in a carpenter ant. *J. Insect Physiol.* **55**: 158-163
- van Zweden J. S., Heinze J., Boomsma J. J. and d'Ettorre P. 2009b. Ant queen egg-marking signals: matching deceptive laboratory simplicity with natural complexity. *PLoS ONE* **4**: e4718
- van Zweden J. S. and d'Ettorre P. 2010 Nestmate recognition in social insects and the role of hydrocarbons. In *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology* (Blomquist G. J. and Bagnères A.G., Eds). Cambridge University Press, Cambridge. pp. 222-243
- Wilson E.O. 1975. Slavery in ants. *Sci. Am.* **232**: 32-36
- Winter U. 1979. Untersuchungen zum Raubzugverhalten der dulotischen Ameise *Harpagoxenus sublaevis* (Nyl.). *Insect. Soc.*, **26**: 123-135

## **Chapitre III :**

**Effet de la pression du parasite esclavagiste sur  
les mécanismes de reconnaissance d'espèces  
sympatriques, hôtes et non-hôtes**

## ***Résumé de l'article 2***

Le parasitisme social est considéré comme étant une importante pression de sélection pour les espèces hôtes. C'est en particulier le cas avec les fourmis esclavagistes qui attaquent et pillent les colonies voisines de leurs espèces hôtes pour renouveler leur stock d'esclaves (Buschinger 1986), affectant largement le succès reproducteur des colonies cibles (Foitzik & Herbers 2001; Hare & Alloway 2001; Johnson & Herbers 2006). Considérant la pression de sélection appliquée par les fourmis esclavagistes à leurs espèces hôtes, on s'attend à ce que la coévolution hôte-parasite donne lieu à une course aux armements évolutive entre les espèces concernées (Van Valen 1973).

Nous avons donc testé cette hypothèse en cherchant des mécanismes de défense spécifiques au parasite chez différentes espèces hôtes, au moyen d'introductions d'ouvrières parasites dans des colonies pour mimer le comportement des *scouts* esclavagistes durant la phase de raids. Nous avons comparé le comportement des colonies de deux espèces hôtes avec celle d'une espèce non-hôte sympatriques de *M. ravouxi*, provenant soit d'un site où le parasite était présent, soit d'un site éloigné de son aire de répartition de plusieurs centaines de kilomètres. Nous avons relevé le nombre moyen de morsures infligés à des intruses introduites expérimentales par les membres des colonies testées, ainsi que la fréquence d'éjection.

L'analyse de nos résultats a fait l'objet d'une procédure complémentaire au traitement brut. En effet, nous avons également normalisé nos données (morsures) par la distance chimique entre les labels des individus introduits et des colonies testées (cf. Boulay *et al.* 2007 ; Martin *et al.* 2007 ; Vogel *et al.* 2009). Cette procédure s'appuyait sur l'hypothèse qu'une reconnaissance spécifique du parasite était nécessaire pour manifester des comportements agonistiques plus

importants à son encontre. La normalisation de nos résultats permettait donc de donner un poids particulier aux différences qualitatives entre les labels pour s'émanciper des différences quantitatives, qui peuvent masquer des différences comportementales.

L'analyse chimique a montré que les labels des colonies étaient bien distincts, y compris ceux des sociétés parasites comparativement à ceux des sociétés non parasitées de l'espèce hôte de la population étudiée. Les résultats comportementaux n'ont pas permis de mettre en évidence une réponse spécifique au parasite esclavagiste *M. ravouxi* par rapport à un intrus non-parasite chez deux espèces sympatriques (hôte et non-hôte), sauf après normalisation par la distance chimique.

La comparaison des deux méthodes de traitement des données (avec ou sans normalisation) révèle donc des différences qui peuvent être interprétées comme une réponse spécifique au parasite esclavagiste *M. ravouxi*. Cette réponse se retrouve à la fois chez l'espèce hôte principale (ici, *T. rabaudi*) du parasite esclavagiste, mais aussi chez une espèce non-hôte, *T. nylanderi*. De plus, les colonies de cette dernière ont également plus souvent éjecté les ouvrières parasites que celles de l'espèce hôte.

Nous discutons dans cette étude l'importance de prendre en compte le contexte global des différentes interactions possibles entre un parasite social et les espèces sympatriques pour mieux appréhender l'impact des espèces esclavagistes sur l'évolution des mécanismes de reconnaissance et de minimisation des coûts des conflits interspécifiques chez des espèces sympatriques.



## 1- Article 2:

### **Do host species evolve a specific response to slave-making ants?**

Soumis à la revue *Frontiers in Zoology* (Décembre 2011)

En révision

Olivier Delattre<sup>1</sup>, Rumsaïs Blatrix<sup>2</sup>, Nicolas Châline<sup>1</sup>, Stéphane Chameron<sup>1</sup>, Anne Fédou<sup>1</sup>,

Chloé Leroy<sup>1</sup> and Pierre Jaisson<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Laboratoire d’Ethologie Expérimentale et Comparée, Université Paris 13, 99 avenue Jean-Baptiste Clément, 93430 Villetaneuse, France. +33-(0)1.49.40.32.59*

<sup>2</sup>*Centre d’Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, Centre National de la Recherche Scientifique, 1919 route de Mende, F-34293 Montpellier cedex 5, France*

## **1.1/ Abstract**

### 1.1.1) Background

Social parasitism is considered an important selective pressure for host species. This is particularly the case for dulotic ants (so called slave-making) which pillage the brood of host colonies to increase the worker force of their own colony. Such raids can have an important impact on the fitness of the host nest. An arms race between hosts and parasites is thus expected, which can lead to geographic variation in host defenses. We tested for the occurrence of defense mechanisms in different *Temnothorax* ants communities that would be specifically elicited by the dulotic ant *Myrmoxenus ravouxi*. Agonistic interactions are often used to assess if ants discriminate social parasites. If host species have evolved a specific recognition mechanism toward their parasite, we hypothesize that this could not be fully explained by the mere cuticular profiles dissimilarity, but also involve qualitative detection of some specific compounds. Here we normalized our results by the chemical distance between host and parasite colonies to test for our hypothesis.

### 1.1.2) Results

Cuticular hydrocarbon profiles were distinct between species, but host species did not show a clearly higher aggression rate towards the parasite than toward non-parasite intruders, unless the degree of response was normalized with the chemical distance between intruders and recipient colonies. By doing so, we show that workers of the host and of a non-host species in the parasitized site displayed more agonistic behaviors (bites and ejections) towards parasite than non-parasite intruders.

### 1.1.3) Conclusions

We used two different behavioral analyses (normalized with the chemical distance between colonies or not) to test for our hypothesis. Normalized data show behavioral differences which could indicate qualitative and specific parasite recognition. We finally stress the importance of considering the whole set of potentially interacting species to understand the coevolution between social parasites and their hosts.

Keywords: Coevolution, Formicidae, Social recognition, Social parasitism, *Temnothorax*

## 1.2/ Introduction

Parasitism is an interspecific interaction where the host species suffers from the exploitation of its resources by the parasite. Any defense strategy minimizing the impact of the parasite on host fitness is therefore likely to be selected for. In this case, escalation of reciprocal counter-adaptations between the parasite and its host is likely to lead to an "arms race" [1]. This coevolutionary process is considered an important factor that shapes species life history and plays a key role in the geographic mosaic of coevolution through local adaptations [2,3]. Thus, elucidating patterns of local host-parasite interactions helps understanding prominent factors in the evolution of life history traits.

Social parasitism is a complex parasite-host interaction since it not only involves individuals but societies. Mainly found in social bees, wasps and ants, social parasites use the worker force of another social species to rear their own brood [4]. In the case of dulotic species (so called slave-makers), the parasite workers are specialized for conducting raids in a two-step process [5]. First, scouts individually search for potential host nests. When successful, the scout returns to its nest and recruits nestmates to initiate the raid, during which slave-maker ants seize brood and bring it back home. Later, host workers emerging in the parasite nest will be imprinted on and integrated into the mixed colony where they rear the parasite brood, feed and groom the parasite workers, defend the nest against aliens, and even participate in raids. Raids can jeopardize host colony survival [6-8], therefore exerting a strong selection pressure upon the hosts. Reciprocally, there is some evidence that hosts also exert a selection pressure on their parasites in return [9], since resistance by host colonies might prevent enslavement [10]. Coevolutionary processes between dulotic ant species and their hosts then can escalate to an evolutionary arms race [11,12].

In ants, social recognition is based on cuticular hydrocarbon profiles which display qualitative differences between distinct species and quantitative ones between homospecific colonies [13-15]. Since each species is characterized by a qualitatively unique blend of cuticular hydrocarbons [14], an innate mechanism to detect some chemical cues from the parasite could have evolved in host species. In addition, we know that ants can learn to recognize aliens and modify their subsequent behavior in a variety of social contexts [16-18] and social parasites have been proven to modify host behavior in some species [12,19,20].

*Myrmoxenus ravouxi* is a dulotic social parasite with a wide distribution in Europe ranging from France to Greece [21]. It is known to parasitize several species of the diversified genus *Temnothorax* [21-23]. Some *Temnothorax* species are potential hosts for several social parasites [5], while others are never parasitized. Interestingly, the distribution range of the hosts often exceeds the parasite's, leaving some host populations parasite-free. This ant genus thus allows for comparative analysis of defense strategy both between species (host and non-host) and within species (populations with and without parasites). In this study we tested whether the presence of a social parasite within an ant community correlated with a specific behavioral defense strategy of local host or non-host populations. Behavioral responses of colonies to the introduction of parasite (*M. ravouxi*), homospecific and heterospecific workers were compared between hosts (*Temnothorax unifasciatus* and *T. rabaudi*) and non-host (*T. nylanderi*) species from two sites, one with and one without the parasite. We expected the behavioral response of host species' colonies in the parasitized population to be more aggressive toward parasite intruders than toward other non-parasite intruders.

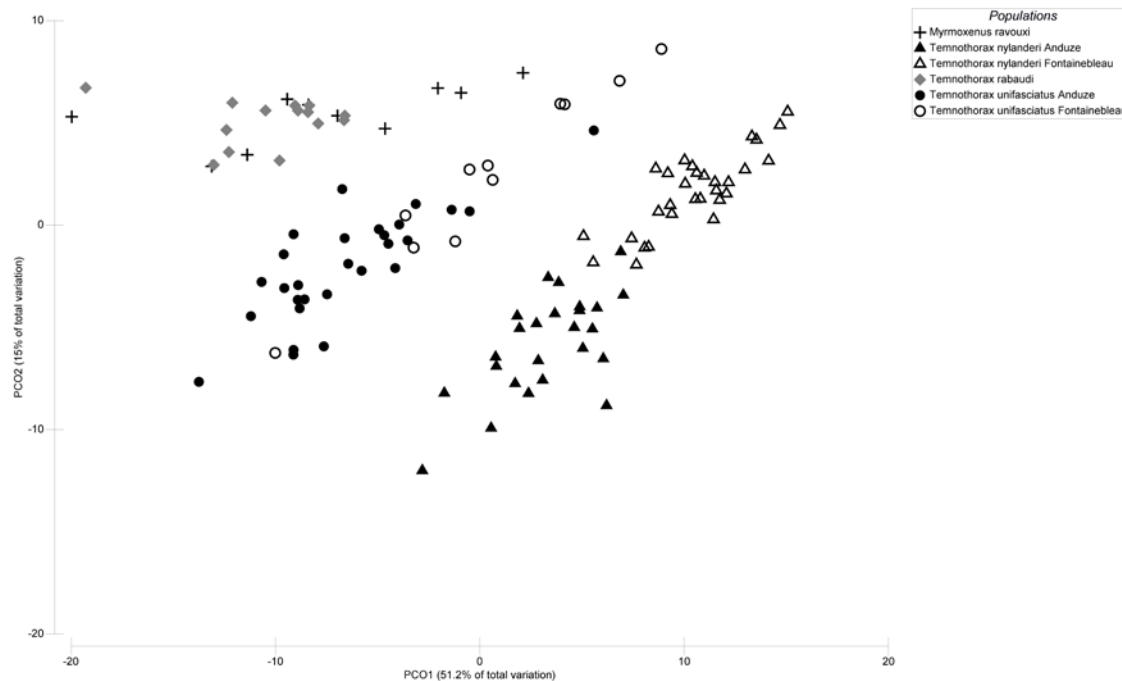
It is usually assumed that agonistic interactions between ants depend on the dissimilarity between cuticular hydrocarbon profiles [14,24,25], with aggressiveness escalating when dissimilarity increases [26,27]. A new theoretical model recently emerged based on

empirical data [28], which suggests that ants may discriminate aliens using the presence of undesirable chemical compounds absent from their nestmates' chemical signature [25], therefore focusing on qualitative differences rather than on global dissimilarity. To separate out quantitative and qualitative components of the chemical recognition, we assessed the chemical quantitative dissimilarity between colonies by calculating the Euclidean distance using chromatogram peaks areas [29-31] for components that were found in all groups, leaving out components that occurred only in some groups and were therefore responsible for qualitative differences between cuticular profiles (see supplementary data). Such methodology amounts to calculating the distance between colonies in a n-dimensional space where all peaks have the same weight ( $1/n$ ). This simple calculation is not intended to mirror the actual sensory and cognitive treatment used by ants in social decision-making processes, but it provides us with a way to quantitatively assess chemical distance without referring to any special role for particular compounds. If host species have evolved a specific recognition mechanism toward their parasite, the behavioral response to *M. ravouxi* should not be fully explained simply by overall cuticular profile dissimilarity, but also involve qualitative detection of some specific compounds. The agonistic response of *Temnothorax* host species, or populations, to the social parasite should therefore fulfill two criterions to be considered specific: a) it should be different from the response to other non-parasite species, and b) it should be at least partially independent of the global dissimilarity between chemical profiles.

## 1.3/ Results

### 1.3.1) Cuticular hydrocarbon profiles

The principal coordinate analysis (PCO, Figure 1) clearly sorts out our different populations (cf. Additional file 1). Cuticular hydrocarbon profiles of the colonies of the different populations were significantly different overall (PERMANOVA, pseudo-F = 42.931  $P < 0.001$ ), and in all pairwise comparisons (PERMANOVA, Pair-wise tests, all  $P < 0.006$ ). A canonical analysis (data not shown) shows that more than 99.2 % (117/118) of our samples were correctly assigned to their respective populations, the only exception being a *T. unifasciatus* colony from Fontainebleau assigned to the Anduze population of the same species. As expected, *M. ravouxi* profiles were close to those of *T. rabaudi* slaves (see mean chemical distances in Additional file 1), but still different, which is consistent with both theoretical and empirical data on mixed species colonies [32-34].

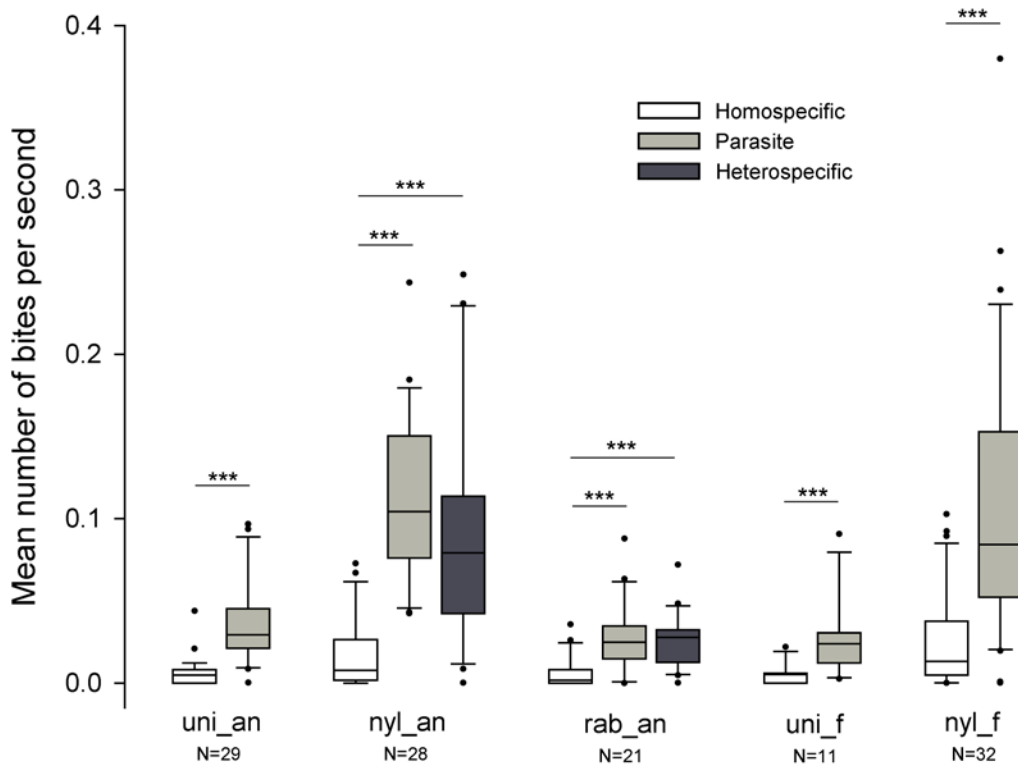


**Fig. III-1: Principal coordinate analysis.** Principal coordinate analysis (PCO) based on the resemblance matrix calculated from Euclidean distances between every pair of samples for the 41 peaks present in all

populations of *M. ravouxi*, *T. unifasciatus*, *T. nylanderi* and *T. rabaudi* from Anduze (myr an, uni an, nyl an and rab an respectively), and of *T. unifasciatus* and *T. nylanderi* from Fontainebleau (uni f and nyl f respectively).

### 1.3.2) Agonistic response of the recipient colonies

#### 1.3.2.1. Bites



**Fig. III-2: Box-and-whisker plots for bite rates inflicted in recipient colonies.** Introductions were carried out in colonies from populations of *M. ravouxi*, *T. unifasciatus*, *T. nylanderi* and *T. rabaudi* from Anduze (myr an, uni an, nyl an and rab an respectively), and of *T. unifasciatus* and *T. nylanderi* from Fontainebleau (uni f and nyl f respectively). Box plots show the median and 25-75 % percentiles. Whiskers



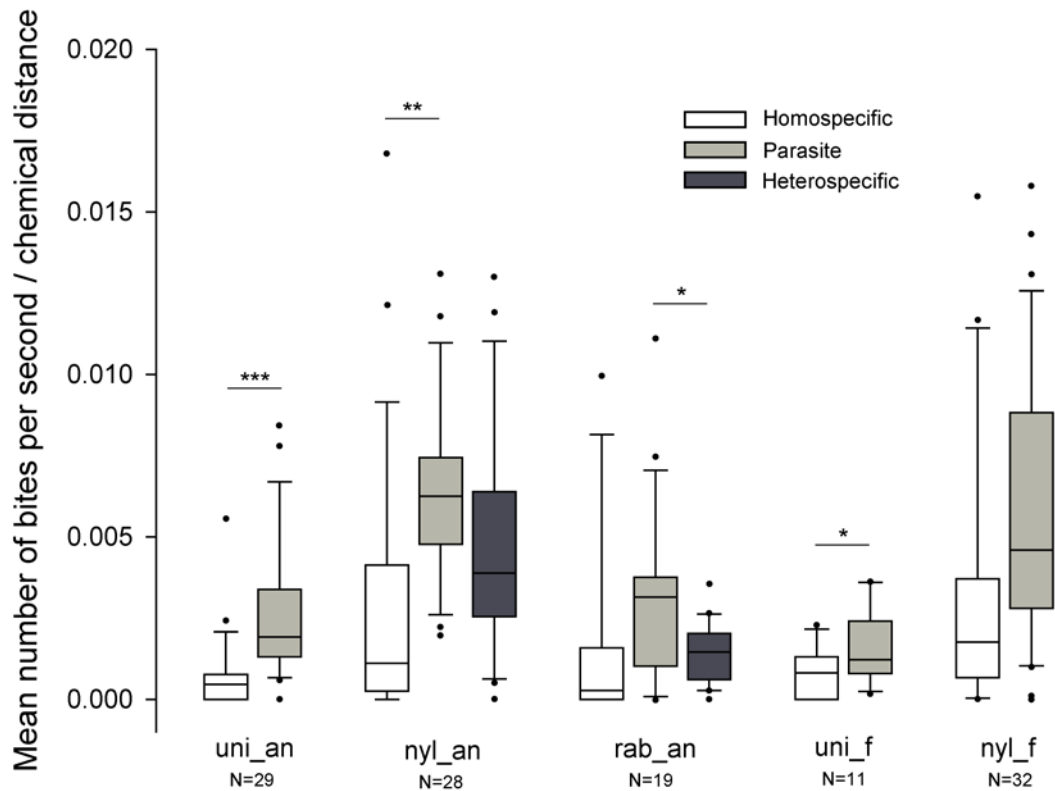
show all data excluding outliers outside the 10th and 90th percentiles (circles). Figures under bars indicate number of tests. \*\*\*  $P < 0.001$ .

The Kruskal-Wallis analysis showed a significant effect of the “population” factor on the response to introduced homospecific workers (Figure 2;  $H = 17.69$ ,  $P = 0.0014$ ). The non-host species (*T. nylanderi*) was more aggressive in Fontainebleau than in Anduze (permutation test,  $P' = 0.034$ ), while other pairwise comparisons were not significant (permutation tests, all  $P' > 0.089$ ).

The “population” factor proved also significant for the colony responses to introduced parasite workers (Figure 2; Kruskal-Wallis,  $H = 55.77$ ,  $P < 0.001$ ). The non-host species was significantly more aggressive than the other species at both sites (permutation tests, in Anduze, compared with *T. unifasciatus*:  $P' < 0.001$ ; *T. rabaudi*:  $P' < 0.001$ ; in Fontainebleau, *T. unifasciatus*:  $P' = 0.007$ ). *T. nylanderi* colonies from Anduze were more aggressive toward parasite workers than *T. nylanderi* colonies from Fontainebleau (permutation test,  $P' = 0.0056$ ).

Introduction of a non-parasite heterospecific worker was performed in colonies of *T. nylanderi* and *T. rabaudi* from the parasitized site (Anduze) in order to test whether ants were able to discriminate the parasite from another heterospecific worker. For both species, the responses toward parasites, homospecifics and heterospecifics were significantly different (Figure 3; Kruskal-Wallis, *T. nylanderi*:  $H = 44$ ,  $P < 0.001$ ; *T. rabaudi*:  $H = 19.02$ ,  $P < 0.001$ ). For both species the agonistic response was lowest toward homospecific intruders (Figure 3; permutation tests,  $P' < 0.001$ ) but was not significantly different toward parasites or heterospecific non-parasites (permutation tests,  $P' = 0.108$  and  $P' = 0.577$ , respectively).

1.3.2.2. Bites (normalized by chemical distance)



**Fig. III-3: Box-and-whisker plots for bite rates inflicted in recipient colonies scaled by chemical distance.** We scaled the mean bite rates by chemical distance between the intruders and the recipient colonies from populations of *M. ravouxi*, *T. unifasciatus*, *T. nylanderi* and *T. rabaudi* from Anduze (myr an, uni an, nyl an and rab an respectively), and of *T. unifasciatus* and *T. nylanderi* from Fontainebleau (uni f and nyl f respectively). Box plots show the median and 25-75 % percentiles. Whiskers show all data excluding outliers outside the 10th and 90th percentiles (circles). Figures under bars indicate number of tests. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

For each population except *T. rabaudi* from Anduze and *T. nylanderi* from Fontainebleau (Figure 3; paired permutation tests,  $P' = 0.342$  and  $P = 0.15$ ), colonies were significantly more aggressive toward parasites than toward homospecifics (Figure 3; paired permutation tests, all  $P < 0.011$ ).

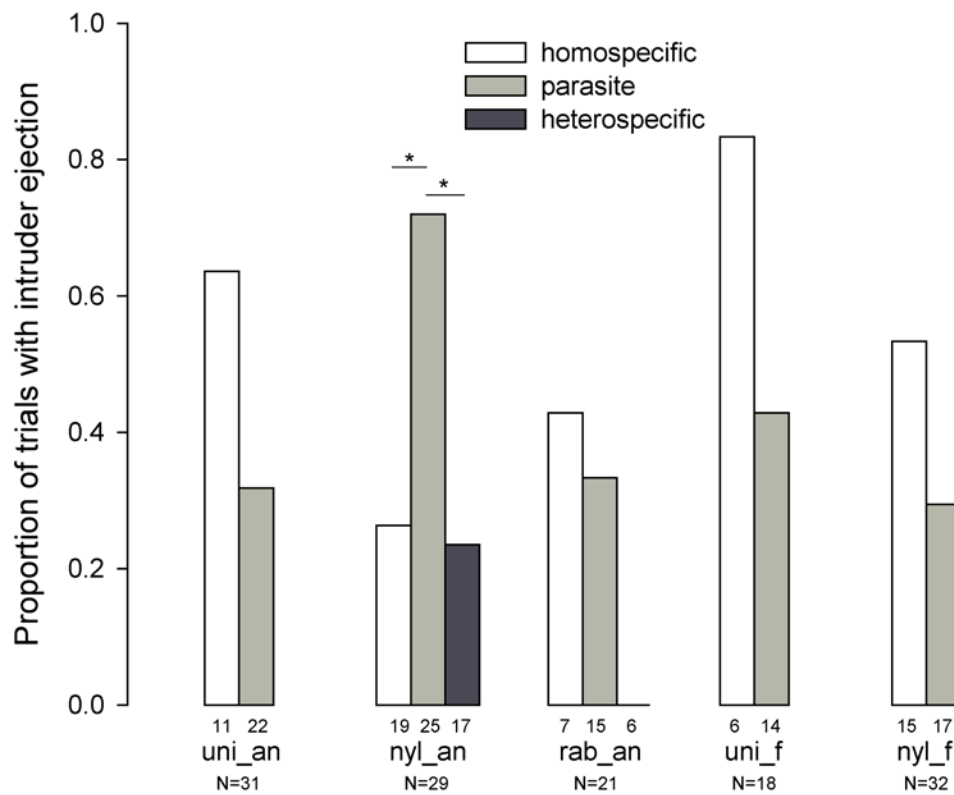
Colony responses to introduced homospecific workers significantly differed between populations (Figure 3; Kruskal-Wallis,  $H = 17.88$ ,  $P = 0.0013$ ). The non-host species (*T. nylanderi*) was more aggressive than *T. unifasciatus* in Anduze (Permutation test,  $P' = 0.028$ ) but not in Fontainebleau ( $P' = 0.317$ ). We found no differences between sites for either *T. unifasciatus* or *T. nylanderi* ( $P' = 1$  and  $P' = 1$ , respectively).

Colony responses to introduced parasite workers also differed significantly between populations (Figure 3; Kruskal-Wallis,  $H = 35.5$ ,  $P < 0.001$ ). The non-host species was significantly more aggressive than the other species in both sites (permutation tests, in Anduze, compared with *T. unifasciatus*:  $P' < 0.001$ ; *T. rabaudi*:  $P' = 0.0016$ ; in Fontainebleau, *T. unifasciatus*:  $P' = 0.022$ ). The response of non-host against parasites was not significantly different between sites (permutation test,  $P' = 1.1268$ ).

Introduction of a non-parasite heterospecific worker was performed in colonies of *T. nylanderi* and *T. rabaudi* from the parasitized site (Anduze). For both species, the responses toward parasites, homospecifics and heterospecifics were significantly different (Figure 3; Kruskal-Wallis, *T. nylanderi*:  $H = 18.71$ ,  $P < 0.001$ ; *T. rabaudi*:  $H = 9.082$ ,  $P = 0.011$ ). *T. nylanderi* colonies were marginally more aggressive toward parasites than toward heterospecific non-parasites (Figure 3; permutation test,  $P' = 0.086$ ). No statistical difference could be observed for the agonistic response of *T. rabaudi* between homospecific heterocolonial intruders and heterospecific ones, be they parasites or not (all  $P' > 0.342$ ). However, *T. rabaudi* were

significantly more aggressive toward parasites than toward heterospecific intruders (permutation test,  $P' = 0.018$ ).

### 1.3.3) Ejections



**Fig. III-4: Proportion of trials with intruder ejection.** Proportion of trials with intruder ejection when they did not escape the nest (figures under bars indicate number of tests without escape, N indicate total number of tests) for populations of *M. ravouxi*, *T. unifasciatus*, *T. nylanderi* and *T. rabaudi* from Anduze (*myr\_an*, *uni\_an*, *nyl\_an* and *rab\_an* respectively), and of *T. unifasciatus* and *T. nylanderi* from Fontainebleau (*uni\_f* and *nyl\_f* respectively). \*  $P' < 0.05$ .

Ejection rates of homospecific intruders were not significantly different between populations (Figure 4, Fisher-Freeman-Halton test,  $P' = 0.095$ ). On the contrary, ejection rates of parasites were significantly different between populations (Figure 4, Fisher-Freeman-Halton test,  $P' = 0.002$ ): the non-host species (*T. nylanderi*) from the parasitized site (Anduze) tended to display this behavior more often than other populations (Fisher tests, comparison with *T. unifasciatus* from Anduze:  $P' = 0.052$ ; *T. rabaudi* from Anduze:  $P' = 0.094$ ; *T. nylanderi* from Fontainebleau:  $P' = 0.057$ ) but it was not significant when compared to *T. unifasciatus* from Fontainebleau ( $P' = 0.381$ ). More importantly, *T. nylanderi* from Anduze was the only population in which parasites were ejected significantly more often than homospecific intruders (ejection rates respectively 0.72 and 0.26, Fisher test,  $P' = 0.011$ ); it also ejected parasite workers significantly more frequently than heterospecifics (ejection rates respectively 0.72 and 0.24, Fisher test,  $P' = 0.012$ ), whose ejection rate did not differ from homospecifics' (Fisher test,  $P' = 1$ ).

#### **1.4/ Discussion**

In Anduze, all four species could be discriminated using their cuticular hydrocarbon profiles. Profiles of *M. ravouxi* were very close to those of the main host, *T. rabaudi*, suggesting integration of host components into the chemical profile of the parasite. This mechanism has already been shown in dulotic ants [35-40]. However, in our study, the profiles of the parasite and its main host were distinct (cf. Additional file 1). GC-MS analyses also showed some qualitative differences between the parasite and its host (cf. Additional file 2). Chemical analyses thus prove the potentiality for hosts to recognize the parasite and therefore to display a specific

defense behavior, even if the chemical closeness of the social parasite might also make recognition more difficult.

With the raw data, all studied populations reacted more aggressively to allospecific intruders (be they parasites or not) than to homospecific heterocolonial ones. The non-host species *T. nylanderi*, both from the parasitized (Anduze) and non-parasitized site (Fontainebleau), was more aggressive toward parasite intruders than the other species.

Neither *T. rabaudi* nor *T. nylanderi* from Anduze reacted more aggressively to the parasite than to a non-parasite heterospecific intruder. Response of *T. unifasciatus* to the parasite was not significantly different between Anduze and Fontainebleau (the parasite-free site). Thus, we could not detect any clear-cut effect of the presence of the parasite in the ant community on the defense strategy of the two host species.

This pattern could be explained by the fact that, in this host-parasite local interaction, the parasite species is leading the arms race and offsets any specific defense through mimetic odor [35,41] or propaganda allomone [42]. Moreover, as opportunist *M.ravouxi* slave-making ants can use more than five host species [23,43], it may shift from one host species to another in the same site, for example as a consequence of any counter adaptations from its host species. An alternative hypothesis would be that the cost of being parasitized is lower than the cost of a specific defense which could increase nestmate recognition errors [44] and decrease colony fitness.

The raw results show that host and non-host species are not specifically more aggressive toward parasite than non parasite intruders, but the non-host species display more aggressiveness toward these intruders than the host species. *T. nylanderi* populations are sometimes very dense [45,46] and competition for nest sites may cause colony fusion. These conflicts and subsequent

intraspecific parasitism may select for a higher level of aggressiveness in dense populations of this species. In Fontainebleau, where we found 1–3 colonies per square meter, *T. nylanderi* display a higher degree of aggressiveness toward homospecific intruders. We thus may hypothesize that in this site, *T. nylanderi* colonies lowered their tolerance threshold in response to intraspecific competition.

Interestingly, *T. nylanderi* colonies from the parasitized site of Anduze bit more often parasite intruders than *T. nylanderi* colonies from the non-parasitized site of Fontainebleau. However, the difference between the medians is very small (0.104 vs. 0.0842), and thus we cannot conclusively interpret them as a product of local adaptation processes.

In order to investigate a potential specific response to the slave-making parasite *M.ravouxi* parasite, which could not be fully explained by the global chemical dissimilarity, we also compared agonistic responses when scaled according to the quantitative chemical distance between host and intruder colonies. A slightly different picture arises from this second analysis. Differences between homospecific and parasite introductions remain significant, with the exception of *T. rabaudi* colonies from Anduze and *T. nylanderi* from Fontainebleau, which are not significantly more aggressive toward parasite than toward homospecific intruders.

*T. rabaudi* host colonies from the parasitized population (Anduze) were more aggressive toward parasite than non-parasite heterospecific workers. *T. nylanderi* colonies displayed a stronger agonistic response while biting more often parasite than homospecific intruders and showing a tendency to be more aggressive toward parasite than non-parasite heterospecific intruders after standardization ( $P' = 0.086$ ). Host species colonies did not show more aggressiveness toward non-parasite heterospecifics than toward homospecific intruders in our second analysis. Parasite

intruders were extracted from *T. rabaudi* parasitized colonies and were thus more likely to bear some of the specific chemical cues this host species displays. It could explain why *T. rabaudi* colonies did not show a higher aggressiveness toward the parasite workers when we scaled down the importance of quantitative differences. Still, free-living host colonies did show a higher agonistic response to parasite than to non-parasite heterospecific intruders. We thus suggest that the more aggressive response to parasite than to heterocolonial homospecifics or non-parasite heterospecifics after standardization indicates that ant aggressiveness does not solely increase linearly with global chemical distance. Pamminer and collaborators [20] showed that aggressive reaction of *Temnothorax longispinosus* colonies against non-parasite congeneric workers transiently rose after the introduction of a dead slave-making *Protomognatus americanus* worker, when the introduction of a dead congeneric worker had no visible consequence. They concluded that *T. longispinosus* specifically reacted to the parasite presence in an adaptive way by lowering their general tolerance threshold, since *Temnothorax* enslaved workers join parasite workers during raids and fiercely attack host colonies. Parasite presence indeed reliably signals a forthcoming raid, which is not the case for congeneric workers that can belong to non-parasite colonies. We thus may hypothesize that *Temnothorax* ants rely on qualitative analysis of the cuticular profiles to discriminate parasite from non-parasite species in parasitized populations. This could result from ants weighting more some compounds (be they specific to the parasite or not), either because of the cognitive processes used to match the perceived cuticular profile and the internal template [14,44], or because sensory systems are more sensitive to qualitative differences than quantitative ones (some heterospecific compounds are absent of the internal template, while homospecific profiles simply differ in a quantitative way) [26], or both, since these mechanisms are not mutually exclusive.



In some behavioral tests, recipient workers also ejected the intruder. Such a behavior is probably not very efficient in preventing raids in host colonies, because parasite workers could easily return to the raided nest. However, it could have been selected as a ritualized fighting behavior [47-49] in non-host species since it allows conflict resolution without casualties (the intruder usually put up little resistance). The ejection strategy could thus have been selected to prevent fights in cases where a social parasite scout enters a colony from the non-host colony. *M.ravouxi* scouts also have no interest in engaging in fights in non-host species colonies. Slave-making ants may discriminate host from non-host species colonies, using for example a recognition template based on innate or experience-induced preferences [50,51]. They could then also actively avoid conflicts with non-host workers by inducing ejection behaviors. Nonetheless, in order to limit the interaction effect on ejections by recipient colonies, we use proportion of ejections only where the intruders did not escape. Moreover, *T. nylanderi* from the parasitized site of Anduze showed a higher rate of ejection of parasite intruders than of non-parasite heterospecifics or heterocolonial homospecifics, while ejection rates displayed by *T. nylanderi* in the parasite-free site (Fontainebleau) were not different between parasite and homospecific intruders. Besides, *T. nylanderi* ejected the parasite more often in Anduze than in Fontainebleau. Taken together, these results show that *T. nylanderi* from the parasitized site displayed a specific response to the social parasite, even though it is not used as a host. The specific response consisted in a higher rate of a ritualized behavior and marginally more agonistic interactions (respectively ejections and bites). *T. nylanderi* has never been observed as host, but our results suggest potential interactions between the two species. This is obviously difficult to verify because raids are rarely observed in the field. Thus, we cannot know if the specific behavior has been locally selected per se, or if it results from the learning of parasite odor through experience prior to colony collection. To tell

apart the respective roles of local selection and learning capacities, similar experiments should be conducted with *T. nylanderi* colonies reared in the lab from founding queens from Anduze.

## **1.5/ Conclusions**

Our results did not show unequivocal evidence of a host behavioral defense that would be specific to the social parasite *M.ravouxi*. Nonetheless, standardization of agonistic behaviors by chemical distance between intruder and receiver colonial signatures shows a higher aggressiveness toward the parasite than toward a non-parasite heterospecific intruder for the host species, which could result from a coevolutionary arms race [7,8,10,11,37]. We do not know how ants' decision rules are implemented, i.e. following qualitative or quantitative dissimilarity of chemical cues. Ants certainly may adjust their behavior according to the absence/presence of some particular chemical cues when facing conspecifics [51,52]. So, we think that standardization of behavioral results by chemical distance between colonies in social insects may bring new insights on the discrimination mechanisms towards sympatric species of social parasites. In this aspect, our methodology shows a pattern of host resistance. Moreover, we show for the first time that a species never recorded as host (*T. nylanderi*) can also display a specific behavioral defense to a slave-making ant. The specific defense included higher rates of bites and ritualized ejections of parasite workers. It remains to be tested whether *M.ravouxi* attempts raids on *T. nylanderi* in the field. Our results lead us to stress the importance of considering the whole set of potentially interacting species to fully understand the geographic mosaic of host-parasite interactions [53,54].

## **1.6/ Materials and methods**

### 1.6.1) Study species

The parasite species *M.ravouxi* was collected in Anduze (N44°3' E3°59'). *T. unifasciatus* and *T. rabaudi* are common hosts of *M.ravouxi*. *T. unifasciatus* colonies were collected both in the Anduze site and in Fontainebleau (N48°24' E2°42'), which is outside the distribution area of *M.ravouxi*. *T. rabaudi* could only be found in Anduze, where it is the most frequent host for *M.ravouxi* (some parasite colonies were found with *T. unifasciatus* slave workers). Last, we collected *T. nylanderi* colonies in both the Anduze and Fontainebleau sites. To the best of our knowledge, *T. nylanderi* has never been recorded as a host for any social parasite (the records of Bernard [55,56] could not be confirmed by Buschinger et al. [57]); however, it could be found in Anduze in sympatry with the slave-making *M.ravouxi*. In Fontainebleau, *T. nylanderi* was very frequent, with densities of almost 2 or 3 colonies per square meter. This could limit the number of available nest sites and cause intraspecific colony fusions and parasitism in this species [58].

Throughout the rest of this manuscript refer to "populations" for colonies of a given species originating from the same site: *T. unifasciatus* from Anduze (uni\_an, N = 29), *T. unifasciatus* from Fontainebleau (uni\_f, N = 11), *T. nylanderi* from Anduze (nyl\_an, N = 28), *T. nylanderi* from Fontainebleau (nyl\_f, N = 32), *T. rabaudi* from Anduze (rab\_an, N = 21), and *M.ravouxi* from Anduze (myr\_an, N = 13). The latter were only used as a source of parasite workers to introduce in the free-living tested colonies. These parasite workers were thus all extracted from *T. rabaudi* parasitized colonies. We also refer to *T. nylanderi* as "non-host species", *T. unifasciatus* and *T. rabaudi* as "host species", Fontainebleau as "non-parasitized site" and Anduze as "parasitized site".

Colonies were all queen-right and reared in the lab in artificial nests made of two microscope slides superimposed and kept 1 mm apart from each other using a thin piece of linoleum. They were fed with honey and fruit flies. The experiments took place in the spring, from April to May,

after a three-month wintering period at 8 °C. The colonies were collected at the end of the previous summer. The temperature during the experiments was around 24 °C.

#### 1.6.2) Characterizing dissimilarity between cuticular hydrocarbons profiles

The cuticular hydrocarbons profile was characterized for each colony by soaking 10 workers in 50 µl of pentane for ten minutes. An aliquot of 2 µl was analyzed using gas-chromatography with flame ionization detection (GC-FID) on a Varian 3900 instrument equipped with a split/splitless injector and a DB5 fused silica capillary column (30 m x 0.32 mm, 0.25 µm film thickness), with helium as carrier gas at a flow rate of 28.57 cc/sec. The temperature was maintained at 100 °C for 5 min, raised at 3 °C/min to 300 °C and held constant for 10 min. Peak areas were calculated using the Varian system control. Peaks were later identified using a GC-MS, allowing us to exclude contaminants from analyses. Analyses were carried out on a Agilent 5975 C inert XL with chromatograph GC system 7890A of Agilent with a split-splitless injector and a fused-silica capillary column (30 meters long with a diameter of 250 µm) with a 0.25 µm polydimethylsiloxane coating. The carrier gas was helium (99.99 %) and the column temperature program was 100 °C (5 min) and 3°/min to 300 °C (10 min). The injection port temperature was 280 °C. Total ion chromatograms and mass spectra were recorded in the electron impact ionization mode at 70 eV. The transfer line and the source temperature were maintained at 230 °C. Compound identifications were based on retention times and comparison with published data [61]. In a first step, peaks displaying an area above or equal to 1 % of the total area in at least 10 samples (66 peaks) were selected. In a second step, we discarded all peaks that were not present in all populations, to focus on quantitative rather than qualitative differences between chemical profiles; this led to a final selection of 41 peaks. Euclidean distances between every pair of samples were calculated to produce a resemblance matrix. A principal coordinate analysis (PCO)

using this matrix was then performed to sort out the cuticular hydrocarbon profiles of the colonies. We compared the colonial profiles of our populations with a single factor PERMANOVA [60,61] using 9999 permutations, first to detect overall differences and then in one-by-one tests between the populations. Statistical analyses on the chemical profiles were carried out with the PERMANOVA+ V1.0.2 add-on package [62] of PRIMER V6.1.12 [63]. The mean distance between populations' centroids was also calculated to illustrate the calculated quantitative similarity between them (Additional file 1).

### 1.6.3) Behavioral observations

The tests consisted in the introduction of an alien worker inside a colony, slightly removing the upper side of the nest to obtain a small opening on one side of the colony and to introduce the intruder directly inside it. All colonies were tested twice, using a parasite (*M.ravouxi*) and a conspecific heterocolonial intruder (from the same site). *M.ravouxi* alien workers came from parasitized colonies of *T. rabaudi* (N = 13). For *T. rabaudi* and *T. nylanderii* from Anduze, a third test was performed using a heterospecific, non-parasite intruder (*T. rabaudi* for *T. nylanderii* and vice versa, both from the same site and from free-living colonies). The sequence of introductions (parasite, heterocolonial and heterospecific non-parasite) was randomized between colonies to avoid any order effect. We used only local conspecifics or heterospecifics for introductions, except for *M.ravouxi* intruders, as this species could only be found in the south of France. We did so because coevolutionary processes, which could lead to pattern of specific resistance, are obviously likely to appear locally [2].

The agonistic response of the recipient colony was assessed by recording bites and ejection of the intruder by resident ants (see definitions below) until the alien worker left the nest, and in the few cases this did not happen within 30 minutes the test was terminated. Test duration was thus variable, but lower than 30 minutes.

### 1.6.3.1. Bites

We compared the agonistic response of colonies during the tests using the bite rates (number of bites divided by test duration).

We also performed a second analysis of our agonistic response by dividing these rates by the chemical distance between the intruder and the recipient colony, to test for a specific recognition on qualitative chemical cues. The rationale here is that a specific recognition mechanism would lead to higher levels of agonistic interactions towards the parasite than towards other intruders, even after getting rid of their global chemical distance with the recipient colony.

The chemical distance  $D$  was defined as the Euclidean distance between chemical profiles [30-32]:

$$D(x, y) = \sqrt{\sum_i (x_i - y_i)^2}$$

where  $x$  and  $y$  refer to the two colonies,  $x_i$  and  $y_i$  to the relative areas of peak  $i$  for colonies  $x$  and  $y$  respectively. When the chemical profile of a colony was not available (for technical reasons), we used the mean chemical profile of the corresponding population. This was the case for 5 homospecific tests with *T. nylanderii* from Fontainebleau, 11 homospecific tests with *T. unifasciatus* from Fontainebleau, 14 homospecific and 7 non-parasite heterospecific tests with *T. rabaudi* from Anduze. In our second analysis, we had to discard two *T. rabaudi* colonies confronted in a test (recipient/intruder) because we did not know their chemical profile.

Comparisons were performed using Kruskal-Wallis and permutation tests with general scores for paired samples [64]. We compared populations from different species within the same site and populations from the same species between sites. Other comparisons were considered irrelevant, i.e. different species from different sites. In order to use paired permutation tests between the two (or three) behavioral tests for each population (using the sequential Bonferroni-Holm correction

procedure when necessary [65]), the few recipient colonies that had performed only one type of test were discarded from the analysis (respectively 7 and 2 for *T. unifasciatus* from Fontainebleau and Anduze, and 1 for *T. nylanderii* from Anduze).

#### 1.6.3.2. Ejections

Apart from bites we also observed, in some trials, recipient ants grasping the intruder by an appendage and dragging it outside of the nest, a behavior we referred to as “ejection”. Test outcomes could thus be of three types: the intruder escaped, it was ejected by residents or it could stay in the nest for the whole observation period. To assess the resident propensity to eject intruders, we calculated the proportion of ejections over the tests where the intruder did not escape.

All comparisons were done using Fisher or Fisher-Freeman-Halton tests [66]. We used the sequential Bonferroni-Holm correction procedure [65] when necessary, and adjusted p-values are noted  $P'$  (they should be compared to the standard 0.05 significance threshold) [67].

All statistical tests were performed with StatXact (Cytel Studio, version 8.0.0, 2007).

### 1.7/ Acknowledgments

The authors wish to thank Patrizia d’Ettorre for helpful comments to improve this manuscript and Xavier Espadaler for identification of species. We thank Francesco Bonadonna and Ronara De Souza Ferreira for suggestions on the statistical analysis. Olivier Delattre was supported by the French Ministry of Research. Nicolas Châline and Stéphane Chaméron were supported by the ANR project SEUILS ANR-09-JCJC-0031.

## 1.8/ Additional Files

Distance between centroids	<i>M. ravouxi</i>	<i>T. nylanderi</i> Anduze	<i>T. nylanderi</i> Fontainebleau	<i>T. rabaudi</i> Anduze	<i>T.unifasciatus</i> Anduze
<i>M. ravouxi</i>					
<i>T. nylanderi</i> Anduze	16.25				
<i>T. nylanderi</i> Fontainebleau	19.145	12.528			
<i>T. rabaudi</i> Anduze	6.723	17.985	21.916		
<i>T. unifasciatus</i> Anduze	10.266	12.764	18.169	11.503	
<i>T. unifasciatus</i> Fontainebleau	12.161	11.712	13.452	15.236	10.096

**Additional file 1** Distances between centroids. Distance between centroids for the chemical profiles of populations of *M. ravouxi*, *T. nylanderi* from Anduze and Fontainebleau, *T. rabaudi* and *T. unifasciatus* from Anduze and Fontainebleau.



Population		<i>M. rav</i>	<i>T. uni_And</i>	<i>T. uni_Font</i>	<i>T. rab_And</i>	<i>T. nyl_And</i>	<i>T. nyl_Font</i>
A	C27	12,0±3,92	17,1±3,94	10,8±5,91	13,0±2,64	14,5±3,31	9,83±2,83
Peak 41.806	11+13meC27	0,94±0,55	2,45±1,02	0,86±0,26	1,20±0,41	3,74±0,77	2,11±0,59
Peak 41.981	7meC27	2,96±1,02	3,05±1,25	1,77±0,63	1,82±0,61	0,14±0,15	0,26±0,08
Peak 42.115	5meC27	0,87±0,42	0,62±0,21	0,55±0,15	0,36±0,23	0,77±0,21	1,04±0,27
Peak 42.321	2meC27	0,42±0,26	1,06±0,51	0,59±0,22	0,47±0,30	0,93±0,27	0,85±0,35
B	3meC27	9,05±1,79	5,91±1,63	4,58±2,04	11,5±1,21	8,51±1,11	7,54±1,54
Peak 42.979	C28	1,47±0,40	3,19±0,78	2,06±0,78	2,84±0,54	1,22±0,34	0,82±0,28
Peak 43.606	8meC28	0,50±0,37	0,89±0,32	0,58±0,16	0,27±0,26	Traces	Traces
Peak 43.718	6meC28	0,17±0,21	0,51±0,21	0,61±0,25	0,17±0,24	0,23±0,19	0,21±0,08
Peak 43.954	4meC28	0,80±0,43	1,97±0,88	1,92±1,02	0,86±0,23	1,06±0,33	1,11±0,31
Peak 44.029	2meC28	1,27±0,67	2,33±0,63	0,83±0,31	1,82±0,43	1,81±0,37	0,35±0,14
Peak 44.244	3meC28	0,44±0,23	1,06±0,43	0,62±0,41	0,30±0,27	0,28±0,17	0,20±0,09
C	C29	13,1±5,82	10,4±2,33	6,33±2,60	15,1±4,26	4,51±1,06	2,77±0,79
Peak 45.154	15+13 meC29	0,64±0,34	2,76±1,38	1,72±0,64	1,31±0,47	0	5,49±1,44
Peak 45.232	9meC29	0,57±0,61	1,47±1,30	1,23±0,48	0,18±0,14	6,91±1,30	0,93±0,26
Peak 45.315	7meC29	0,92±0,45	0,99±0,53	1,20±0,42	0,68±0,22	0,49±0,15	0,76±0,17
Peak 45.658	dimeC29?	0,49±0,46	1,89±1,46	0,65±0,25	0,47±0,36	0,81±0,44	1,29±0,55
Peak 45.859	3meC29	3,48±0,89	3,36±0,95	2,79±1,48	5,75±1,27	2,84±0,81	1,78±0,50
Peak 45.945	trimeC29?	0,38±0,21	0,81±0,77	0,30±0,11	0,24±0,19	0,39±0,16	0,83±0,21
Peak 46.359	C30	0,70±0,32	0,95±0,63	0,63±0,11	0,49±0,24	0,44±0,16	0,80±0,12
Peak 46.950	meC30	Traces	0,19±0,15	0,42±0,29	Traces	Traces	Traces
Peak 47.252	4+2meC30	1,55±0,74	3,66±1,19	1,93±0,32	3,42±0,81	2,69±0,55	1,18±0,20
Peak 47.414	meC30+dimeC30	0,16±0,10	0,13±0,16	0,17±0,11	Traces	Traces	0,31±0,14
Peak 47.609	trimeC30	0,48±0,19	1,15±0,38	0,81±0,17	0,40±0,25	0,37±0,11	0,37±0,11
Peak 47.804	C31	3,99±2,79	0,96±0,27	0,65±0,11	1,64±0,52	0,39±0,17	0,43±0,23
Peak 48.277	11+13+15meC31	1,91±0,55	1,94±0,93	2,08±0,63	2,29±0,58	4,32±0,74	1,86±0,61
Peak 48.353	9meC31	0,29±0,14	0,58±0,90	0,74±0,23	0	Traces	1,62±0,52
Peak 48.432	7meC31	0,33±0,26	0,24±0,16	0,99±0,81	0,29±0,37	Traces	0,29±0,57
Peak 48.693	11,15 dimeC31	2,76±1,28	2,69±1,71	3,21±1,04	3,35±0,71	3,83±1,07	4,44±1,33
Peak 48.811	9,12dimeC31	0,90±0,80	1,70±1,14	2,44±0,94	0,15±0,29	1,51±0,54	1,80±0,97
Peak 48.950	dimeC31	0,61±0,28	0,86±0,60	0,96±0,25	1,01±0,55	0,32±0,12	0,25±0,25
Peak 49.074	3meC31	1,10±0,48	1,60±1,14	2,23±0,62	1,11±0,34	0,89±0,39	1,09±0,37
Peak 49.215	5,22 dimeC31	0,39±0,19	0,29±0,28	0,57±0,22	0,99±0,27	0,05±0,16	0,35±0,33
Peak 49.400	meC31	1,44±0,64	1,14±0,53	1,30±0,58	1,18±0,26	1,09±0,39	1,73±0,40
Peak 49.574	*	Traces	Traces	0,48±0,34	0	Traces	0,12±0,28
Peak 49.773	*	1,42±0,88	1,09±0,34	1,60±0,47	1,02±0,41	0,92±0,31	5,05±1,25
Peak 50.003	8,16 dimeC32	0	Traces	0	0	1,50±0,69	Traces
Peak 50.018	*	0,46±0,59	0,27±0,29	1,33±1,23	0,45±0,61	0,30±0,20	Traces
Peak 50.160	12,16dimeC32	1,45±0,79	0,99±0,49	1,87±0,50	1,76±0,52	1,21±0,39	1,73±0,41
Peak 50.280	dimeC32	0,63±0,56	0,54±0,30	0,79±0,26	Traces	0,64±0,46	0,45±0,44
Peak 50.419	*	0,60±0,56	0,55±0,34	0,73±0,51	0,39±0,32	0,39±0,18	0,27±0,21
Peak 50.840	*	1,27±0,71	0,42±0,22	0,82±0,35	0,28±0,32	0,40±0,30	0,57±0,73
Peak 51.257	*	0,23±0,25	0,27±0,20	0,57±0,32	0,15±0,20	Traces	0,31±0,31
Peak 51.371	13meC33	4,18±1,53	2,01±0,84	2,79±0,60	3,28±1,04	3,01±1,01	1,27±0,50
Peak 51.799	13,17 dimeC33	2,79±1,31	3,56±2,46	5,29±1,32	2,34±0,61	5,63±1,98	5,66±1,81
Peak 51.938	dimeC33	1,14±1,12	1,20±1,01	2,49±0,75	0	2,12±1,14	2,66±1,49
Peak 52.317	dimeC34	2,32±1,00	1,64±1,02	4,40±1,20	1,87±0,56	2,89±1,00	3,90±1,42
Peak 52.685	meC34	1,01±0,53	0,75±0,46	1,36±0,73	0,85±0,26	0,73±0,31	1,09±0,57
Peak 52.876	*	0,10±0,20	0,30±0,40	0,60±0,42	Traces	0,14±0,14	0,32±0,56
Peak 53.329	dimeC34	0,96±0,54	0,46±0,24	0,54±0,21	0,14±0,12	1,21±0,37	2,70±0,75
Peak 53.497	*	Traces	0,16±0,29	0,71±0,86	Traces	0	1,42±0,51
Peak 53.788	*	1,30±0,72	0,56±0,36	1,28±0,64	0,31±0,25	0,44±0,20	Traces
Peak 53.938	*	0,13±0,19	0,28±0,16	0,48±0,41	Traces	0,20±0,15	Traces
Peak 55.064	*	0,78±0,70	0,37±0,56	1,31±1,11	0,25±0,37	0,17±0,21	0,30±0,28
Peak 55.314	*	2,68±1,54	0,59±0,42	1,80±1,02	1,99±0,70	0,88±0,42	0,56±0,35
Peak 55.569	*	0,26±0,42	Traces	Traces	0,33±0,59	0,15±0,24	0,17±0,72
Peak 56.066	11,23 dimeC35	1,18±0,54	1,02±0,55	1,67±0,71	0,76±0,19	3,29±0,74	6,24±1,19
Peak 56.294	*	0,24±0,19	0,11±0,31	0,63±0,75	Traces	0	0
Peak 56.604	*	2,07±1,33	0,74±0,44	2,31±0,69	2,45±0,76	2,31±0,92	Traces
Peak 56.895	*	0,17±0,27	0,16±0,22	0,54±0,50	0	Traces	Traces
Peak 57.178	*	0,98±0,56	0,29±0,19	0,79±0,53	1,91±0,68	0,14±0,12	0,37±0,21
Peak 57.819	*	0,50±0,26	0,24±0,15	0,85±0,53	0,14±0,14	Traces	0,84±0,47
Peak 58.644	*	1,14±0,64	0,21±0,17	0,91±0,49	0,21±0,20	0,75±0,26	1,35±0,45
Peak 62.226	11,23 dimeC37	0,58±0,44	0,38±0,28	0,48±0,22	0,19±0,16	4,33±1,34	7,04±2,59
Peak 62.622	*	1,32±1,22	0,21±0,16	0,84±0,51	2,89±0,71	0,47±0,57	0,25±0,39
Peak 62.963	*	0,49±0,47	0,17±0,15	0,25±0,31	0,68±0,26	Traces	Traces

**Additional file 2** Identified cuticular hydrocarbons of species' chemical profiles. Mean percentages ( $\pm$ S.D) of the different compounds in the chemical profiles of *M. ravouxi* (*M. rav*), *T. unifasciatus* from Anduze (*T. uni And*) and Fontainebleau (*T. uni Font*), *T. rabaudi* (*T. rab*) and *T. nylanderii* from Anduze (*T. nyl And*) and Fontainebleau (*T. nyl Font*). Compounds were identified using GC-MS. Unidentified hydrocarbons are marked with \*.

## 1.9/ References

1. Van Valen L: **A new evolutionary law.** *Evolutionary Theory* 1973, **10**:71-74
2. Thompson JN: *The coevolutionary process.* Chicago: The University of Chicago Press; 1994.
3. Thompson JN: *The geographic mosaic of coevolution.* Chicago: The University of Chicago Press; 2005.
4. Hölldobler B, Wilson EO: *The ants.* Cambridge, Mass.: Harvard University Press; 1990.
5. Buschinger A, Ehrhardt W, Winter U: **The organization of slave raids in dulotic ants - a comparative study (Hymenoptera; Formicidae).** *Zeitschrift für Tierpsychologie* 1980, **53**:245-264.
6. Foitzik S, Herbers JM: **Colony structure of a slavemaking ant. II. Frequency of slave raids and impact on the host population.** *Evolution* 2001, **55**:316-323.
7. Hare JF, Alloway TM: **Prudent *Protomognathus* and despotic *Leptothorax duloticus*: differential costs of ant slavery.** *Proc Nat Acad Sci USA* 2001, **98**:12093-12096.
8. Johnson CA, Herbers JM: **Impact of parasite sympatry on the geographic mosaic of coevolution.** *Ecology* 2006, **87**:382-394.
9. Achenbach A, Foitzik S: **First evidence for slave rebellion: enslaved ant workers systematically kill the brood of their social parasite *Protomognathus americanus*.** *Evolution* 2009, **63**:1068-1075.
10. Foitzik S, Deheer CJ, Hunjan DN, Herbers JM: **Coevolution in host-parasite systems: behavioural strategies of slave-making ants and their hosts.** *Proc Roy Soc B Biol Sci* 2001, **268**:1139-1146.
11. Foitzik S, Fischer B, Heinze J: **Arms-races between social parasites and their hosts: Geographic patterns of manipulation and resistance.** *Behav Ecol* 2003, **14**:80-88.

12. Brandt M, Foitzik S, Fischer-Blass B, Heinze J: **The coevolutionary dynamics of obligate ant social parasite systems--between prudence and antagonism.** *Biol Rev Camb Philos Soc* 2005, **80**:251-267.
13. Lahav S, Soroker V, Hefetz A, Vander Meer RK: **Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators.** *Naturwissenschaften* 1999, **86**:246-249.
14. Lenoir A, Fresneau D, Errard C, Hefetz A, In Information processing in social insects: *Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept.* Basel: Birkhauser Verlag: Edited by Detrain C, Deneubourg JL, Pasteels J; 1999:219–237.
15. d'Ettorre P, Lenoir A, In Ant Ecology: *Nestmate recognition.* Oxford, UK: Oxford University Press: Edited by Lach L, Parr C, Abbott K; 2009:194–209. references 319–383.
16. Martin SJ, Vitikainen E, Drijfhout FP, Jackson D: **Conspecific ant aggression is correlated with chemical distance, but not with genetic or spatial distance.** *Behav Genet* 2012, **42**:323–331.
17. Knaden M, Wehner R: **Nest defense and conspecific enemy recognition in the desert ant *Cataglyphis fortis*.** *J Insect Behav* 2003, **16**:717-730.
18. Sanada-Morimura S, Minai M, Yokoyama M, Hirota T, Satoh T, Obara Y: **Encounter-induced hostility to neighbors in the ant *Pristomyrmex pungens*.** *Behav Ecol* 2003, **14**:713-718
19. d'Ettorre P, Brunner E, Wenseleers T, Heinze J: **Knowing your enemies: seasonal dynamics of host-social parasite recognition.** *Naturwissenschaften* 2004, **91**:594-597.
20. Pamminger T, Scharf I, Pennings PS, Foitzik S: **Increased host aggression as an induced defense against slave-making ants.** *Behav Ecol* 2011, **22**:255-260.
21. Buschinger A, Winter U: **Population studies of the dulotic ant, *Epimyrma ravouxi*, and the degenerate slavemaker, *E. krausseii* (Hymenoptera: Formicidae).** *Entomol Gen* 1983, **8**:251-266.
22. Buschinger A: **Evolution, speciation, and inbreeding in the parasitic ant genus *Epimyrma* (Hymenoptera, Formicidae).** *J of Evol Biol* 1989, **2**:265-283.

23. Buschinger A, In Proceedings of the International Colloquia on Social Insects: *Socially parasitic formicoxenine ants from Western Europe a review (Hymenoptera, Formicidae)*. St. Petersburg: Russian Language Section of the IUSI, Socium: Volume 3–4. Edited by Kipyatkov VE; 1997:1–9.
24. Ichinose K, Cerda X, Jean-Philippe C, Lenoir A: **Detecting nestmate recognition patterns in the fission-performing ant *Aphaenogaster senilis*: A comparison of different indices.** *J Insect Behav* 2005, **18**:633-650.
25. Guerrieri FJ, Nehring V, Jorgensen CG, Nielsen J, Galizia CG, d'Ettorre P: **Ants recognize foes and not friends.** *Proc Roy Soc B Biol Sci* 2009, **276**:2461-2468.
26. Vander Meer RK, Morel L, In Pheromone communication in social insects: *Nestmate recognition in ants*. Boulder, CO. 368 p.: Westview Press: Edited by Vander Meer RK, Breed M, Winston M, Espelie KE; 1998:79–103.
27. Errard C, Hefetz A, Jaisson P: **Social discrimination tuning in ants: template formation and chemical similarity.** *Behav Ecol Sociobiol* 2006, **59**:353-363.
28. Van Zweden JS, D'Ettorre P, In Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology: *Nestmate recognition in social insects and the role of hydrocarbons*. Cambridge. Cambridge University Press: Edited by Blomquist GJ, Bagnères A; 2010:222–243.
29. Boulay R, Cerdá X, Simon T, Roldan M, Hefetz A: **Intraspecific competition in the ant *Camponotus cruentatus*: should we expect the 'dear enemy' effect?** *Anim Behav* 2007, **74**:985-993.
30. Martin SJ, Jenner EA, Drijfhout FP: **Chemical deterrent enables a socially parasitic ant to invade multiple hosts.** *Proc Roy Soc B Biol Sci* 2007, **274**:2717-2721.
31. Vogel V, Pedersen JS, d'Ettorre P, Lehmann L, Keller L: **Dynamics and genetic structure of Argentine ant supercolonies in their native range.** *Evolution* 2009, **63**:1627-1639.
32. Hefetz A, Errard C, Cojocararu M: **The occurrence of heterospecific substances in the postpharyngeal gland secretion of ants reared in mixed species colonies (Hymenoptera: Formicidae).** *Naturwissenschaften* 1992, **79**:417–420.

33. Errard C: **Development of interspecific recognition behavior in the ants *Manica rubida* and *Formica selysi* (Hymenoptera: Formicidae) reared in mixed-species groups.** *J. Insect Behav* 1994, **7**:83–99.
34. Errard C, Hefetz A: **Label familiarity and discriminatory ability of ants reared in mixed groups.** *Insect Soc* 1997, **44**:189–198.
35. Yamaoka R: **Chemical ecology of social insects.** [in Japanese]. *Nippon Nogeikagaku Kaishi = J Agr Chem Soc Jap* 1990, **64**:1749-1753 [Rev. Appl. Entomol. A 1779: 10390].
36. Bonavita-Cougourdan A, Rivière G, Provost E, Bagnères AG, Roux M, Dusticier G, Clément JL: **Selective adaptation of the cuticular hydrocarbon profiles of the slave-making ants *Polyergus rufescens* Latr. and their *Formica rufibarbis* Fab. and *F. Cunicularia* Latr. slaves.** *Comp Biochem Physiol B* 1996, **113**:313-329.
37. Bonavita-Cougourdan A, Bagnères AG, Provost E, Dusticier G, Clément JL: **Plasticity of the cuticular hydrocarbon profile of the slave-making ant *Polyergus rufescens* depending on the social environment.** *Comp Biochem Physiol B* 1997, **116**:287-302.
38. d'Ettorre P, Mondy N, Lenoir A, Errard C: **Blending in with the crowd: social parasites integrate into their host colonies using a flexible chemical signature.** *Proc Roy Soc B Biol Sci* 2002, **269**:1911-1918.
39. Bauer S, Böhm M, Witte V, Foitzik S: **An ant social parasite in-between two chemical disparate host species.** *Evol Ecol* 2010, **24**:317-332.
40. Ruano F, Devers S, Sanllorente O, Errard C, Tinaut A, Lenoir A: **A geographical mosaic of coevolution in a slave-making host-parasite system.** *J Evol Biol* 2011, **24**:1071-1079.
41. Franks N, Blum M, Smith RK, Allies AB: **Behavior and chemical disguise of cuckoo ant *Leptothorax kutteri* in relation to its host *Leptothorax acervorum*.** *J Chem Ecol* 1990, **16**:1431-1444.

42. Allies AB, Bourke AFG, Franks NR: **Propaganda substances in the cuckoo ant *Leptothorax kutteri* and the slave-maker *Harpagoxenus sublaevis***. *J Chem Ecol* 1986, **12**:1285-1293.
43. Seifert B: *Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas*. Tauer: Lutra Verlags- und Vertriebsgesellschaft; 2007.
44. Reeve HK: **The evolution of conspecific acceptance thresholds**. *Am Nat* 1989, **133**:407-435.
45. Heinze J, Foitzik S, Hippert A, Hölldobler B: **Apparent dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nylanderi***. *Ethology* 1996, **102**:510-522.
46. Foitzik S, Sturm H, Pusch K, D'Ettorre P, Heinze J: **Nestmate recognition and intraspecific chemical and genetic variation in *Temnothorax* ants**. *Anim Behav* 2007, **73**:999-1007.
47. Maynard-Smith J, Price GR: **The logic of animal conflict**. *Nature* 1973, 246:15-18
48. Maynard-Smith J: **Game theory and the evolution of behaviour**. *Proc Roy Soc B Biol Sci* 1979, 205:475-488
49. Breed MD, Moore J: **Animal Behavior**. *Academic Press* 2011
50. Schumann RD, Buschinger A: **Imprinting effects on host-selection behavior of slave-raiding *Chalepoxenus muellerianus* (Finzi) workers (Hymenoptera: Formicidae)**. *Ethology* 1995, **99**:243-251.
51. Delattre O, Châline N, Chameron S, Lecoutey E, Jaisson P: **Opportunist slave-making ants *Myrmoxenus ravouxi* discriminate different host species from a non-host species**. *Insect Soc* 2012, doi:DOI 10.1007/s00040-012-0257-3.
52. Ozaki M, Wada-Katsumata A, Fujikawa K, Iwasaki M, Yokohari F, Satoji Y, Nisimura T, Yamaoka R: **Ant nestmate and non-nestmate discrimination by a chemosensory sensillum**. *Science (Washington, DC)* 2005, **309**:311-314.
53. Thompson JN: **Coevolution: The geographic mosaic of coevolutionary arms races**. *Cur Biol* 2005, **15**:R992-994.

54. Nash DR, Als TD, Maile R, Jones GR, Boomsma JJ: **A mosaic of chemical coevolution in a large blue butterfly.** *Science (Washington, DC)* 2008, **319**:88-90.
55. Bernard F : **Note sur les fourmis de France. II Peuplement des montagnes méridionales.** *Ann. Soc. Ent. France* 1946, **115**:1-36.
56. Bernard F: *Faune de l'Europe et du Bassin Méditerranéen. 3. Les fourmis (Hymenoptera Formicidae) d'Europe occidentale et septentrionale.* Paris: Masson; 1967 (1968).
57. Buschinger A, Ehrhardt W, Fischer K, Ofer J: **The slave-making ant genus Chalepoxenus (Hymenoptera, Formicidae). I. Review of literature, range, slave species.** *Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere* 1988, **115**:383-401.
58. Foitzik S, Heinze J: **Nest site limitation and colony take over in the ant, Leptothorax nylanderi.** *Behav Ecol* 1998, **9**:367-375.
59. Provost E, Blight O, Tirard A., Renucci M: **Hydrocarbons and insects' social physiology.** In: *Insect Physiology: New Research.* Edited by Maes RP.: Nova Science Publishers Inc; 2008:19-72.
60. Anderson MJ: **A new method for non-parametric multivariate analysis of variance.** *Austral Ecol* 2001, **26**:32-46.
61. McArdle BH, Anderson MJ: **Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis.** *Ecology* 2001, **82**:290-297.
62. Anderson MJ, Gorley RN, Clarke KR: *PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods.* Plymouth, UK: PRIMER-E Ltd; 2008.
63. Clarke KR, Gorley RN: *PRIMER v6: user manual/tutorial.* Plymouth (UK): PRIMER-E Ltd; 2006.
64. Sprent P, Smeeton NC: *Applied Nonparametric Statistical Methods.* Chapman and Hall: 3d ed; 2001.
65. Holm S: **A simple sequentially rejective multiple test procedure.** *Scand J Statist* 1979, **6**:65-70.

66. Freeman GH, Halton JH: **Note on exact treatment of contingency, goodness of fit and other problems of significance.** *Biometrika* 1951, **38**:141–149.

67. Scherrer B: *Biostatistiques, Volume 1, 2e édition.* Montréal: Gaëtan Morin éditeur; 2007.



## **Chapitre IV:**

### **Effet du parasitisme social sur**

### **l'évolution de la tolérance au couvain:**

**Étude comparative de la tolérance au couvain hétérocolonial**

**chez des espèces hôtes, non-hôtes et parasites**

### ***Résumé de l'article 3***

Les espèces vivantes forment un réseau dense et complexe d'interactions dont l'enjeu est la survie des espèces (Darwin, 1859). Certaines sont si étroitement liées qu'elles sont considérées comme étant en coévolution (Thompson 1994); c'est-à-dire qu'elles influencent l'évolution de leur patrimoine génétique respectifs, dans une sorte de course à l'armement évolutif (Van Valen 1973). Le parasitisme social est l'un des exemples frappants de ce type d'interaction, que l'on retrouve notamment chez les fourmis (Hölldobler & Wilson, 1990). Les espèces parasites y exploitent des sociétés entières, en usurpant la place de la reine hôte et en détournant la force de travail qu'en constituent leurs membres. Certaines espèces, dites « esclavagistes », vont même jusqu'à entreprendre des raids sur les colonies voisines afin de renouveler périodiquement le nombre d'ouvrières esclaves (Buchinger *et al.* 1980, Buschinger 1986). Les espèces hôtes et esclavagistes sont donc largement engagées dans une lutte pour la survie, les unes étant dépendantes de la force de travail de leurs hôtes, les autres subissant les conséquences des raids qui peuvent sérieusement entamer la viabilité des colonies attaquées (Foitzik & Herbers 2001a ; Hare & Alloway 2001 ; Johnson & Herbers 2006).

Certaines études ont montré que la pression appliquée par les espèces parasites pouvait conduire en retour les espèces hôtes à démontrer une plus grande intolérance vis-à-vis de celles-ci (Foitzik *et al.* 2001 ; Brandt & Foitzik 2004 ; d'Ettorre *et al.* 2004 ; Fürst *et al.* 2011 ; Scharf *et al.* 2011). Ainsi, les travaux de Czechowski (1990, 1994) ont mis en évidence chez le parasite social temporaire *Formica sanguinea* une destruction du couvain et de la reine parasite par des ouvrières hôtes atypiques (*Formica polyctena*) lorsque leur nombre atteint une taille critique. Plus récemment, une étude a pu démontrer que les ouvrières esclaves de colonies parasitées pouvaient détruire spécifiquement le couvain d'une espèce esclavagiste (Achenbach & Foitzik 2009). Or, nous savons que le profil

chimique moins riche quantitativement des ouvrières émergentes et à fortiori des pupes (Lenoir *et al.* 1999, voir aussi Dahbi *et al.* 1998), facilite en général leur intégration au sein de colonies dont elles ne sont pas originaires (Errard 1994). En l'occurrence, chez les espèces esclavagistes, les ouvrières esclaves élèvent et nourrissent le couvain parasite (Buschinger 1986), mais acceptent également le couvain issu du pillage des colonies voisines lors des raids.

Nous avons cherché à tester l'hypothèse que la pression de sélection appliquée par un parasite esclavagiste affectait également la tolérance au couvain hétérocolonial des espèces hôtes. Pour ce faire, nous avons comparé la réponse agonistique (morsures) et les allo-toilettages (susceptibles de favoriser l'intégration coloniale) d'ouvrières hôtes et non-hôtes vis-à-vis du couvain homospécifique hétérocolonial. Nous avons également utilisé une espèce que nous savions être affectée par le parasitisme intraspécifique, du fait d'une forte compétition pour les sites de nidification et d'une faible variabilité génétique entre colonies (Heinze *et al.* 1996 ; Foitzik & Heinze 1998, 2000 ; Foitzik *et al.* 2007).

Les colonies des espèces souffrant de parasitisme intra et interspécifique se sont montrées plus agressives et ont affichées moins de comportements affiliatifs envers les pupes hétérocoloniales que celles des espèces non-hôtes.

Les ouvrières hôtes issues des colonies parasitées se sont quant à elles montrées aussi tolérantes vis-à-vis des pupes hétérocoloniales homospécifiques que vis-à-vis des pupes de l'espèce parasite. Elles ont également plus léché ces dernières comparativement aux pupes homospécifiques.

Nous discutons dans l'article qui suit la façon dont la coévolution hôte-parasite peut influencer l'évolution des mécanismes de reconnaissance sociale chez les espèces hôtes,

apportant un éclairage tout particulier sur le développement en général des capacités de discrimination des espèces dans le contexte de communauté des espèces.

**1- Article 3:**

**Social parasite pressure affects brood discrimination  
of host species in *Temnothorax* ants**

Soumis à la revue *Animal Behaviour* (12/2011)

Accepté le 3 mai 2012 (sous presse)

Olivier Delattre, Nicolas Châline, Stéphane Chameron, Emmanuel Lecoutey

and Pierre Jaisson

*Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée, Université Paris 13, 99 avenue*

*Jean-Baptiste Clément, 93430 Villetaneuse, France. +33-(0)1.49.40.32.59*

## 1.1/ Abstract

Social parasites exploit complete societies, on which they are dependent. In ants, slave-making species invade, exploit and raid host colonies, impacting their survival and exerting powerful selection pressure on their host species. Recent studies suggest that host ant species may develop a parasite brood intolerance, which could be the first step of a slave rebellion in parasitized colonies. However, enslaved workers of slave-making ants not only raise and feed their parasites, but also accept alien conspecific brood brought during seasonal raids. We compared the agonistic and grooming behaviour (a sign of brood integration) of two sympatric nonhost species (one showing intraspecific parasitism) and of enslaved and free-living host species confronted with alien conspecific worker pupae to assess whether parasite pressure could have decreased brood tolerance in host species. Free-living colonies of species suffering from interspecific or intraspecific parasitism were more aggressive and performed less grooming towards alien conspecific brood than colonies of nonhost species. Moreover, slave workers were not more aggressive towards alien parasites than towards alien conspecific brood but groomed alien parasites more than alien conspecific brood. We discuss how host–parasite coevolution could impact the social recognition mechanisms in host species.

Key words: brood discrimination, coevolution, Formicidae, social parasitism, social recognition, *Temnothorax*

## **2/ Introduction**

Interspecific interactions can often lead to coevolutionary ‘arms races’ (Van Valen 1973; Thompson 1999) in which two or more species directly influence the evolution of each other’s life history traits. Adaptations and counteradaptations in response to the reciprocal selection pressures then allow each interacting species to keep up with its opponent (Thompson 1994). Host–parasite interactions are a prime example of how this coevolutionary process may affect the evolution of species, as they result in a mosaic of local adaptations (Thompson 1994). Numerous studies on avian brood parasites, such as cuckoos and cowbirds, which replace their host brood by their own, have shown that host species’ counteradaptations are often selected in order to avoid nest parasitism (Rothstein & Robinson 1998; Kruger 2007). Some cuckoo’s host species, for example, display more aggressiveness towards parasite than towards nonparasite dummies (Moksnes et al. 1991), or are more aggressive if the parasitism rate is high (Robertson & Norman 1976; Davies et al. 2003). Interspecific social parasitism is another form of parasitism in which two species of social insects coexist in the same nest, one of which is dependent on the other (Hölldobler & Wilson 1990). In these social parasite species, parasite queens enter the hosts’ nests to usurp the host queen, using behavioural and chemical strategies such as appeasement allomones, which reduce aggressiveness from host workers (Lenoir et al. 2001). Afterwards, parasite queens lay eggs that are reared by host workers as if they were related nestmates. Some parasite species, known as dulotic or slave-making ants (Wilson 1975), also conduct periodic raids to steal brood from neighbouring colonies to replenish the enslaved colony labour force (d’Ettorre & Heinze 2001; Mori et al. 2001; Brandt et al. 2005). These ants are obligatory social parasites in which the survival of colonies is dependent on the presence of slave workers (Buschinger 1986; Savolainen & Deslippe 1996). Because invasions and raids impact the targeted colonies’ survival (Foitzik &

Herbers 2001; Hare & Alloway 2001; Bono et al. 2006a, b; Johnson & Herbers 2006), slave-making ants exert selection pressure on host species that is likely to select for the evolution of defensive traits (Alloway 1990; Foitzik et al. 2001; Blatrix & Herbers 2003; Brandt & Foitzik 2004; d'Ettorre et al. 2004; Achenbach & Foitzik 2009; Tamarri et al. 2009; Scharf et al. 2011).

In ant societies, the first step in withstanding the parasite pressure of dulotic ants could be the closure of potential host colonies. Ants rely on chemical cues, especially cuticular hydrocarbons, to discriminate nestmates from non-nestmates (d'Ettorre & Lenoir 2009). Nestmates share a colonial 'label' that results from the homogenization of individual odorant chemicals (mainly influenced by each ant's genome, environment and metabolic activity) by constant interindividual exchanges through grooming and trophallaxis (Stuart 1988; Vienne et al. 1995; Boulay et al. 2000). The colonial label is thought to act as a template, ants being considered as nestmates or aliens depending on their odour being, respectively, similar to or different from it (Reeve 1989; d'Ettorre & Lenoir 2009). Nestmate recognition allows ants to restrict affiliative behaviours to nestmates and to reject aliens. However, social parasites have developed physiological and behavioural adaptations to fool the discrimination abilities of host species (Lenoir et al. 2001). For example, parasites can display chemical profiles similar to those of their hosts (Franks et al. 1990; Kaib et al. 1993), with quantitative adjustments depending on the host species (Bonavita-Cougourdan et al. 1997). In that case, host species cannot discriminate parasites from nestmates except by developing a more restrictive tolerance threshold through local adaptation (Reeve 1989). However, such a shift in the threshold could lead to rejection errors, where ants reject nestmates whose cuticular profiles diverge slightly from the colonial label. Host species thus face a trade-off between the costs and benefits of



various recognition errors, which will tip the balance between tolerance threshold adjustments according to the level of evolutionary pressure at stake (Reeve 1989).

A second line of defence could also theoretically stem from the enslaved workers' behaviour. Enslaved ants could indeed 'rebel', with at least three available options (Gladstone 1981). First, they could leave the parasite colony and go back to their nest. Second, they could refuse to work in the parasitized society, or just leave it. Last, they could engage in male production within the parasite nest. All three options have been considered before, and researchers have concluded on both theoretical and empirical grounds that no selection pressure could easily lead to the propagation of such 'rebel behaviour' in a host population (Gladstone 1981). Another neglected possibility has recently been proposed, which consists in enslaved workers destroying parasite brood, or indirectly affecting its probability of survival because of poor care (Achenbach & Foitzik 2009). Achenbach & Foitzik (2009) experimentally demonstrated that some host species of *Temnothorax* ants indeed selectively destroyed parasite brood in parasitized colonies of *Protomognathus americanus*. They proposed that such behaviour could directly impact the growth and survival of the parasite society, therefore decreasing the parasite pressure on the neighbouring host colonies. This could indirectly increase the inclusive fitness of slaves if their relatedness with free-living hosts from the surrounding nests is high (Achenbach & Foitzik 2009).

Selective destruction of parasite brood means that host species' workers can discriminate parasite offspring inside a parasitized colony (Johnson et al. 2005; Achenbach et al. 2010). Such discrimination of parasite brood by enslaved workers is highly unlikely, as ants learn their colonial template during the days following emergence (Jaisson 1975; Jaisson & Fresneau 1978). Therefore pillaged brood emerging inside the parasitized colony should develop a recognition template that includes parasite species-specific cues, which

could explain why slave workers care for parasite brood (Le Moli & Mori 1987). Moreover, parasite brood may be attractive for their host species because of close phylogenetic relationship, brood mimicry and the possible existence of an attractiveness pheromone (Mori et al. 1996; Johnson 2000). Consequently, it may be difficult for slave workers to discriminate and destroy parasite brood, unless host species develop original recognition mechanisms. For example, discrimination could rely on specialized sensory sensillae on the antennae that respond only to species-specific parasite cuticular hydrocarbons (Hansson 1999). Another hypothesis would imply a prominent influence of preimaginal learning (Isingrini et al. 1985) or genetic factors (Grafen 1990; El-Showk et al. 2010) during the template formation process in host species. Since slavemaker ants focus on pupae during raids (Buschinger et al. 1980), both mechanisms would minimize the impact of postemergence experience on template formation, in the parasitized nest, therefore enhancing discrimination of heterospecific (and maybe conspecific) non-nestmates.. Rejections may also be the result of a lower colonial tolerance threshold, either as a consequence of previous encounters with parasite workers (Pamminger et al. 2011) or as a product of the selection of a more restrictive threshold in parasitized populations of host species (Fürst et al. 2012). With a more restrictive tolerance threshold (Reeve 1989), host workers would be aggressive even towards conspecific raided brood. In that case, raided brood from neighbouring host colonies may not reach emergence if rejected by slave workers, thereby reducing parasitized colonies' fitness as well.

We investigated how parasite pressure could affect conspecific brood discrimination in a *Temnothorax* host species of the European slave-making ant *Myrmoxenus ravouxi*. We expected the tuning of recognition systems to have evolved differently in sympatric species of a slave-making ant, that is, host species workers should be less tolerant to non-nestmate brood than those of the nonhost species. Therefore we

compared brood discrimination of one sympatric *Temnothorax* host and two sympatric nonhost species of the dulotic social parasite *M. ravouxi*.

### **1.3/ Materials and Methods**

#### 1.3.1) Ethics Statement

No specific permits were required for the study. *Myrmoxenus ravouxi* is listed as a vulnerable species by the IUCN, but is not a protected species in France, except in protected areas where no ants can be collected. The sites where we collected our species were not privately owned or protected in any way.

#### 1.3.2) Species

*Myrmoxenus ravouxi* is found widely in Europe (Buschinger 1997), where parasite workers conduct raids periodically at the beginning of the summer. It is a very opportunistic parasite (Buschinger 1989; Seifert 2007), using different species as hosts (*Temnothorax unifasciatus*, *Temnothorax nigriceps*, *Temnothorax affinis*, *Temnothorax rabaudi* and some others). All *M. ravouxi* parasite colonies collected in our study had *T. unifasciatus* as hosts, even if free-living (i.e. unparasitized) colonies of *T. rabaudi* were also found in the study collection site. We also collected two other species that often live in sympatry but are never used as hosts: *Temnothorax parvulus* and *Temnothorax nylanderi* (Buschinger 1989). The latter suffers from chronic intraspecific parasitism, maybe because of competition for nest sites (Foitzik & Heinze 1998, 2000). We did not perform genetic analyses on our colonies of *T. nylanderi* from the Fontainebleau site to test for effective intraspecific parasitism. None the less, the colony density was high with approximately two colonies per m<sup>2</sup>. Moreover, *T. nylanderi* was the only *Temnothorax*

species found in the collection site in dead tree branches. In such a population, colony invasions and fusions are likely to occur as the result of competition for nest sites. Intraspecific or interspecific parasitism has not yet been reported in *T. parvulus* (Buschinger 1997); therefore, we assumed that this species does not experience social parasitism. *Temnothorax parvulus* was particularly interesting to consider in our study since it is one of the more common sympatric nonhost species of *M. ravouxi*.

All these Myrmicinae ant species are monogynous and common, with colonies consisting of a few dozen to a few hundred workers. The number of parasites in parasitized colonies never exceeds a few dozen (Buschinger et al. 1980; Buschinger 1989).

The experiments were carried during summer 2009 and 2010 on nonhost colonies of *T. nylanderi* ( $N=13$ ) and *T. parvulus* ( $N=12$ ), nonparasitized *T. unifasciatus* colonies ( $N=17$ ) and *T. unifasciatus* colonies parasitized by *M. ravouxi* ( $N=12$ ). All colonies were collected in France: *T. nylanderi* colonies were collected near Fontainebleau ( $48^{\circ}40'N$ ,  $2^{\circ}70'E$ ) and *T. parvulus* colonies were found near Montpellier ( $43^{\circ}60'N$ ,  $3^{\circ}87'E$ ) in spring 2009. *Temnothorax unifasciatus* parasitized and free-living colonies were collected near Vaison-la-Romaine ( $44^{\circ}14'N$ ,  $5^{\circ}04'E$ ) in spring 2008. We found *M. ravouxi* only in the collection sites of Montpellier and Vaison-la-Romaine. All the colonies were queenright and comprised between 50 and 150 workers. The parasitized colonies were queenright and comprised from 12 to 40 parasite workers, along with 50–120 slave workers.

All the colonies were reared in small plastic boxes (15x10 cm and 5 cm high) with plaster soil as a foraging area, in a nest made from two microscope slides kept 1 mm apart from each other with a piece of linoleum. Colonies were fed once or twice a week with honey and fruit flies. The photoperiod was 12:12 h, with a night temperature of 15 °C and a day temperature of 22 °C at the time of the experiment. The humidity was kept around 60%.

### 1.3.3) Behavioural assays

As Myrmicinae pupae develop without cocoons their nymphal stage can easily be assessed. We used only young worker pupae without any cuticular pigmentation for experiments. Using pupae is ecologically relevant since slave-making workers preferentially bring back pupae during raids (Buschinger et al. 1980), both because pupae will emerge sooner than larvae and because they need no further energy investment from the parasite colony to develop. For the assay, a single conspecific pupa from an alien colony was removed from its nest and then introduced into the test colony with cleaned soft pliers. We waited 3 min before introducing it by sliding the upper face of the nest away and then carefully replacing it. In the meantime, removed pupae were placed in a small neutral petri dish, cleaned between tests. For our control tests, pupae from the test colony were removed from their nest for the same duration before reintroduction. Introductions from alien and test colonies were carried out in random order.

We monitored the behaviour of workers confronted with the introduced pupa. Table IV-1 shows the experimental situations.

Colony Pupae	Nonhost <i>T. nylander</i>	Nonhost <i>T. parvulus</i>	Free-living host <i>T. unifasciatus</i>	Slave <i>T. unifasciatus</i>
Conspecific nestmate	13	12	17	-
Conspecific alien	13	12	17	12
Alien parasite	-	-	-	12

**Table IV-1. Nature and number of introductions of the different kinds of pupae in the different colonies**

For the enslaved colonies of *T. unifasciatus* ants, we introduced alien pupae from both host and parasite species. *Myrmoxenus ravouxi* pupae were taken from parasitized colonies, while *T. unifasciatus* pupae were extracted from free-living colonies (since they never reproduce in the mixed colonies). We thus tested the behavioural response of these colonies when confronted with alien conspecific and alien parasite pupae.

Since we did not observe stinging behaviour, the aggressive response of the colony was assessed by monitoring the number of bites received by the pupa. Dragging behaviour was present in some behavioural tests but was anecdotal (representing less than 1.5% of the duration of the tests). We also recorded the total duration of antennation and grooming the pupae received. The total duration of each test was 20 min.

Experimental colonies did not experience encounters with non-nestmate individuals for 1 year prior to this study.

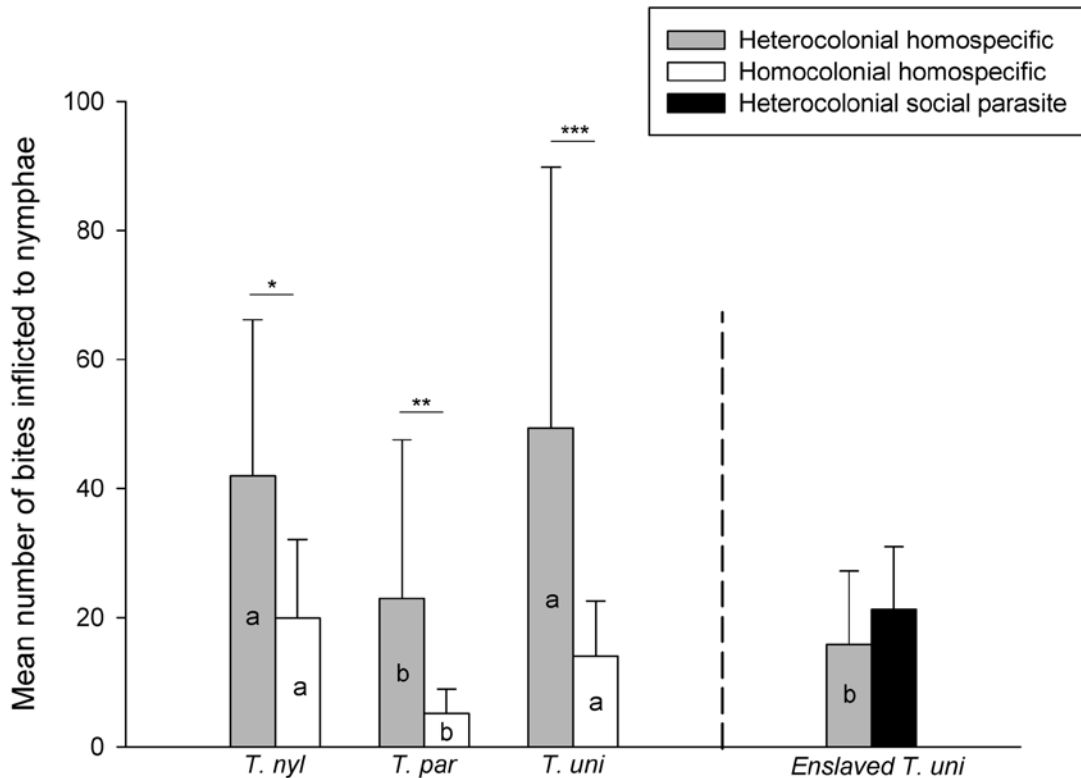
**1.3.4) Statistical Methods**

We performed permutation tests for paired comparisons and Mann–Whitney tests for nonrelated samples, using StatXact version 8.0.0 (Cytel Software, Cambridge, MA, U.S.A.).

## 1.4/ Results

### 1.4.1) Agonistic behaviours

Agonistic behaviours of the test species (Fig. IV-1) were statistically different towards alien and nestmate brood (Kruskal–Wallis test: alien:  $H = 18.41$ ,  $P < 0.0001$ ; nestmate:  $H = 14.26$ ,  $P < 0.0001$ ).



**Fig. IV-1. Mean number + SE of bites received by introduced pupae.**

Mean number + SE of bites received by introduced pupae in colonies of *T. nylanderi* ( $N = 13$ ), *T. parvulus* ( $N = 12$ ), free-living *T. unifasciatus* ( $N = 17$ ) and *M. ravouxi*-parasitized colonies of *T. unifasciatus* ( $N = 12$ ). Grey bars: conspecific alien pupae; white bars: conspecific nestmate pupae; black bar: alien parasite pupae. Different letters indicate significant differences within grey and open bars. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ .

Workers from nonparasitized colonies, from both host and nonhost species, were more aggressive towards alien conspecific pupae than towards nestmate pupae (permutation tests: *T. nylanderi*:  $t = 2.052$ ,  $N = 13$ ,  $P = 0.036$ ; *T. parvulus*:  $t = 2.025$ ,  $N = 12$ ,  $P = 0.003$ ; free-living *T. unifasciatus*:  $t = 2.829$ ,  $N = 12$ ,  $P < 0.0001$ ).

Workers from nonparasitized colonies of *T. nylanderi* and *T. unifasciatus* bit nestmate pupae a similar number of times (Mann–Whitney test:  $U = 231.5$ ,  $N_1 = 13$ ,  $N_2 = 17$ ,  $P = 0.216$ ), while *T. parvulus* workers were less aggressive during the control tests (versus *T. nylanderi*:  $U = 228.5$ ,  $N_1 = 12$ ,  $N_2 = 13$ ,  $P < 0.0001$ ; versus *T. unifasciatus*:  $U = 111.5$ ,  $N_1 = 12$ ,  $N_2 = 17$ ,  $P = 0.002$ ).

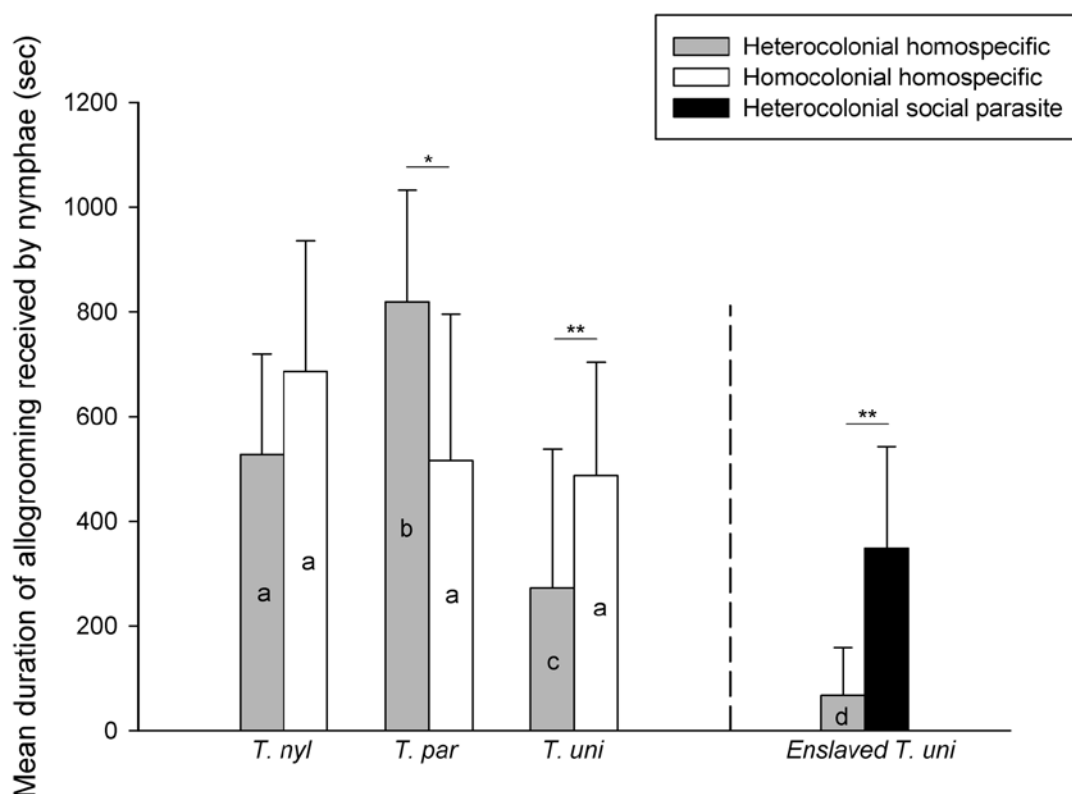
Workers from nonparasitized colonies of *T. nylanderi* and *T. unifasciatus* did not differ in their aggressiveness towards alien conspecific pupae (Mann–Whitney test:  $U = 188$ ,  $N_1 = 13$ ,  $N_2 = 17$ ,  $P = 0.584$ ). However, workers of these colonies were more aggressive towards alien conspecific brood than workers of nonhost *T. parvulus* colonies (*T. nylanderi*:  $U = 215$ ,  $N_1 = 13$ ,  $N_2 = 12$ ,  $P = 0.011$ ; *T. unifasciatus*:  $U = 117$ ,  $N_1 = 17$ ,  $N_2 = 12$ ,  $P = 0.004$ ) and slave workers of parasitized *T. unifasciatus* colonies (*T. nylanderi*:  $U = 223.5$ ,  $N_1 = 13$ ,  $N_2 = 12$ ,  $P = 0.002$ ; *T. unifasciatus*:  $U = 331$ ,  $N_1 = 17$ ,  $N_2 = 12$ ,  $P < 0.0001$ ). Aggression towards alien pupae by nonhost workers of *T. parvulus* colonies and slave workers of *T. unifasciatus* parasitized colonies did not differ significantly ( $U = 147.5$ ,  $N_1 = N_2 = 12$ ,  $P = 0.899$ ).

Enslaved *T. unifasciatus* workers did not bite more *T. unifasciatus* pupae from alien free-living colonies than *M. ravouxi* pupae (permutation test:  $t = 1.079$ ,  $N = 12$ ,  $P = 0.301$ ).



### 1.4.2) Brood grooming

Grooming behaviours (Fig. IV-2) towards alien brood differed significantly between species (Kruskal–Wallis test:  $H = 33.35$ ,  $P < 0.0001$ ), but not those towards nestmate brood ( $H = 3.706$ ,  $P = 0.158$ ).



**Figure IV-2. Mean duration + SE of allogrooming received by introduced nymphae.**

Mean duration + SE of allogrooming received by introduced pupae for colonies of *T. nylanderi* ( $N=13$ ), *T. parvulus* ( $N=12$ ), free-living *T. unifasciatus* ( $N=17$ ) and *M. ravouxi*-parasitized colonies of *T. unifasciatus* ( $N = 12$ ). Grey bars: conspecific alien pupae; white bars: conspecific nestmate pupae; black bar: alien parasite pupae. Different letters indicate significant differences within grey and open bars. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

*Temnothorax unifasciatus* workers from free-living colonies groomed alien conspecific brood less than their own nestmate brood (permutation test:  $t = -2.491$ ,  $N = 17$ ,  $P < 0.001$ ). The same tendency was found for *T. nylanderi* colonies ( $t = -1.864$ ,  $N = 12$ ,

$P = 0.054$ ). In contrast, *T. parvulus* spent less time grooming nestmate than alien conspecific brood ( $t = 2.209$ ,  $N = 12$ ,  $P = 0.014$ ).

*Temnothorax unifasciatus* from parasitized colonies groomed their alien familiar heterospecific pupae (i.e. *M. ravouxi* pupae) more than alien conspecific brood (permutation test:  $t = 2.72$ ,  $N = 12$ ,  $P = 0.004$ ).

Workers of *T. parvulus* displayed more grooming behaviours towards alien conspecific pupae than workers of *T. nylanderi* (Mann–Whitney test:  $U = 115$ ,  $N_1 = 12$ ,  $N_2 = 13$ ,  $P = 0.002$ ), free-living *T. unifasciatus* ( $U = 271$ ,  $N_1 = 12$ ,  $N_2 = 17$ ,  $P < 0.0001$ ) and slave *T. unifasciatus* ( $U = 222$ ,  $N_1 = N_2 = 12$ ,  $P < 0.0001$ ).

Workers of *T. nylanderi* also displayed more grooming to conspecific alien pupae than *T. unifasciatus* workers, either free-living (Mann–Whitney test:  $U = 260$ ,  $N_1 = 13$ ,  $N_2 = 17$ ,  $P = 0.014$ ) or parasitized ( $U = 244$ ,  $N_1 = 13$ ,  $N_2 = 12$ ,  $P < 0.0001$ ).

Workers of free-living *T. unifasciatus* colonies groomed conspecific alien pupae for a longer time than parasitized *T. unifasciatus* workers (Mann–Whitney test:  $U = 306$ ,  $N_1 = 17$ ,  $N_2 = 12$ ,  $P = 0.023$ ).

## 1.5/ Discussion

We observed behavioural differences between the test species: *T. nylanderi* and nonparasitized *T. unifasciatus* workers were more aggressive towards both alien and nestmate brood than *T. parvulus* colonies. As colonies had had no encounter with non-nestmate ants for at least 1 year, we can exclude the impact of general learning processes such as a sensitization effect and dear-enemy effect on our results (Knaden & Wehner 2003; Sanada-Morimura et al. 2003; Pamminger et al. 2011). To account for the observed differences, one may consider the

probable different pressures influencing social tolerance in these three species. Behavioural patterns of host species may change according to the actual presence or absence of a social parasite in their environment, resulting in local adaptations (Foitzik et al. 2001; Brandt & Foitzik 2004). The social parasite *M. ravouxi* was present in both the *T. unifasciatus* (host species) and *T. parvulus* (nonhost species) collection sites. It was not present in Fontainebleau, but the high density of colonies and species dominance there suggest that, as already demonstrated (Foitzik & Heinze 1998, 2000), invasions and fusions are likely to happen among *T. nylanderi* colonies. *Temnothorax parvulus*, on the other hand, may experience lower competition in our test population. Our results thus suggest that both types of social parasite pressure (intraspecific and interspecific) deeply shaped host behavioural responses, triggering the evolution of increased agonistic behaviours towards brood during perturbation, be it heterospecific nestmate or non-nestmate. Our results did not confirm a previous result (Foitzik et al. 2007), which showed that *T. unifasciatus* exhibited better nestmate discrimination abilities than *T. nylanderi*. In our study, *T. unifasciatus* and *T. nylanderi* were similarly aggressive towards alien brood. An explanation for such discrepancy could be that we used brood instead of adult intruders, but it would be unlikely that brood triggered more aggressive reactions than adults. We rather propose that competition and fusions between *T. nylanderi* colonies in Fontainebleau favoured the selection of adaptations to resist intraspecific social parasitism.

Nonparasitized and free-living species were more aggressive towards conspecific non-nestmate brood than towards their own brood. Chemical dissimilarities between colony profiles may explain these aggressiveness differences, which are expected and congruent with the numerous studies on recognition mechanisms in ants (Lenoir et al. 1999). Chemical and behavioural evidence indeed shows, at least in some species, that the brood shares the colony odour of adults, if only with a lesser amount of cuticular products (Fénéron & Jaisson 1995;

Tannure-Nascimento et al. 2009). Colony odour is dynamic, and breeding ants in the homogenized environment and diet of the laboratory could decrease odour variations among colonies (Heinze et al. 1996; Liang & Silverman 2000; Van Zweden et al. 2009), leading to a decrease in their discrimination abilities. Perfect discrimination between nestmate and non-nestmate brood in all groups proves that such a bias did not impact our study.

We have shown that host workers are able to discriminate nestmate from non-nestmate pupae in free-living colonies and to display more agonistic behaviour than nonhost species. This could result from a more restrictive tolerance threshold (Reeve 1989) that allows host workers to discriminate alien individuals efficiently. Fürst et al. (2012) indeed demonstrated that *Myrmica rubra* ants are more intolerant to adult conspecifics in populations suffering parasitism pressure from the butterfly *Maculinea alcon*. The counterpart of such a restrictive recognition pattern is that it raises the frequency of rejection errors, that is, the rejection of nestmates. In our study, control results showed that in the event of a disturbance, workers of host species display a higher mean aggressiveness than nonhost species even with their own nestmate pupae. Our results on the impact of social parasitism on brood acceptance are thus also in line with the predictions of Reeve's (1989) model.

Slave workers from parasitized colonies did not show the same behavioural pattern as their free-living conspecifics. They were less aggressive than host workers from nonparasitized colonies when confronted with conspecific alien pupae. In addition, they did not treat alien and familiar heterospecific pupae differently. Paralleling the acquisition of their colony odour, ants learn their colonial template during the first days following emergence (Fénéron & Jaisson 1995; Tannure-Nascimento et al. 2009). As two species or more live in parasitized colonies, we thus explain the lower aggressiveness expressed here by *T. unifasciatus* slave workers by a larger template of nestmate recognition than their free-living conspecifics (Reeve 1989). This enlarged template could make the discrimination of

non-nestmate pupae difficult, as has been shown for other species in the context of mixed colonies (Errard 1994; Errard et al. 2006; Helanterä et al. 2007). This is also in line with the results of Fürst et al. (2012) who found that polygynous *M. rubra* colonies are less aggressive than monogynous ones, probably because of their higher genetic (and therefore chemical) intracolony diversity. Although we cannot exclude preimaginal learning (Isingrini et al. 1985), our results show that such a mechanism does not counterbalance the imaginal imprinting in mixed colonies. The difference between free-living and enslaved workers illustrates that the learning plasticity of host workers should be considered as key to the social parasite's success (Jaisson 1985, 1991; Stuart 1988).

Enslaved workers of *T. unifasciatus* groomed conspecific alien pupae less than workers from free-living colonies did. This significant difference in grooming behaviour between enslaved and free-living *T. unifasciatus* colonies could originate from the fact that enslaved workers and *M. ravouxi* pupae share a colonial signature in which specific hydrocarbons of the two species are present, while *T. unifasciatus* non-nestmate pupae only display chemical cues from one species (Errard et al. 2006). Similar quantitative and qualitative profiles will then induce more grooming behaviours, and promote colonial integration of non-nestmate pupae. *Myrmoxenus ravouxi* brood could also be chemically more attractive than host brood, a hypothesis that could partially explain why the first generation of slaves accepts the parasite queen's offspring (Mori et al. 1996; Johnson 2000).

Grooming behaviour towards nestmate pupae did not differ between nonparasitized colonies. In contrast, *T. unifasciatus*, the host species of *M. ravouxi*, groomed non-nestmate pupae less than nestmate ones, while *T. nylanderii* showed a strong trend of doing so. They thus performed fewer affiliative and more agonistic behaviours towards alien pupae, which is consistent with a discriminative, intolerant behaviour.

In contrast, the nonhost species *T. parvulus* groomed non-nestmate pupae more than nestmate ones. Apart from its hygienic function, grooming is a powerful mechanism to homogenize odours among nestmates (Lenoir et al. 1999). It has been shown in *Camponotus fellah* that individuals displaying an odour significantly diverging from the colonial one (but still below the tolerance threshold) receive intense grooming from nestmates (Boulay et al. 2000, 2004). Here, pupae odours can induce aggressiveness if perceived as above the worker tolerance threshold, while leading to integration behaviours (i.e. grooming) when perceived just below it (Reeve 1989). Combined with the relatively low level of aggression towards non-nestmate pupae, our results show that *T. parvulus* colonies have a relatively high foreign brood tolerance, which, in theory, could facilitate invasions by sympatric opportunistic parasites. This is in contrast with the other two *Temnothorax* species, reinforcing the idea that *T. parvulus* does not experience any parasite pressure. Genetic analyses based on microsatellites or other genetic markers would nevertheless be required to rule out intraspecific parasitism. If such parasitism existed, however, it would probably be sufficiently recent or rare not to have triggered a shift in the tolerance threshold of *T. parvulus* (Reeve 1989). Despite its tolerance to alien brood, *T. parvulus* has never been observed parasitized by *M. ravouxi* (Buschinger 1989). Following Emery's (1909) rule, *T. unifasciatus* may be phylogenetically more related to *M. ravouxi* than *T. parvulus*, which could explain the origin of this specific host–parasite interaction (Baur et al. 1995; Sumner et al. 2004; Beibl et al. 2005). Moreover, although sympatric, *M. ravouxi* could be confined to a different ecological niche (i.e. by temperature, hygrometry) from *T. parvulus* or could systematically fail in its attempts to invade or raid *T. parvulus* colonies since slave-making ants are likely to display specific adaptations to its host species only as a consequence of coevolution (Foitzik et al. 2003; Ruano et al. 2011).

## **1.6/ Conclusions**

Learning skills are considered a powerful adaptation to life in a changing environment, especially as competitive species challenge each other almost permanently (Dukas 2008). Social parasites demonstrate an original evolutionary success, exploiting what can be called a ‘cognition flaw’ and diverting the learning abilities of host species to their own profit. However, we also demonstrated that *Temnothorax* species suffering from social parasitism, be it intraspecific or interspecific, display a higher aggression rate towards alien pupae than nonhost species. Our results therefore strongly suggest that parasite pressure leads species to develop original strategies to get the edge in the arms race to which they are subjected. Regarding social parasitism, both intraspecific and interspecific parasitism seem to be powerful selection pressures, which shape recognition mechanisms of parasitized species.

## **1.7/ Acknowledgements**

O.D. was supported by the French Ministry of Research. S.C. and N.C. were supported by the ANR project SEUILS ANR-09-JCJC-0031. We thank the reviewers for their helpful comments on the manuscript.

## 1.8/ References

- Achenbach, A. & Foitzik, S.** 2009. First evidence for slave rebellion: enslaved ant workers systematically kill the brood of their social parasite *Protomognathus americanus*. *Evolution*, **63**, 1068-1075.
- Achenbach, A., Witte, V. & Foitzik, S.** 2010. Brood exchange experiments and chemical analyses shed light on slave rebellion in ants. *Behavioral Ecology*, **21**, 948-956.
- Alloway, T. M.** 1990. Slave-species ant colonies recognize slavemakers as enemies. *Animal Behaviour*, **39**, 1218-1220.
- Baur, A., Chalwatzis, N., Buschinger, A. & Zimmermann, F. K.** 1995. Mitochondrial DNA sequences reveal close relationships between social parasitic ants and their host species. *Current Genetics*, **28**, 242-247.
- Beibl, J., Stuart, R. J., Heinze, J. & Foitzik, S.** 2005. Six origins of slavery in formicoxenine ants. *Insectes Sociaux*, **52**, 291-297.
- Blatrix, R. & Herbers, J. M.** 2003. Coevolution between slave-making ants and their hosts: host specificity and geographical variation. *Molecular Ecology*, **12**, 2809-2816.
- Bonavita-Cougourdan, A., Bagnères, A. G., Provost, E., Dusticier, G. & Clement, J. L.** 1997. Plasticity of the cuticular hydrocarbon profile of the slave-making ant *Polyergus rufescens* depending on the social environment. *Comparative Biochemistry and Physiology B: Biochemistry & Molecular Biology*, **116**, 287-302.
- Bono, J. M., Antolin, M. F. & Herbers, J. M.** 2006a. Parasite virulence and host resistance in a slave-making ant community. *Evolutionary Ecology Research*, **8**, 1117-1128.
- Bono, J. M., Gordon, E. R., Antolin, M. F. & Herbers, J.** 2006b. Raiding activity of an obligate (*Polyergus breviceps*) and two facultative (*Formica puberula* and *F. gynecrates*) slave-making ants. *Journal of Insect Behavior*, **19**, 429-446.
- Boulay, R., Hefetz, A., Soroker, V. & Lenoir, A.** 2000. *Camponotus fellah* colony integration: worker individuality necessitates frequent hydrocarbon exchanges. *Animal Behaviour*, **59**, 1127-1133.
- Boulay, R., Katzav-Gozansky, T., Hefetz, A. & Lenoir, A.** 2004. Odour convergence and tolerance between nestmates through trophallaxis and grooming in the ant *Camponotus fellah* (Dalla Torre). *Insectes Sociaux*, **51**, 55-61.
- Brandt, M. & Foitzik, S.** 2004. Community context and specialization influence coevolution between a slavemaking ant and its hosts. *Ecology*, **85**, 2997-3009.



- Brandt, M., Foitzik, S., Fischer-Blass, B. & Heinze, J.** 2005(a). The coevolutionary dynamics of obligate ant social parasite system-between prudence and antagonism. *Biological Reviews*, **80**, 251-267.
- Buschinger, A.** 1986. Evolution of social parasitism in ants. *Trends in Ecology & Evolution*, **1**, 155-160.
- Buschinger, A.** 1989. Evolution, speciation, and inbreeding in the parasitic ant genus *Epimyrma* (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Evolutionary Biology*, **2**, 265-283.
- Buschinger, A.** 1997. Socially parasitic formicoxenine ants from Western Europe: a review (Hymenoptera, Formicidae). In: *Proceedings of the International Colloquia on Social Insects* (Ed. by V. E. Kipyatkov), pp. 1-9. St Petersburg: Russian Language Section of the IUSI, Socium.
- Buschinger, A., Ehrhardt, W. & Winter, U.** 1980. The organization of slave raids in dulotic ants: a comparative study (Hymenoptera, Formicidae). *Zeitschrift für Tierpsychologie*, **53**, 245-264.
- Davies, N. B., Butchart, S. H. M., Burke, T. A., Chaline, N. & Stewart, I. R. K.** 2003. Reed warblers guard against cuckoos and cuckoldry. *Animal Behaviour*, **65**, 285-295.
- d'Ettorre, P. & Heinze, J.** 2001. Sociobiology of slave-making ants. *Acta Ethologica*, **3**, 67-82.
- d'Ettorre, P. & Lenoir, A.** 2009. Nestmate recognition. In: *Ant Ecology* (Ed. by L. Lach, C. Parr & K. Abbott), pp. 194-209. Oxford: Oxford University Press.
- d'Ettorre, P., Brunner, E., Wenseleers, T. & Heinze, J.** 2004. Knowing your enemies: seasonal dynamics of host-social parasite recognition. *Naturwissenschaften*, **91**, 594-597.
- Dukas, R.** 2008. Evolutionary biology of insect learning. *Annual Review of Entomology*, **53**, 145-160.
- El-Showk, S., van Zweden, J.S., d'Ettorre, P. & Sundstrom, L.** 2010. Are you my mother? Kin recognition in the ant *Formica fusca*. *Journal of Evolutionary Biology*, **23**, 397-406.
- Emery, C.** 1909. Über den Ursprung der dulotischen, parasitischen und myrmekophilen Ameisen. *Biologisches Centralblatt*, **29**, 352-362.
- Errard, C.** 1994. Development of interspecific recognition behavior in the ants *Manica rubida* and *Formica selysi* (Hymenoptera: Formicidae) reared in mixed-species groups. *Journal of Insect Behavior*, **7**, 83-99.
- Errard, C., Hefetz, A. & Jaisson, P.** 2006. Social discrimination tuning in ants: template formation and chemical similarity. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **59**, 353-363.

- Fénéron, R. & Jaisson, P.** 1995. Ontogeny of nestmate brood recognition in a primitive ant, *Ectatomma tuberculatum* Olivier (Ponerinae). *Animal Behaviour*, **50**, 9-14.
- Foitzik, S. & Heinze, J.** 1998. Nest site limitation and colony take over in the ant, *Leptothorax nylanderi*. *Behavioral Ecology*, **9**, 367-375.
- Foitzik, S. & Heinze, J.** 2000. Intraspecific parasitism and split sex ratios in a monogynous and monandrous ant (*Leptothorax nylanderi*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **47**, 424-431.
- Foitzik, S. & Herbers, J. M.** 2001. Colony structure of a slavemaking ant. I. Intracolony relatedness, worker reproduction, and polydomy. *Evolution*, **55**, 307-315.
- Foitzik, S., DeHeer, C. J., Hunjan, D. N. & Herbers, J. M.** 2001. Coevolution in host-parasite systems: behavioural strategies of slave-making ants and their hosts. *Proceedings of the Royal Society B*, **268**, 1139-1146.
- Foitzik, S., Fischer, B. & Heinze, J.** 2003. Arms races between social parasites and their hosts: geographic patterns of manipulation and resistance. *Behavioral Ecology*, **14**, 80-88.
- Foitzik, S., Sturm, H., Pusch, K., D'Ettore, P. & Heinze, J.** 2007. Nestmate recognition and intraspecific chemical and genetic variation in *Temnothorax* ants. *Animal Behaviour*, **73**, 999-1007.
- Franks, N., Blum, M., Smith, R. K. & Allies, A. B.** 1990. Behavior and chemical disguise of cuckoo ant *Leptothorax kutteri* in relation to its host *Leptothorax acervorum*. *Journal of Chemical Ecology*, **16**, 1431-1444.
- Fürst, M. A., Durey, M. & Nash, D. R.** 2012. Testing the adjustable threshold model for intruder recognition on *Myrmica* ants in the context of a social parasite. *Proceedings of the Royal Society B*, **279**, 516-522.
- Gladstone, D. E.** 1981. Why there are no ant slave rebellions. *American Naturalist*, **117**, 779-781.
- Grafen, A.** 1990. Do animals really recognize kin? *Animal Behaviour*, **39**, 42-54.
- Hansson, B. S.** 1999. *Insect Olfaction*. Berlin: Springer-Verlag.
- Hare, J. F. & Alloway, T. M.** 2001. Prudent *Protomognathus* and despotic *Leptothorax duloticus*: differential costs of ant slavery. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, **98**, 12093-12096.
- Heinze, J., Foitzik, S., Hippert, A. & Hölldobler, B.** 1996. Apparent dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nylanderi*. *Ethology*, **102**, 510-522.

- Helanterä, H., Martin, S. J. & Ratnieks, F. L. W.** 2007. Prior experience with eggs laid by non-nestmate queens induces egg acceptance errors in ant workers. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **62**, 223-228.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O.** 1990. *The Ants*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.
- Isingrini, M., Lenoir, A. & Jaisson, P.** 1985. Preimaginal learning as a basis of colony-brood recognition in the ant *Cataglyphis cursor*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, **82**, 8545-8547.
- Jaisson, P.** 1975. L'imprégnation dans l'ontogenèse des comportements de soins aux cocons chez la jeune fourmi rousse (*Formica polyctena* Först). *Behaviour*, **52**, 1-37.
- Jaisson, P. & Fresneau, D.** 1978. The sensitivity and responsiveness of ants *Formica polyctena* to their cocoons in relation to age and methods of measurement. *Animal Behaviour*, **26**, 1064-1071.
- Johnson, C. A.** 2000. Responses of two potential host species (*Formica gnava* and *Formica occulta*) to pupae of the obligatory slave-making ant, *Polyergus breviceps* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior*, **13**, 711-730.
- Johnson, C. A. & Herbers, J. M.** 2006. Impact of parasite sympatry on the geographic mosaic of coevolution. *Ecology*, **87**, 382-394.
- Johnson, C. A., Topoff, H., Vander Meer, R. K. & Lavine, B.** 2005. Do these eggs smell funny to you?: an experimental study of egg discrimination by hosts of the social parasite *Polyergus breviceps* (Hymenoptera : Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **57**, 245-255.
- Kaib, M., Heinze, J. & Ortius, D.** 1993. Cuticular hydrocarbon profiles in the slave-making ant *Harpagoxenus sublaevis* and its hosts. *Naturwissenschaften*, **80**, 281-285.
- Knaden, M. & Wehner, R.** 2003. Nest defense and conspecific enemy recognition in the desert ant *Cataglyphis fortis*. *Journal of Insect Behavior*, **16**, 717-730.
- Kruger, O.** 2007. Cuckoos, cowbirds and hosts: adaptations, trade-offs and constraints. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **362**, 1873-1886.
- Le Moli, F. & Mori, A.** 1987. Why a slave ant species accepts and cares for cocoons of its slave-maker. *Insectes Sociaux*, **34**, 136-141.
- Lenoir, A., Fresneau, D., Errard, C. & Hefetz, A.** 1999. Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: *Information Processing in Social Insects* (Ed. by C. Detrain, J. L. Deneubourg & J. Pasteels), pp. 219-237. Basel: Birkhauser Verlag.

- Lenoir, A., D'Ettorre, P., Errard, C. & Hefetz, A.** 2001. Chemical ecology and social parasitism in ants. *Annual Review of Entomology*, **46**, 573-599.
- Liang, D. & Silverman, J.** 2000. 'You are what you eat': diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften*, **87**, 412-416.
- Mori, A., D'Ettorre, P. & Le Moli, F.** 1996. Selective acceptance of the brood of two formicine slave-making ants by host and non-host related species. *Insectes Sociaux*, **43**, 391-400.
- Mori, A., Grasso, D. A., Visicchio, R. & Le Moli, F.** 2001. Comparison of reproductive strategies and raiding behaviour in facultative and obligatory slave-making ants: the case of *Formica sanguinea* and *Polyergus rufescens*. *Insectes Sociaux*, **48**, 302-314.
- Moksnes, A., Røskoft, E., Braa, A. T., Korsnes, L., Lampe, H. M. & Pedersen, H. C.** 1991. Behavioural responses of potential hosts towards artificial cuckoo eggs and dummies. *Behaviour*, **116**, 64-89.
- Pamminger, T., Scharf, I., Pennings, P. S. & Foitzik, S.** 2011. Increased host aggression as an induced defense against slave-making ants. *Behavioral Ecology*, **22**, 255-260.
- Reeve, H.K.** 1989. The evolution of conspecific acceptance thresholds. *American Naturalist*, **133**, 407-435.
- Robertson, R. J. & Norman, R. F.** 1976. Behavioural defences to brood parasitism by potential hosts of the brownheaded cowbird. *Condor*, **78**, 166-173.
- Rothstein, S.I. & Robinson, S.K.** 1998. *Parasitic Birds and their Hosts: Studies in Coevolution*. Oxford: Oxford University Press.
- Ruano, F., Devers, S., Sanllorente, O., Errard, C., Tinaut, A. & Lenoir, A.** 2011. A geographical mosaic of coevolution in a slave-making host-parasite system. *Journal of Evolutionary Biology*, **24**, 1071-1079.
- Sanada-Morimura, S., Minai, M., Yokoyama, M., Hirota, T., Satoh, T. & Obara, Y.** 2003. Encounter-induced hostility to neighbors in the ant *Pristomyrmex pungens*. *Behavioral Ecology*, **14**, 713-718.
- Savolainen, R. & Deslippe, R. J.** 1996. Facultative and obligate slavery in formicine ants: frequency of slavery, and proportion and size of slaves. *Biological Journal of the Linnean Society*, **57**, 47-58.
- Scharf, I., Pamminger, T. & Foitzik, S.** 2011. Differential response of ant colonies to intruders: attack strategies correlate with potential threat. *Ethology*, **117**, 731-739.

- Seifert, B.** 2007. *Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas*. Tauer: Lutra Verlags- & Vertriebsgesellschaft.
- Stuart, R. J.** 1988. Collective cues as a basis for nestmate recognition in polygynous lepthoracine ants. *Proceedings of the National Academy of Science, U.S.A.*, **85**, 4572-4575.
- Sumner, S., Aanen, D. K., Delabie, J. & Boomsma, J. J.** 2004. The evolution of social parasitism in *Acromyrmex* leaf-cutting ants: a test of Emery's rule. *Insectes Sociaux*, **51**, 37-42.
- Tamarri, V., Castracani, C., Grasso, D. A., Visicchio, R., Le Moli, F. & Mori, A.** 2009. The defensive behaviour of two *Formica* slave-ant species: coevolutionary implications with their parasite *Polyergus rufescens* (Hymenoptera, Formicidae). *Italian Journal of Zoology*, **76**, 229-238.
- Tannure-Nascimento, I. C., Nascimento, F. S., Dantas, J. O. & Zucchi, R.** 2009. Decision rules for egg recognition are related to functional roles and chemical cues in the queenless ant *Dinoponera quadriceps*. *Naturwissenschaften*, **96**, 857-861.
- Thompson, J.N.** 1994. *The Coevolutionary Process*. Chicago: University of Chicago Press.
- Thompson, J.N.** 1999. Specific hypotheses on the geographic mosaic of evolution. *American Naturalist*, **153**, S1-S14
- Van Valen, L.** 1973. A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*, **1**, 1-30.
- Vienne, C., Soroker, V. & Hefetz, A.** 1995. Congruency of hydrocarbon patterns in heterospecific group of ants: transfer and/or biosynthesis. *Insectes Sociaux*, **42**, 267-277.
- Wilson, E. O.** 1975. Slavery in ants. *Scientific American*, **232**, 32-36.
- van Zweden, J. S., Heinze, J., Boomsma, J. J. & d'Ettorre, P.** 2009. Ant queen egg-marking signals: matching deceptive laboratory simplicity with natural complexity. *PLoS ONE*, **4**, e4718.

## 2- Comparaison de la tolérance au couvain hétérocolonial d'ouvrières esclavagistes et esclaves

### 2.1/ Introduction

Dans notre précédente étude, nous avons montré que des ouvrières de l'espèce hôte *T. unifasciatus* confrontées à des pupes hétérocoloniales homospécifiques montrent une plus grande agressivité que les ouvrières d'une espèce non-hôte telle que *T. parvulus*. Considérant la présence du parasite social esclavagiste *M. ravouxi* dans les populations d'origine de nos colonies, nous avons postulé que ces différences étaient imputables aux différentes pressions de sélection s'appliquant aux espèces sympatriques du parasite social (cf. Fürst *et al.* 2011). Cependant, ces différences ne se retrouvaient pas chez des ouvrières esclaves *T. unifasciatus* de colonies parasitées. Elles n'agressaient pas plus les pupes conspécifiques que les pupes parasites, démontrant de ce fait leur plus grande tolérance à des odeurs étrangères et/ou un patron de reconnaissance coloniale plus inclusif (Reeve 1989). Ce résultat n'est en soi pas surprenant, car il correspond à ce que l'on sait de la formation du patron de reconnaissance colonial chez les fourmis (Crozier & Dix 1979 ; Lenoir *et al.* 1999). Elle peut s'effectuer dès les stades les plus précoces de la vie de l'individu (Isingrini *et al.* 1985) et permet aux individus d'une colonie, en comparant cette image de référence et l'odeur portée par les individus, de discriminer les étrangers des membres du nid et de réserver à ces derniers le bénéfice de leurs comportements altruistes.

Les fourmis s'appuient essentiellement sur les hydrocarbures cuticulaires (Lahav *et al.* 1999) pour reconnaître les membres du nid (« *nestmates* »). Ces hydrocarbures, issus des productions individuelles de chaque fourmi, sont ensuite mélangés via les contacts (Soroker *et al.* 2003), léchages et trophallaxies que se prodiguent les membres de la

colonie (Soroker *et al.* 1995), pour former une sorte de label homogène qui servira donc de référence olfactive : le label colonial (Crozier & Dix 1979).

Or, au sein de colonies mixtes, différentes études (Errard 1994 ; Vienne *et al.* 1995 ; Errard *et al.* 2006b) ont pu démontrer que les ouvrières intégraient des indices chimiques issus des différentes espèces composant la colonie. Cette intégration peut conduire à la formation d'un patron de reconnaissance plus inclusif qui va induire une plus faible agressivité vis-à-vis des individus étrangers (Errard 1994 ; Errard *et al.* 2006a ; Helanterä *et al.* 2007).

Les travaux de Schumann et Buschinger (1994, 1995) ont permis de démontrer que la reine et les ouvrières d'une espèce esclavagiste présentaient une préférence spontanée pour leur espèce hôte principale respectivement au moment de l'invasion et des raids. Des adoptions expérimentales au sein de colonies d'une espèce hôte rarement exploitée de *Chalepoxenus muellerianus* ont permis de montrer que cette préférence pouvait seulement être partiellement modulée par l'apprentissage. Cette préférence pourrait apparaître comme un avantage adaptatif sélectionné chez les espèces esclavagistes pour leur permettre de détecter plus efficacement leurs espèces hôtes lors des différentes étapes de développement de la colonie parasite. Lors des raids, les ouvrières esclavagistes doivent en effet être capables de reconnaître leur espèce hôte et de rapporter le couvain des colonies voisines pour assurer la survie de leur colonie. Nous pensons donc que les mécanismes de reconnaissance des espèces hôtes par les espèces esclavagistes doivent être analysés en regard de la longue relation coévolutive qui lie ces espèces entre elles, et notamment de la dépendance des espèces parasites à leurs hôtes. La pression de sélection s'appliquant aux espèces esclavagistes pour reconnaître leur espèce hôte peut en effet avoir favorisé le développement de mécanismes sensoriels ou cognitifs facilitant cette reconnaissance. Ainsi, une sensibilité plus importante aux molécules spécifiques de l'espèce hôte (Hansson

1999) pourrait faciliter la reconnaissance de cette dernière lors de la période des raids (Schumann & Buschinger 1995).

Aussi, dans cette étude complémentaire de la précédente, nous avons posé l'hypothèse que les parasites sociaux esclavagistes demeuraient capables de discriminer le couvain de leur espèce hôte de celui de leur propre espèce dans un contexte de colonie mixte, au contraire de leurs espèces hôtes.

Pour tester notre hypothèse, nous avons donc comparé l'agressivité et les comportements affiliatifs du parasite esclavagiste *M. ravouxi* à ceux des ouvrières esclaves *T. unifasciatus* issues de colonies mixtes parasitées et déjà présentés dans notre précédente étude. Nous avons fait la prédiction que les ouvrières parasites se montreraient plus agressives vis-à-vis de pupes hétérocoloniales hôtes que vis-à-vis de pupes hétérocoloniales parasites, contrairement aux ouvrières esclaves qui, comme notre étude précédente le montre, développent une image de référence coloniale plus large, élevant *de facto* leur seuil de tolérance hétérocolonial et rendant plus difficile la discrimination entre leur propre espèce et l'espèce parasite.



## **2.2/ Matériel et Méthodes**

### 2.2.1) Espèces

Nous avons utilisé des colonies de *Temnothorax unifasciatus* parasitées par l'espèce esclavagiste *Myrmoxenus ravouxi* (N = 12). Les colonies parasitées ont été récoltées à Vaison-la-Romaine (44°14'N, 5°04'E), en France, au printemps 2008.

Les colonies ont été conservées au laboratoire dans des boîtes en plastique (15x10x5cm) dont le sol de plâtre était humidifié fréquemment. Le nid était constitué de deux lamelles de verre séparées par une pièce fine de linoléum. Les colonies étaient nourries une à deux fois par semaine avec du miel et des drosophiles. Les tests eurent lieu durant l'été 2009 afin de se prémunir de tout effet de familiarisation (Knaden & Wehner 2003, Sanada-Morimura *et al.* 2003, Helanterä *et al.* 2007) et de neutraliser l'influence du contexte environnemental des fourmis (Heinze *et al.* 1996 ; Liang & Silverman 2000 ; Katzav-Gozansky *et al.* 2004). Au moment de l'expérience, la photopériode était de 12h/12h avec une température nocturne de 15°C et une température diurne d'environ 22°C. L'humidité de la pièce était maintenue à environ 60%.

### 2.2.2) Protocole expérimental

Le protocole consistait en l'introduction au sein de nos colonies expérimentales parasitées de pupes de l'espèce esclavagiste *M. ravouxi* extraites d'autres colonies parasitées et de pupes de l'espèce hôte *T. unifasciatus* extraites quant à elle de colonies libres (nos colonies parasitées ne contenant pas de couvain hôte). Après avoir été prélevée dans sa colonie d'origine, la jeune puce était introduite trois minutes plus tard dans la colonie testée. Le prélèvement et l'introduction des pupes s'effectuaient en glissant délicatement la lame supérieure des nids afin de limiter les perturbations. L'introduction des pupes testées a été réalisée de manière aléatoire, pour éviter un effet d'expérience pour nos colonies.

La pupe introduite était utilisée comme point focal de notre analyse. Les tests duraient vingt minutes durant lesquelles étaient enregistrés les comportements des ouvrières de l'espèce parasite et de l'espèce hôte vis-à-vis de la pupe hétérocoloniale. Sur chaque pupe introduite, nous avons relevé les occurrences de morsure pour estimer l'agressivité des espèces testées ainsi que les temps de toilettage, considérés ici comme variable affiliative, puisqu'ils facilitent l'intégration coloniale dans les sociétés de fourmis. (Soroker *et al.* 1994 ; Meskali *et al.* 1995 ; Lenoir *et al.* 1999).

### 2.2.3) Méthode statistique

Nous avons utilisé des tests de permutation pour échantillons appariés pour comparer nos données, avec le logiciel StatXact (Cytel Studio, version 8.0.0, 2007).

## 2.3/ Résultats

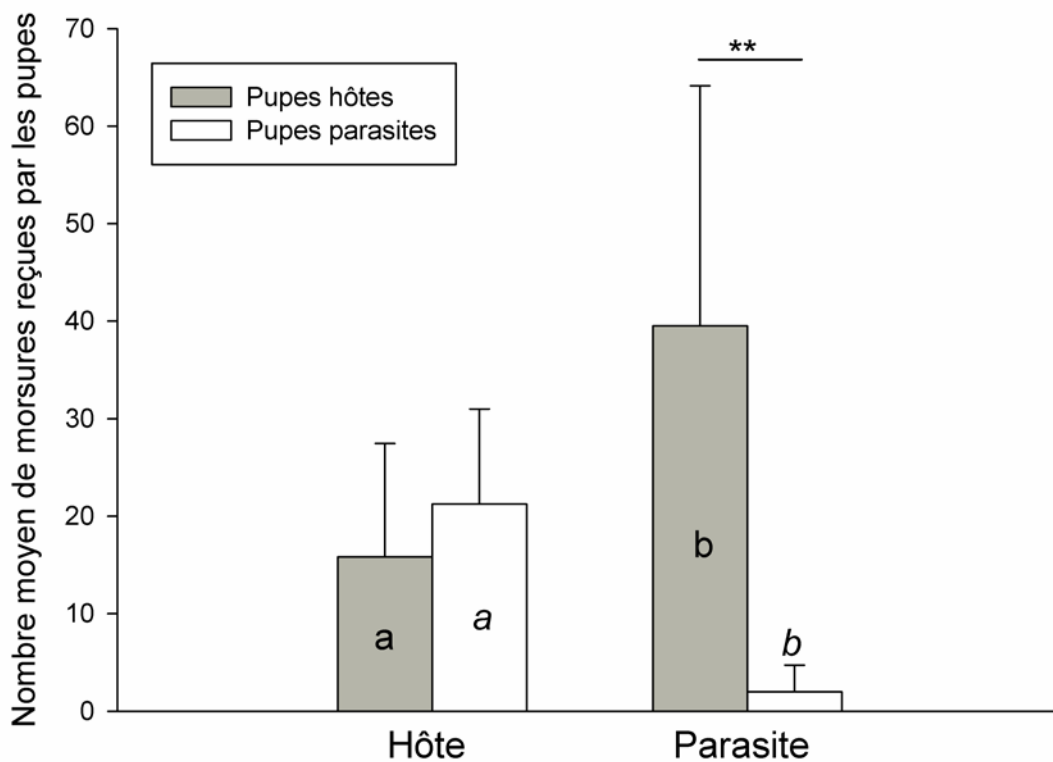


Figure IV-3. Nombre moyen ( $\pm$ E.S) de morsures infligées aux pupes hétérocoloniales homospécifiques et hétérospécifiques au sein de colonies parasitées de *M. ravouxi* et *T. unifasciatus* (N=12). Les lettres différentes indiquent des différences comportementales significatives concernant les pupes de l'espèce hôte ou parasite. \*\*  $P < 0.01$ .

Les ouvrières de l'espèce parasite *M. ravouxi* ont significativement plus agressé (Fig. IV-3) les pupes hétérocoloniales de l'espèce hôte que celles de leur propre espèce (Test de permutation ; Stat = -2.941,  $P = 0.002$ ). Les ouvrières de l'espèce hôte *T. unifasciatus* n'ont quant à elles pas plus agressé les pupes hétérocoloniales de l'espèce parasite que celles de leur propre espèce (Test de permutation ; Stat = 1.079,  $P = 0.301$ ).

Les pupes *M. ravouxi* ont été plus agressées par les ouvrières de l'espèce hôte *T. unifasciatus* que par les ouvrières de leur propre espèce (Test de permutation ; Stat = 3.135,  $P = 4.8.10^{-4}$ ).

Les pupes de l'espèce hôte *T. unifasciatus* ont été plus agressées par les ouvrières de l'espèce parasite *M. ravouxi* que par celles de leur propre espèce (Test de permutation ; Stat = 3.183,  $P = 0.021$ ).

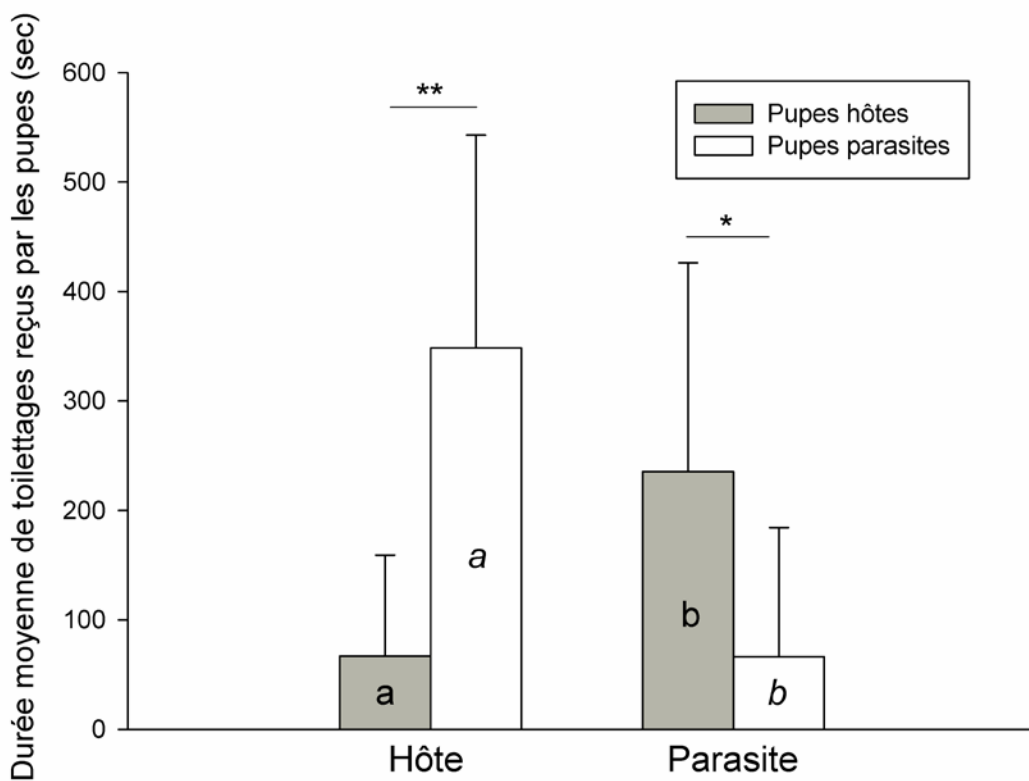


Figure IV-4. Temps moyen (secondes) de toilettages ( $\pm$  E.S) reçus par les pupes hétérocoloniales hôtes et parasites au sein de colonies parasitées de *M. ravouxi* et *T. unifasciatus* (N=12). Les lettres différentes indiquent des différences comportementales significatives concernant les pupes de l'espèce hôte ou parasite. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

Les ouvrières de l'espèce parasite *M. ravouxi* ont significativement plus léché (Fig. IV-4) les pupes hétérocoloniales de l'espèce hôte que celles de leur propre espèce (Test de permutation ; Stat = -2.061, P = 0.028). Les ouvrières de l'espèce hôte *T. unifasciatus* ont quant à elles plus léché les pupes hétérocoloniales de l'espèce parasite que celles de leur propre espèce (Test de permutation ; Stat = 2.72, P = 0.004).

Les pupes *M. ravouxi* ont été plus léchées par les ouvrières de l'espèce hôte *T. unifasciatus* que par les ouvrières de leur propre espèce (Test de permutation ; Stat = -2.669, P = 0.003).

Les pupes de l'espèce hôte *T. unifasciatus* ont été plus léchées par les ouvrières de l'espèce parasite *M. ravouxi* que par celles de leur propre espèce (Test de permutation ; Stat = 2.019, P = 0.028).

## **2.4/ Discussion**

Lors de nos tests, contrairement aux ouvrières esclaves, les ouvrières parasites ont montré une plus grande agressivité envers le couvain hôte qu'envers le couvain parasite. Nos résultats renvoient à ceux obtenus par Schumann et Buschinger (1995) et montrent que l'espèce esclavagiste *M. ravouxi* affiche une agressivité spontanée pour son ou ses espèces hôtes. Les raids réguliers entrepris par les espèces esclavagistes afin d'en piller le couvain et de renouveler leur force de travail supposent pour ces espèces d'être capable de reconnaître efficacement leurs espèces hôtes. Or, la densité des populations du genre *Temnothorax* peut être très importante et compter plusieurs colonies de la même espèce au m<sup>2</sup> (Foitzik & Heinze 1998 ; Seifert 2007). La probabilité de rencontre avec des espèces non-hôtes peut donc être importante, alors que ces espèces ne constituent pas *a priori* des hôtes utilisables par le parasite. Mais le modèle classique de formation du *template* de reconnaissance, la « Gestaltl » (Crozier & Dix 1979), suppose que les capacités de

discrimination des espèces élevées dans un contexte spécifique mixte sont réduites (Errard 1994 ; Errard *et al.* 2006a) et que leur seuil de tolérance (Reeve 1989) est plus élevé que dans un contexte « monospécifique ». Pourtant, les espèces esclavagistes devront être capables de reconnaître les colonies de l'espèce hôte qu'ils exploitent localement, afin de piller leur couvain. Chez les parasites sociaux, notamment esclavagistes, cette spécificité locale a pu être démontré (Foitzik *et al.* 2001, 2003 ; Brandt & Foitzik 2004 ; Fischer & Foitzik 2004 ; Brandt *et al.* 2005a). Les espèces parasites se révèlent plus efficaces lors des raids à l'encontre de colonies sympatriques de l'espèce hôte qu'à l'encontre de colonies allopatriques de cette même espèce. On peut penser *a fortiori* que les espèces esclavagistes se révéleront donc également moins efficaces dans les raids contre des espèces non-hôtes que contre leurs espèces hôtes. Plus encore, des ouvrières natives de colonies non-hôtes pourraient s'avérer être des esclaves inappropriées considérant les différentes niches écologiques de ces espèces, engendrant un taux de mortalité plus important pour le couvain parasite. La reconnaissance de l'espèce hôte apparaît donc cruciale pour éviter les erreurs de choix des colonies cibles lors des raids, afin d'assurer la survie des colonies esclavagistes.

Les ouvrières esclaves des colonies parasitées affichent un comportement différent. Considérant notre précédente étude et les différences observées chez des colonies libres de l'espèce hôte, il semble que les ouvrières esclaves développent une image de référence coloniale plus large qui inclurait à la fois les indices propres à leur espèce et à l'espèce parasite (Hefetz *et al.* 1992), rendant plus difficile la discrimination des deux espèces (Errard *et al.* 2006a). Ces résultats sont différents de ceux récemment obtenus chez *T. longispinosus*, une espèce hôte de *Protomognathus americanus* (Achenbach & Foitzik 2009) qui peut détruire sélectivement le couvain du parasite. Nos résultats montrent que l'espèce hôte *T. unifasciatus* n'a pas développé d'intolérance spécifique au couvain de

notre espèce parasite comparativement au couvain de sa propre espèce dans la population concernée. Pourtant, les ouvrières esclaves passent plus de temps à lécher les pupes parasites hétérocoloniales que les pupes conspécifiques issues de colonies non parasitées. Cette différence peut en fait s'expliquer en considérant les labels coloniaux des pupes concernées. En fait, l'image de référence acquise par les ouvrières esclaves intègre des composés propres aux deux espèces. Or, d'un point de vue sensoriel, il est plus facile de détecter la présence d'indices différents que de détecter leur absence (Meskali *et al.* 1995 ; Guerrieri *et al.* 2009). Aussi, les pupes parasites hétérocoloniales, affichant un label colonial plus complexe que les pupes hétérocoloniales de colonies hôtes non mixtes, sont perçues par les ouvrières esclaves comme plus divergentes au niveau de leur profil chimique. Cette plus grande distance chimique entre les profils pourrait stimuler les léchages pratiqués par les ouvrières esclaves, qui homogénéisent alors activement le label colonial de ces pupes mais ne les agressent pas plus. Ce résultat ambivalent peut s'expliquer par l'image de référence coloniale plus large des ouvrières esclaves issues d'une colonie mixte parasitée (Errard 1994 ; Errard *et al.* 2006a) et dont le seuil de tolérance est moins restrictif. D'autres hypothèses peuvent également être proposées pour expliquer ce résultat. Les ouvrières esclavagistes ne participent pas aux tâches quotidiennes de la colonie. Aussi, la pérennité de ces sociétés est intégralement assurée par les ouvrières esclaves, notamment pour les soins aux jeunes. Pour faciliter son acceptation lors de la fondation et afin de faciliter son émergence, le couvain de l'espèce *M. ravouxi* a pu développer des allomones « attractives » qui stimulent les comportements de soins des ouvrières esclaves.

Dans le même temps, les ouvrières *M. ravouxi* ont très peu agressé les pupes hétérocoloniales parasites. Cette faible agressivité laisse penser que le poids relatif des molécules spécifiques de *M. ravouxi* présentes dans leur label olfactif est plus important

dans les mécanismes sensoriels de détection des ouvrières esclavagistes et qu'il ne déclenche pas d'agressivité particulière chez ces dernières. Nous tenterons dans la discussion générale de poser des hypothèses permettant de mieux comprendre ces résultats.

Les ouvrières parasites ont également plus toiletté les pupes hétérocoloniales de l'espèce hôte. Ces résultats semblent contradictoires avec le fait que les ouvrières de *M. ravouxi* sont également plus agressives avec les pupes hétérocoloniales de l'espèce hôte. Cet apparent paradoxe peut en fait s'expliquer par l'incohérence contextuelle à laquelle les ouvrières parasites ont été soumises expérimentalement. En effet, les tests ont été réalisés à l'intérieur de la colonie, là où elles sont susceptibles d'avoir à intégrer des pupes hétérocoloniales de leur espèce hôte en période de raids. Cependant, ce couvain ayant été introduit expérimentalement au sein de la colonie juste après la période de raids à une époque les pupes ont déjà émergé, il a pu être assimilé à une intrusion, déclenchant des comportements agonistiques. Les ouvrières esclavagistes sont donc plus agressives envers les pupes de l'espèce hôte introduites.

Notre étude révèle chez l'espèce esclavagiste *M. ravouxi* une perception ou une utilisation différente des indices spécifiques présents dans les signatures coloniales d'individus étrangers. Les ouvrières de cette espèce semblent accorder un poids relatif plus important aux composés propres à leur espèce. Un tel mécanisme s'appuyant sur les composés spécifiques pour discriminer les espèces, pourrait expliquer pourquoi les ouvrières esclavagistes se montrent très peu agressives vis-à-vis des pupes conspécifiques hétérocoloniales. L'image de référence coloniale intégrée par les ouvrières parasites inclue également des indices chimiques issus des ouvrières esclaves. Il est probable que, comme chez d'autres espèces esclavagistes (Schumann & Buschinger 1995), la préférence pour une espèce hôte s'articule partiellement autour de cet apprentissage précoce des indices chimiques de l'espèce hôte.



Nous pensons que d'autres études sur ces espèces devront donc s'appliquer à comparer le comportement d'ouvrières esclavagistes confrontées à des espèces hôtes non-familiales et des espèces non-hôtes, pour déterminer si la plus grande agressivité montrée par une espèce esclavagiste opportuniste telle que *M. ravouxi* envers une espèce hôte familière (comparativement à sa propre espèce, ici) est la résultante d'un mécanisme de reconnaissance par seuils s'appuyant sur les indices spécifiques présents dans son bouquet d'odeurs propres ou si, comme Schumann et Buschinger (1995) ont pu le démontrer chez une autre espèce esclavagiste, ces espèces s'appuient sur une préférence spontanée pour une ou plusieurs espèces hôtes privilégiées.

Quoi qu'il en soit, les résultats présentés dans cette étude constituent une étape intéressante dans l'étude des mécanismes de reconnaissance du couvain hétérocolonial chez les espèces esclavagistes. Du fait de la pression de sélection s'appliquant à ces dernières pour reconnaître leur(s) espèce(s) hôte(s), dont l'asservissement est crucial pour la survie de la société parasite, elles constituent un modèle biologique intéressant pour comprendre comment des mécanismes de reconnaissance spécifique ont pu émerger au cours de l'évolution chez certaines espèces.

## **Chapitre V :**

### **Suivi d'adoptions expérimentales chez des espèces hôtes et non-hôtes de *M. ravouxi***

# **1-Importante mortalité des pupes de *M. ravoixi* dans des colonies libres hôtes et non-hôtes sympatriques**

## **1.1/ Introduction**

Parmi les différentes formes de parasitisme social dont les hyménoptères sociaux sont parfois victimes, l'esclavagisme est une stratégie comportementale qui implique la dépendance de l'espèce parasite à des ouvrières hôtes pour assurer la survie de la colonie (Buschinger 1986). Aussi, des raids réguliers sont-ils nécessaires pour renouveler le nombre d'esclaves (Buschinger *et al.* 1980). En attaquant et en désorganisant les colonies ciblées, les espèces esclavagistes appliquent une importante pression de sélection sur leurs espèces hôtes, susceptible de favoriser le développement de mécanismes de défense chez les espèces hôtes (Alloway 1990; Mori *et al.* 1991; Foitzik and Herbers 2001b; Foitzik *et al.* 2001; Herbers and Foitzik 2002; Blatrix & Herbers 2003; Brandt & Foitzik 2004; Achenbach *et al.* 2009). Récemment, une étude a ainsi pu démontrer que des ouvrières esclaves détruisaient sélectivement le couvain parasite (Achenbach *et al.* 2009). Le rejet des larves et des pupes issues de colonies pillées peut en effet conférer un avantage adaptatif aux espèces hôtes dans leur course évolutive (Van Valen 1973) face à leurs parasites sociaux dès lors que les colonies voisines de l'espèce hôte partagent un certain degré d'apparentement avec les ouvrières esclaves (Gladstone 1981; Achenbach *et al.* 2009). Néanmoins, les démonstrations de rébellion d'ouvrières esclaves demeurent rares (cf. Gladstone 1981).

Dans le chapitre précédent de ce travail, nous avons testé l'hypothèse que la pression des espèces esclavagistes pouvait affecter les mécanismes de la reconnaissance sociale chez leurs espèces hôtes en favorisant la sélection d'un seuil de tolérance colonial plus restrictif. En l'occurrence, nous avons postulé que cette intolérance se manifesterait également lors

de la mise en présence de pupes hétérocoloniales, que les ouvrières esclaves d'une colonie parasitée sont susceptibles de devoir accepter à l'issue des raids des ouvrières parasites. Nos résultats ont de fait permis de valider cette hypothèse, autant pour les espèces exploitées par un parasite esclavagiste opportuniste (*Myrmoxenus ravouxi*) que celles subissant une pression de parasitisme intraspécifique. Les comportements agonistiques dirigés contre les individus non familiers étaient notamment plus importants pour l'espèce hôte *T. unifasciatus* que pour l'espèce non-hôte testées; et les comportements affiliatifs plus importants chez cette dernière. Les résultats concernant les colonies parasitées étaient cependant différents puisque les ouvrières esclaves étaient moins agressives que les ouvrières issues de colonies non parasitées vis-à-vis du couvain hétérocolonial. Nous avons donc conclu que le parasite social *Myrmoxenus ravouxi* exploitait la plasticité du patron de reconnaissance coloniale de son espèce hôte ou avait développé des traits pour contrer l'agressivité hétérocoloniale plus importante de ses espèces hôtes (telle qu'une attractivité forte de son couvain, par exemple).

Nous avons donc émis les prédictions suivantes : (i) le couvain hétérocolonial devrait avoir plus de chances d'arriver à maturité au sein de colonies d'une espèce non-hôte qu'au sein de celles d'une espèce hôte. Nous avons donc introduit des pupes hétérocoloniales et homocoloniales au sein de colonies non parasitées d'une espèce hôte (*T. unifasciatus*) et d'une espèce non-hôte (*T. parvulus*), afin d'en assurer le suivi jusqu'à leur émergence éventuelle. (ii) Si la plus forte attractivité du couvain parasite se vérifiait, les pupes de l'espèce esclavagiste devraient avoir de meilleures chances de parvenir à maturité que les pupes homospécifiques hétérocoloniales. Nous avons donc également introduit des pupes de l'espèce esclavagiste *M. ravouxi* dans d'autres colonies non parasitées de l'espèce hôte *T. unifasciatus* afin de comparer leur survie avec les pupes homospécifiques.

## 1.2/ Matériel et Méthodes

Nous avons testé la survie de pupes hétérocoloniales de l'espèce parasite *M. ravouxi*, de l'espèce hôte *T. unifasciatus* et de l'espèce non-hôte *T. parvulus*. Pour ce faire, nous avons donc introduit une pupa homocoloniale (contrôle) ou hétérocoloniale dans chacune des colonies testées et relevé la survie de ces pupes dans le temps. Les colonies hôtes parasitées et non parasitées de *T. unifasciatus* ont été récoltées à Vaison-la-Romaine, en France (44°14'N, 5°04'E). Les colonies non-hôtes de *T. parvulus* ont été récoltées près de Montpellier (43°60'N, 3°87'E), en France également. Les récoltes eurent lieu en avril 2008.

Pour assurer le suivi des pupes, nous avons introduit de jeunes pupes homocoloniales et hétérocoloniales dans des colonies où le couvain au même stade de développement était soit absent, soit retiré par nos soins (quelques heures au préalable pour éviter tout effet du stress sur l'acceptation du couvain). Le marquage par la peinture n'a pas eu notre faveur en raison des modifications d'odeur qu'il peut engendrer et, lors de pré-tests, nous n'avons pas eu de résultats plus concluants avec un micro-fil de cuivre nouée au niveau du pétiole, entre le thorax et l'abdomen des pupes. Une étude précédente nous avait également appris que le marquage à l'encre ingérée par des larves de *Temnothorax* affectait considérablement leur taux de survie (Rumsaïs Blatrix, communication personnelle). Aussi, nous avons choisi une méthode non invasive, laissant les pupes intactes. La survie des pupes a été relevée sur une échelle de temps de 15 jours, suffisante en général pour atteindre une émergence potentielle. Les observations étaient réalisées quotidiennement.

Les colonies testées étaient élevées en laboratoire dans des boîtes de 15x20 centimètres dont le sol était en plâtre, humidifié régulièrement. Les colonies étaient installées entre deux plaques de verre séparées par du linoléum et nourries une à deux fois

par semaine avec un mélange de miel et de drosophiles disposé dans l'aire de fourragement.

Nous avons comparé deux à deux les taux de mortalité des pupes pour chaque type d'introduction à l'aide de tests de Khi-deux de Pearson, afin de tester l'hypothèse d'une indépendance des taux de mortalité des pupes à la condition « type d'introduction ».

Les traitements statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel StatXact (Cytel Studio, version 8.0.0, 2007).

### 1.3/ Résultats

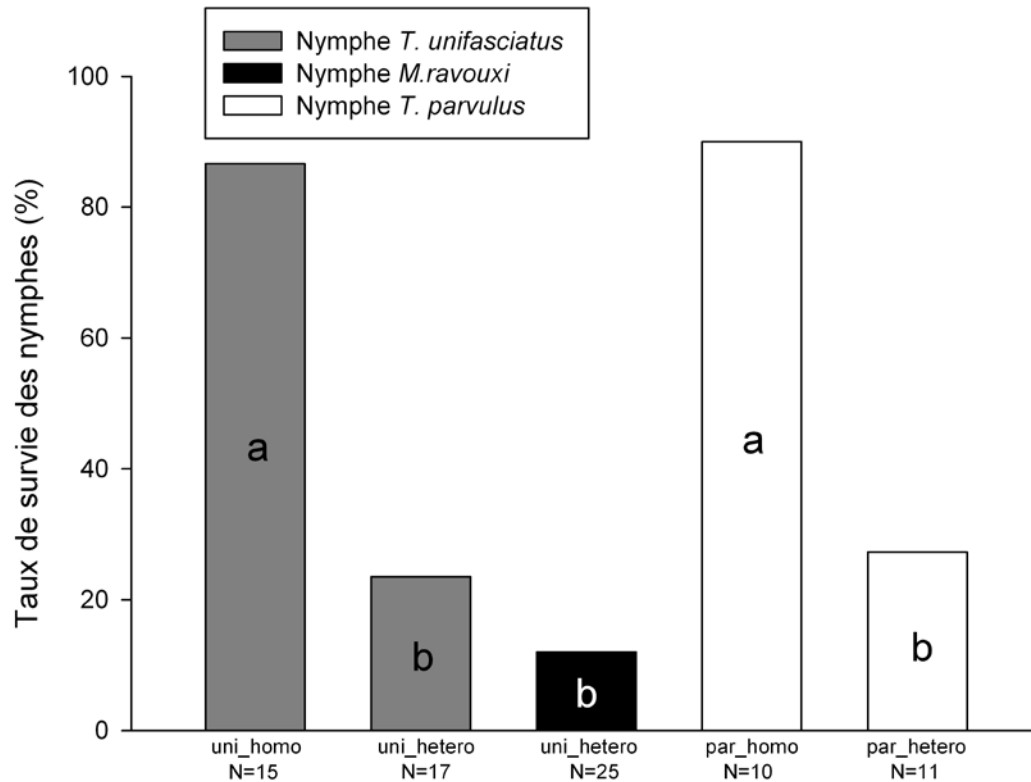


Fig V-1. Taux de survie des pupes (%) introduites dans des colonies (homocoloniales et hétérocoloniales) non hôte (*T. parvulus*) et hôte (*T. unifasciatus*) non parasitées par *M. ravouxi*.

Le taux de survie des pupes homospécifiques introduites au sein de colonies de l'espèce hôte *T. unifasciatus* était plus important (Fig V-1) pour les pupes homocoloniales (condition contrôle) que pour les pupes hétérocoloniales (Khi-deux = 12.76 ; ddl = 1 ;  $P = 4.9.10^{-4}$ ). Le taux de survie des pupes homospécifiques introduites au sein de colonies de l'espèce non-hôte *T. parvulus* était également plus important pour les pupes homocoloniales qu'hétérocoloniales (Khi-deux = 8.416 ; ddl = 1 ;  $P = 7.5.10^{-3}$ ).

Le taux de survie des pupes de l'espèce parasite *M. ravouxi* a été moins important comparativement aux introductions homospécifiques homocoloniales dans les colonies de *T. unifasciatus* et de *T. parvulus* (respectivement Khi-deux = 40.46 ; ddl = 1 ;  $P = 3.2.10^{-9}$  et Khi-deux = 36.75 ; ddl = 1 ;  $P = 1.41.10^{-7}$ ).

Les autres comparaisons n'étaient pas significatives ( $P > 0.063$ ).

#### **1.4/ Discussion**

Les pupes hétérocoloniales homospécifiques introduites au sein des colonies d'espèces hôtes ou non-hôtes ont moins souvent émergé que les pupes homocoloniales réintroduites après manipulation. La fermeture coloniale reste donc efficace chez ces deux espèces, qui discriminent les pupes introduites, malgré l'insignifiance chimique relative des jeunes pupes (cf. Lenoir *et al.* 1999) qui facilite chez certaines espèces leur intégration dans une colonie (Morel *et al.* 1988; Nowbahari & Lenoir 1989; Stuart 1992). Ce premier résultat montre que ces dernières disposent d'indices chimiques caractéristiques de leur colonie présents sur leur cuticule dont se servent les ouvrières des colonies testées pour les discriminer de leur couvain homocolonial. Nos résultats ne montrent pas de différence de survie de ces pupes hétérocoloniales homospécifiques au sein des colonies des espèces hôte et non-hôte testées, malgré les différentes pressions de sélection qu'elles subissent dans les populations parasitées. Or, nous savons (cf. Chapitre IV) que les ouvrières de l'espèce hôte *T. unifasciatus* montrent une agressivité plus importante vis-à-vis des pupes étrangères que les ouvrières des colonies de l'espèce non-hôte *T. parvulus*. *T. unifasciatus* est utilisée comme hôte par plusieurs espèces de parasites esclavagistes en Europe, dont *M. ravouxi* (Buschinger 1989) et *Chalepoxenus muellerianus* (Buschinger *et al.* 1980) et subit donc des raids réguliers qui affectent le succès reproducteur des colonies dans les



populations parasitées (Foitzik & Herbers 2001; Hare & Alloway 2001; Johnson & Herbers 2006). Comme chez d'autres espèces (Blatrix & Herbers 2003 ; Brandt & Foitzik 2004), cette pression de sélection peut avoir favorisé la sélection d'un seuil de tolérance plus restrictif qui augmente la probabilité de détection d'un intrus au sein de la colonie (Reeve 1989 ; Fürst *et al.* 2011), renforçant de ce fait la défense coloniale vis à vis des parasites sociaux.

Pour autant, les pupes hétérocoloniales introduites au sein des colonies de *T. parvulus* n'ont pas plus souvent émergé. Cette contradiction avec les résultats présentés dans le chapitre précédent peut s'expliquer par le fait que les pupes hétérocoloniales homospécifiques chez *T. parvulus* aient pu, à défaut d'être agressées, être simplement laissées sans soins dans la colonie. Blatrix & Sermage (2005) ont démontré que les ouvrières de cette espèce étaient moins sensibles à l'influence de l'expérience précoce post émergence. Lors d'adoptions expérimentales de pupes *M. ravoixi* réalisées dans des tubes en présence d'ouvrières de cette espèce ou de *T. unifasciatus*, les ouvrières *T. parvulus* se montraient notamment plus agressives envers le parasite social que les ouvrières *T. unifasciatus*. Il est donc possible que les mécanismes de la reconnaissance chez cette espèce s'appuient sur un apprentissage précoce dès le stade larvaire (Isingrini *et al.* 1985), une composante génétique (Keller & Ross 1998) ou une reconnaissance par auto-référence (cf. Mateo & Johnson 2000 ; Hauber & Sherman 2001). De même, l'étude de Blatrix & Sermage (2005) a également permis de démontrer que les ouvrières de *T. parvulus* ne consacraient que peu de temps aux allo-toilettages, par comparaison aux ouvrières de *T. unifasciatus*. Dans notre étude, les pupes hétérocoloniales introduites dans les colonies de l'espèce non-hôte pourraient ne pas avoir été intégrées ou avoir été éliminées, faute de soins ou à force d'agressions.

Le taux de survie des pupes de l'espèce esclavagiste *M. ravouxi* a également été moins important que celui des pupes homocoloniales introduites au sein de colonies de l'espèce hôte *T. unifasciatus* et comparable à celui de pupes homospécifiques hétérocoloniales. En conséquence, nous pouvons exclure l'hypothèse d'une plus grande attractivité du couvain de *M. ravouxi* qui faciliterait son acceptation par les ouvrières de ses espèces hôtes. L'intégration du couvain parasite par ces dernières ne semble donc pouvoir s'effectuer que selon un processus d'« intégration chimique » (cf. Lenoir *et al.* 1999) progressif durant lequel la reine parasite et son couvain, par les léchages et les trophallaxies, sont intégrés et contribuent à la constitution de l'odeur coloniale commune (Crozier & Dix 1979).

Nos résultats pris dans leur ensemble renvoient certainement à la large distribution du genre *Temnothorax* en Europe, avec des densités pouvant atteindre dans certaines populations une dizaine de colonies au mètre carré (Foitzik *et al.* 2007). Ces espèces exploitent souvent les cavités à l'intérieur des glands ou des branches mortes au sol ou en hauteur, mais aussi les interstices entre les pierres. La réussite écologique dans l'écozone paléarctique de ces espèces est donc très importante, avec plus de 200 espèces recensées et une dominance écologique très forte (cf. Foitzik & Heinze 1998, 2000 ; Foitzik *et al.* 2007). L'opportunisme et le grand potentiel adaptatif de ces espèces, dont certaines se retrouvent depuis l'est jusqu'au sud de l'Europe, nous fait supposer qu'une importante compétition pour les niches écologiques concernées existe dans le genre *Temnothorax* (Stuart & Alloway 1982; Heinze *et al.* 1996), dont les espèces affichent une grande homogénéité morphologique et comportementale. Des invasions sporadiques entre colonies surviennent chez certaines espèces, sans doute à cause de la compétition pour les sites de nidification, qui conduisent à la fusion des colonies et à la mort de l'une des deux reines (Heinze *et al.* 1996; Foitzik & Heinze 1998, 2000). Ce parasitisme intraspécifique

n'a pas été observé chez *T. unifasciatus* et *T. parvulus* mais, chez cette dernière, il semble que les colonies puissent se fractionner au printemps (Seifert 2007). Il est possible que les fractions coloniales envahissent un nid voisin déjà occupé, mais aucune étude ne l'a confirmé à notre connaissance. Pourtant, une telle pression de sélection pourrait être à l'origine d'un seuil de tolérance plus restrictif des espèces étudiées (Reeve 1989 ; Fürst *et al.* 2011). Un tel mécanisme permettrait en effet à ces espèces de discriminer plus efficacement un individu étranger et de réduire ainsi l'impact d'éventuels intrus sur la survie et le succès reproducteur de la colonie.

Une autre hypothèse peut être avancée pour expliquer cette relative intolérance. Nous savons en effet que la tribu des Formicoxenines (sous-famille Myrmicinae) dont fait partie le genre *Temnothorax* est l'une des plus affectées par le parasitisme social, notamment par l'esclavagisme (Buschinger 1986; Hölldobler & Wilson 1990; Beibl *et al.* 2005). Si certaines espèces sont parasitées, alors que d'autres ne semblent jamais l'être, les données concernant l'organisation des raids sur les colonies sympatriques non-hôtes des parasites esclavagistes restent rares. Il est de ce fait possible que les ouvrières esclavagistes puissent diriger leurs attaques sur les colonies proches, quelle que soit l'espèce concernée. Dès lors, les espèces non-hôtes ne seraient pas non plus épargnées par la pression de sélection des espèces parasites, et verraient donc leurs mécanismes de reconnaissance tendre vers une fermeture coloniale plus restrictive.

Notre étude aura permis de confirmer la relative intolérance de certaines espèces du genre *Temnothorax*, dont la fermeture coloniale semble efficace pour discriminer les jeunes pupes homosécifiques hétérocoloniales, malgré leur relative insignifiance chimique (cf. Lenoir *et al.* 1999). Le genre *Temnothorax* appartient à la tribu des *Formicoxenini*, dont plusieurs espèces sont exploitées par des parasites sociaux et qui à elle seule compte au moins six origines évolutives différenciées de l'esclavagisme (Beibl. *et al.*

2005). Pourtant, nos résultats montrent que l'intolérance au couvain hétérocolonial ne se manifeste pas seulement chez *T. unifasciatus*, une espèce hôte du parasite esclavagiste *M. ravouxi*, mais également chez une espèce n'étant exploitée par aucun parasite social bien que sympatrique de plusieurs d'entre eux. D'autres recherches devront s'appliquer à déterminer si, chez une espèce non-hôte telle que *T. parvulus*, l'intolérance coloniale forte manifestée est la résultante d'une pression de sélection spécifique aux parasites sociaux sympatriques ou à celle, plus générale et indifférenciée, due à une compétition territoriale intra ou interspécifique.

**Chapitre VI:**  
**Discussion générale**

## 1- La « faille » de l'apprentissage

La réussite écologique des espèces animales, y compris des insectes, s'appuie entre autres sur les capacités cognitives apparues au cours de leur évolution (Dukas 2008). Certaines fourmis pourront par exemple apprendre les repères visuels qui leur permettront de s'orienter dans l'espace (Müller & Wehner 1988, 2010 ; Durier *et al.* 2003 ; Graham & Cheng 2009) alors que l'apprentissage social peut permettre à certaines espèces d'être plus efficaces dans le fourragement (Franks & Richardson 2006).

La majorité des espèces de fourmis apprennent le label chimique propre à leur colonie (Crozier & Dix 1979 ; Lenoir *et al.* 1999), qui résulte du mélange des odeurs individuelles partagées via les échanges sociaux, notamment les trophallaxies et léchages (Soroker *et al.* 1995, 2003 ; Boulay *et al.* 2000). Isingrini et coll. (1985) ont démontré que l'apprentissage de l'image de référence coloniale pouvait débiter dès le stade larvaire chez les fourmis. Le modèle de la « Gestalt » (Crozier & Dix 1979) est aujourd'hui dominant, car de nombreuses expériences ont montré que la reconnaissance coloniale chez les fourmis était basée sur la reconnaissance du label chimique porté par les membres du nid (Isingrini & Lenoir 1986 ; Lenoir *et al.* 1999). Une hypothèse différente a également émergé récemment (Guerrieri *et al.* 2009 ; Van Zweden & d'Ettorre 2010), fondée sur la réaction de fourmis spécifiquement lors de l'exposition à des odeurs d'individus non-familiers plutôt qu'à l'odeur de membres du nid (Ozaki *et al.* 2005 ; Guerrieri *et al.* 2009, voir aussi Leonhardt *et al.* 2007). L'idée sous-jacente est que, par habitude, la fourmi est désensibilisée à l'odeur de sa propre colonie (Van Zweden & d'Ettorre 2010). Cette détection permettrait la discrimination d'individus étrangers à la colonie plutôt que la reconnaissance de membres de celles-ci. Ce modèle a été appelé « U-present » (undesirable-present) (Van Zweden & d'Ettorre 2010). Cependant, ce modèle n'explique

pas comment certaines fourmis restent capables de discriminer à l'intérieur de leurs colonies les différentes castes fonctionnelles (Greene & Gordon 2003), le statut reproductif (Monnin *et al.* 2006) ou l'identité individuelle dans certains cas (d'Ettorre & Heinze 2005, Dreier *et al.* 2007), par exemple.

L'homogénéité de l'odeur coloniale est assurée par les échanges chimiques permanents entre les fourmis (Lenoir *et al.* 1999, 2001 ; Boulay *et al.* 2000). L'odeur coloniale n'est en effet pas figée, mais dérive constamment en fonction de différents facteurs comme la composition démographique de la colonie, l'alimentation et les conditions abiotiques (Dahbi et Lenoir 1998, Liu *et al.* 1998, Boulay *et al.* 2000, Liang & Silverman 2000, Liu *et al.* 2001). Cette dynamique de l'odeur coloniale amène la nécessité pour les individus d'actualiser en retour leur image de référence coloniale afin d'optimiser leurs comportements de reconnaissance coloniale et de limiter les deux types d'erreurs potentielles: l'acceptation d'individus étrangers non-désirables et le rejet de membres de la colonie (cf. Reeve 1989).

Les parasites sociaux dépendent de leurs espèces hôtes pour se développer et accomplir leur cycle de vie (Hölldobler & Wilson 1990). Les espèces esclavagistes en particulier s'appuient sur leurs ouvrières esclaves pour assurer les tâches quotidiennes de la vie coloniale (Buschinger 1986). Ces dernières émergent au sein de la colonie parasitée après avoir été prélevées de leur colonie d'origine et s'imprègnent de l'odeur coloniale. Elles développent un répertoire comportemental normal, vaquant aux tâches collectives au profit de l'espèce parasite. On peut donc en conclure que les espèces esclavagistes ont mis à profit les mécanismes d'homogénéisation et d'apprentissage de la signature coloniale pour détourner les comportements altruistes des espèces hôtes. Les parasites sociaux vont en ce sens exploiter la « faille » que constituent l'apprentissage et la réactualisation

permanente de l'image de référence coloniale pour confondre les ouvrières d'une espèce hôte, pour lesquelles les ouvrières parasites seront considérées comme des sœurs de nid.

De ce point de vue, le parasitisme social chez les fourmis renvoie à l'équilibre entre coûts et bénéfices de la fermeture coloniale chez les insectes sociaux. Nous avons déjà mentionné en quoi la flexibilité de l'image de référence utilisée pour la reconnaissance coloniale était nécessaire pour garantir l'intégrité et la cohésion des sociétés d'insectes sociaux dans le temps. Néanmoins, en détournant les capacités d'apprentissage à leur bénéfice, les parasites sociaux, et les esclavagistes en particulier, exercent une pression de contre-sélection importante sur les mécanismes de reconnaissance de leurs espèces hôtes, chez qui le développement de mécanismes permettant la discrimination et l'exclusion du parasite devrait être favorisé.

## **2- L'impact de l'esclavagisme sur les mécanismes de reconnaissance des espèces sympatriques de *M. ravoixi***

Nous avons ainsi démontré (Chapitre IV) que l'espèce hôte *T. unifasciatus* avait un seuil de tolérance colonial plus restrictif que celui d'une espèce n'étant exploitée par aucun parasite. Ce seuil plus bas peut être compris comme une moindre tolérance au degré de différence perçue entre l'image de référence coloniale d'un individu donné et les labels coloniaux auxquels il est confronté, ce qui entraînera un niveau d'agression plus élevé vis-à-vis des individus rencontrés (Reeve 1989 ; Fürst *et al.* 2011). Ce faisant, le pourcentage d'erreurs d'acceptation, c'est-à-dire de tolérance de congénères hétérocoloniaux, diminue, permettant aux ouvrières de l'espèce hôte de discriminer plus efficacement les étrangers à la colonie, dont les parasites. Néanmoins, la fréquence d'erreurs de rejet à l'encontre des homocoloniaux augmente également, ce que montrent nos résultats (Chapitre IV). En effet,



les ouvrières d'espèces hôtes ont également montré une agressivité plus importante vis-à-vis de leurs propres pupes que les ouvrières d'une espèce non-hôte n'étant pas non plus sujette au parasitisme intra-espécifique. Il convient bien entendu de distinguer la discrimination des pupes de celles des adultes, mais les pupes portent également le label colonial. Néanmoins, les quantités d'hydrocarbures cuticulaires présents restent moins importants (Lenoir *et al.* 1999), quoique suffisant pour que les pupes hétérocoloniales puissent être discriminées, comme nos résultats le confirment (Chapitre IV et V).

Nos résultats (Chapitre III) n'ont donc pas permis dans un premier temps de démontrer qu'il existait un modèle de reconnaissance spécifique du parasite chez les espèces hôtes du parasite esclavagiste *M. ravouxi*. Cette agressivité semble être générale et non spécifique, puisque le taux d'agressivité des espèces parasitées est plus élevé même lors de tests intracoloniaux, comparativement à celui d'espèces non-hôtes. Pourtant, la pondération de nos résultats par la distance chimique entre les colonies des différentes espèces étudiées (Chapitre III) nous a permis de mettre en évidence une réponse « qualitative » au parasite *M. ravouxi*, non seulement chez une espèce hôte (*T. rabaudi*) mais aussi chez une espèce non-hôte sympatrique de ce dernier (*T. nylanderi*).

*T. rabaudi* est l'une des espèces hôtes exploitées par *M. ravouxi* (Buschinger 1989) et était l'hôte principal dans la population que nous avons étudié (Anduze). Il est donc probable que cette espèce subisse localement une pression de sélection importante favorisant le développement de mécanismes de reconnaissance du parasite.

Nos résultats ont montré que *T. nylanderi* se montrait aussi plus agressive avec une espèce parasite qu'avec une autre espèce non parasite. De plus, les ouvrières *T. nylanderi* issues d'un site où le parasite *M. ravouxi* est présent ont éjecté plus fréquemment les ouvrières parasites introduites que les espèces hôtes du même site. Ces éjections pourraient

être considérées comme un comportement ritualisé (Maynard-Smith & Price 1973 ; Maynard-Smith 1979 ; Breed & Moore 2011) qui aurait émergé du fait des rencontres récurrentes avec les ouvrières *scouts* de *M. ravouxi*. Ce paradoxe soulève d'intéressantes interrogations concernant les modalités de reconnaissance du parasite et l'histoire évolutive commune des deux espèces. Nos travaux permettent de poser l'hypothèse qu'une interaction entre *M. ravouxi* et *T. nylanderi* aurait favorisé chez certaines populations le développement de mécanismes de reconnaissance spécifiques du parasite. Ces mécanismes pourraient s'appuyer sur un modèle de reconnaissance basé sur les propriétés qualitatives du profil chimique du parasite puisque notre normalisation des données par la distance chimique globale entre colonies a permis d'exclure l'hypothèse d'une plus grande distance chimique qui aurait pu justifier la réponse plus importante vis-à-vis du parasite esclavagiste des espèces concernées. Les caractéristiques chimiques spécifiques du parasite pourraient être apprises par les ouvrières de *T. nylanderi* à l'occasion des expositions avec les gynes ou les ouvrières esclavagistes, et/ou relever d'une sensibilité plus importante à une ou plusieurs molécules spécifiques du parasite qui, contrastant avec l'image de référence, déclencherait le rejet ritualisé du parasite. Cette hypothèse paraît cependant peu probable. Nous n'avons notamment pas retrouvé une fréquence plus importante d'éjections chez les colonies non-hôtes issues d'un site non parasité. Il semble donc peu vraisemblable que les résultats observés soient le produit d'une interaction ancienne. *A contrario*, la présence du parasite a pu représenter une importante pression de sélection sur les populations vivant en sympatrie et partageant une même niche écologique, susceptibles d'être attaquées lors de raids. Dans la nature, les ouvrières esclavagistes éclaireuses vont chercher une colonie hôte voisine de leur colonie, avant d'initier un raid qui leur permettra d'envahir la colonie et de lui voler son couvain. Il est probable que ces ouvrières *scouts*, au cours de leurs recherches, prospectent des colonies n'appartenant pas à l'espèce hôte. Dans ces situations, ni l'une ni

l'autre espèce n'a d'intérêt particulier à s'engager dans un conflit coûteux (Maynard-Smith 1979) et pourra donc développer un comportement ritualisé d'évitement de la confrontation mutuellement profitable.

De son côté, l'hôte *T. rabaudi* n'a pas plus fréquemment éjecté le parasite social que les intrus homospécifiques hétérocoloniaux ou hétérosécificiques non-parasites. Ce résultat n'est au premier abord pas étonnant, puisque les ouvrières éclaireuses parasites représentent un danger pour les colonies hôtes, du fait des raids qu'elles peuvent ensuite initier à leur rencontre. Aussi, le développement de comportements ritualisés apparaît peu probable. Au contraire, la meilleure des stratégies consisterait en l'élimination de l'ouvrière esclavagiste, ce que tendent à confirmer de nombreuses études sur l'évolution des stratégies défensives des espèces hôtes (Alloway 1990; Mori *et al.* 1991; Foitzik & Herbers 2001a; Foitzik *et al.* 2001 ; Herbers & Foitzik 2002). La normalisation de nos résultats agonistiques par la distance chimique entre les colonies testées semble mettre en évidence un tel comportement. Cette procédure s'appuie sur l'hypothèse qu'une reconnaissance spécifique d'un parasite social pourra être basée sur la détection de molécules spécifiques à ce dernier (détection qualitative), et pas seulement sur une différence quantitative entre l'image de référence de l'espèce hôte et le label colonial du parasite. Néanmoins, en l'état actuel des connaissances sur les différentes modalités de la reconnaissance sociale chez les fourmis, et bien que le rôle prépondérant des hydrocarbures cuticulaires soit attesté par de nombreuses études (Lahav *et al.* 1999 ; Lenoir *et al.* 1999 ; Akino *et al.* 2004 ; Howard & Blomquist 2005), les processus neurologiques permettant de percevoir et classer des bouquets d'odeurs complexes lors des processus de décision sociale en vue d'établir des règles de décision restent mal connus chez les fourmis (Brandstaetter *et al.* 2011). Toutes les molécules ne semblent pas déclencher de comportements agonistiques. Ainsi, Guerrieri *et coll.* (2009) ont pu

démontrer chez *Camponotus herculeanus* que les hydrocarbures portant deux groupements méthyl entraînaient une réaction de rejet, alors que des molécules d'hydrocarbures linéaires ou avec seulement un groupement méthyl ne déclenchaient pas cette réaction. Ces résultats nous renseignent sur le type de molécules (branchées) pouvant être impliquées dans la discrimination des individus étrangers à la colonie, bien que le traitement de ces informations d'un point de vue sensoriel reste à éclaircir, qu'il se situe au niveau périphérique ou au niveau des centres nerveux supérieurs tels que les lobes antennaires ou les corps pédonculés (Ozaki *et al.* 2005 ; Leonhardt *et al.* 2007 ; voir aussi Galizia & Rössler 2010 et Brandstaetter *et al.* 2011). Chez des espèces sympatriques d'un parasite esclavagiste, la présence d'une ou plusieurs molécules spécifiques pourrait déclencher des comportements agonistiques. Or, les différences observées entre données agonistiques brutes et données corrigées par la distance chimique appuient cette idée. Elles devront être appuyées par d'autres études associant écologie chimique, comportement et neurophysiologie pour tester la validité d'une telle approche.

### **3- La reconnaissance sociale chez *M. ravouxi* : un modèle original ?**

Nous avons également étudié la reconnaissance coloniale chez l'espèce parasite *M. ravouxi* en proposant à des ouvrières de cette espèce différents stimuli sociaux. Les fourmis vivant au sein d'une même colonie partagent une odeur commune (Franks *et al.* 1990; Yamaoka 1990; Kaib *et al.* 1993; Bonavita-Cougourdan *et al.* 1996, 1997; d'Ettorre *et al.* 2002; Brandt *et al.* 2005; revu par Lenoir *et al.* 2001). Néanmoins, au sein de colonies mixtes, les différentes espèces conservent des profils chimiques différenciés (Errard *et al.* 2006a) démontrant que le processus d'homogénéisation des odeurs individuelles des membres de la colonie n'est pas totalement efficace. Or, les ouvrières

*M. ravouxi* ont affiché à l'occasion de nos tests une préférence affiliative pour leurs sœurs par rapport à leurs esclaves et ont été moins agressives vis-à-vis de conspécifiques que d'ouvrières esclaves appartenant à des colonies parasitées étrangères (cf. Chapitre II). Le seuil de reconnaissance chez les insectes sociaux est susceptible de devenir plus permissif dans un contexte de colonies mixtes (Reeve 1989 ; Errard 1994 ; Errard *et al.* 2006a), tel que celui des colonies parasites. L'image de référence plus large des ouvrières parasites devrait conduire à un seuil de tolérance moins restrictif pour limiter les risques d'exclusion de membres du nid (Reeve 1989 ; cf. Fig VI-1). Ce déplacement du seuil de tolérance pourrait expliquer le fait que l'on n'ait pas observé une plus grande agressivité vis-à-vis d'ouvrières parasites hétérocoloniales comparativement à des ouvrières parasites homocoloniales chez *M. ravouxi*. Pourtant, un « élargissement » de l'image de référence ne permet pas d'expliquer la plus grande durée de contact avec ces dernières, comparativement aux ouvrières esclaves du même nid, ce que nous considérons comme un comportement affiliatif. Une hypothèse différente doit donc être proposée. Nous savons que l'homogénéisation du mélange d'odeurs individuelles au sein des colonies est imparfait (Errard *et al.* 2006a ; Nehring *et al.* 2011). Aussi, l'image de référence du parasite social peut s'être constituée à partir d'une majorité de composés spécifiques de sa propre espèce. Lorsque l'ouvrière esclavagiste est confrontée aux deux types de sœurs de nid (son espèce et l'espèce hôte), le contraste entre l'image de référence et les labels portés par les espèces en présence conduit les ouvrières *M. ravouxi* à montrer en moyenne moins de comportements affiliatifs vis-à-vis de leurs esclaves que de leurs sœurs, les premières présentant plus de différences lorsque le label qu'elles portent est comparé à l'image de référence des ouvrières parasites. Cette hypothèse pourrait découler d'un mécanisme simple : *M. ravouxi* accorderait un poids relatif plus important aux indices de son espèce du fait d'un traitement différentiel de ces indices au niveau sensoriel, par exemple au

niveau des sensilles ou dans les glomérules du lobe antennaire (Hansson *et al.* 1999 ; Ozaki *et al.* 2005 ; Brandstaetter *et al.* 2011). Nous savons enfin que l'odeur des individus d'un même nid varie en fonction de leur caste fonctionnelle (Wagner *et al.* 1998, 2000; Greene & Gordon 2003; Martin & Drijfhout 2009). Or, à l'intérieur d'une colonie parasitée, les tâches des ouvrières des différentes espèces diffèrent considérablement. Les esclaves sont occupées à entretenir le couvain et à fourrager, tandis que les ouvrières esclavagistes réalisent des raids quelques semaines dans l'année. La discrimination des différentes espèces au sein de la colonie mixte pourrait permettre d'optimiser les réseaux d'interaction sociale.

Les ouvrières esclavagistes se sont montrées plus agressives lorsqu'elles étaient confrontées à des ouvrières d'espèces hôte familière ou non familière dans des tests de choix en opposition avec des ouvrières d'une espèce non-hôte. L'interaction hôte-parasite favorise le développement d'adaptations locales qui permettent aux parasites sociaux de continuer à exploiter efficacement leurs espèces hôtes (Foitzik *et al.* 2001, 2003; Hare & Alloway 2001; Blatrix & Herbers 2003; Brandt & Foitzik 2004; Fischer & Foitzik 2004; Brandt *et al.* 2005b; Fischer-Blass *et al.* 2006). Il est en effet crucial pour ces espèces de reconnaître leur(s) espèce(s) hôtes, notamment lors de la période des raids, afin de maximiser les profits de pillages. Cette reconnaissance minimise les erreurs dans le choix des colonies cibles et évite aux ouvrières parasites (1) d'affronter les défenses d'une espèce contre laquelle elle ne dispose pas forcément d'adaptations particulières et (2) de prélever du couvain qui produira des ouvrières incapables de répondre aux critères de soins et de nourrissage des larves et des ouvrières parasites. L'espèce esclavagiste *M. ravoixi* parasite plusieurs espèces hôtes (Buschinger 1989) et semble avoir une histoire évolutive propre assez ancienne (Beibl *et al.* 2005). Ses espèces hôtes sont en revanche fortement apparentées (cf. Chapitre I) et il est donc probable que leur ancêtre commun ait également

été parasité par *M. ravouxi* ou son ancêtre (Emery 1909; Baur *et al.* 1995; Parker & Rissing 2002; Sumner *et al.* 2004). Schumann & Buschinger (1995) ont pu démontrer que les ouvrières de l'espèce esclavagiste *Chalepoxenus muellerianus* s'appuyaient en partie sur une préférence innée pour choisir les colonies de leur espèce hôte. Nous formulons donc l'hypothèse que cette reconnaissance des espèces hôtes chez *M. ravouxi* s'effectue *via* la détection d'indices chimiques propres à ces espèces proches phylogénétiquement pour reconnaître ses espèces « hôtes » (cf. Fig. I-1).

*M. ravouxi* pourrait ici s'appuyer sur des récepteurs olfactifs spécifiques à certains indices chimiques partagés par les espèces faisant partie du clade de ses espèces hôtes, ou via un traitement différentiel de certaines molécules au niveau sensoriel (Hansson *et al.* 1999 ; Ozaki *et al.* 2005) qui déclencherait l'expression de comportements caractéristiques du parasitisme social.

L'espèce esclavagiste *M. ravouxi* utiliserait donc un modèle de reconnaissance sociale original, caractérisé par un traitement différentiel des stimuli sociaux selon leur nature et que nous pouvons modéliser en supposant que les ouvrières parasites de *M. ravouxi* utiliseraient plusieurs *templates* différents. La première image de référence, constituée de manière classique à partir du mélange des odeurs coloniales, permettrait aux esclavagistes de discriminer les membres de la colonie des étrangers à cette dernière, en établissant un seuil de tolérance plus ou moins élevé selon la composition théoriquement plus riche qualitativement et quantitativement du label colonial de la société mixte (Errard *et al.* 1994, 2006a). Ce seuil de reconnaissance permettrait donc la reconnaissance des ouvrières parasites et esclaves membres de la colonie. Mais, nos résultats ayant montré que les ouvrières parasites hétérocoloniales n'étaient pas discriminées des conspécifiques homocoloniales (Chapitre III), nous avons posé l'hypothèse d'un poids relatif plus important des molécules spécifiques du parasite dans le *template* de *M. ravouxi* selon les

modalités évoqués ci-dessus. Ceci pourrait conduire indirectement à une reconnaissance de leur espèce, qui expliquerait à la fois la plus grande quantité de comportements affiliatifs exprimés envers les ouvrières parasites sœurs qu'envers les ouvrières esclaves homocoloniales, et la très forte tolérance aux ouvrières parasites hétérocoloniales. Au sens large, ces résultats pourraient donc correspondre à un « *template* spécifique » compris dans le « *template* colonial ». La plus grande agressivité montrée à l'égard d'ouvrières de deux espèces hôtes différentes (familiale ou non) par rapport à une espèce non-hôte nous amène à formuler également l'hypothèse d'une reconnaissance de molécules spécifiques des espèces hôtes du parasite social (discrimination qualitative *a priori*, même si les règles de décision des fourmis restent méconnues et qu'une discrimination sur la base d'une différence quantitative ne peut pas être exclue). Cette reconnaissance déclencherait les comportements spécifiques de l'esclavagisme (raids, pillage). Un tel mécanisme pourrait s'expliquer par une sensibilité sensorielle et/ou cognitive innée et spécifique à un ou plusieurs indices chimiques portés par les espèces hôtes, qui améliorerait l'efficacité des ouvrières parasites dans la reconnaissance de ces dernières lors des raids, phase cruciale de la vie de la colonie parasite. Nous savons en effet que les différentes espèces hôtes de *M. ravouxi* appartiennent à un même clade et partagent donc un apparentement phylogénétique relativement important (Chapitre I). Dans ce cadre, il est cohérent de supposer que ces espèces partagent une plus grande similarité (tant qualitative que quantitative) de leurs signatures chimiques respectives. L'espèce parasite *M. ravouxi* pourrait alors s'appuyer sur les similitudes de certains indices chimiques portés spécifiquement par ces espèces pour constituer une sorte de « *template* de référence hôtes » et discriminer les hôtes potentiels familiaux ou non-familiaux des espèces non-hôtes.

Nous avons aussi tenté d'expliquer nos résultats par un « modèle de reconnaissance à seuils multiples » (homocolonial et hôte) en nous appuyant sur le modèle de



reconnaissance colonial de Reeve (1989). Nous avons ordonné les courbes de différence des labels rencontrés selon leur nature. Nous avons considéré, du fait de l'absence de différence d'agressivité manifestée à l'égard des ouvrières conspécifiques homo ou hétérocoloniales et de la plus grande durée de contacts sans antenation exploratoire des ouvrières conspécifiques hétérocoloniales par rapport aux ouvrières esclaves hétérocoloniales, que les labels individuels les plus proches de l'image de référence des ouvrières esclavagistes *M. ravouxi* était ceux d'autres ouvrières parasites. Néanmoins, les ouvrières esclaves homocoloniales n'étaient pas plus agressées que les ouvrières parasites homo et hétérocoloniales, ce qui montre bien que les profils individuels des esclaves homocoloniaux se situent sous le seuil de reconnaissance coloniale de *M. ravouxi*. Nos expériences n'ont pas permis de montrer directement de différences de comportement des ouvrières esclavagistes entre les espèces hôtes familières et non familières. Nous avons néanmoins considéré que, selon les modalités d'échange des odeurs individuelles au sein de la colonie (Crozier & Dix 1979 ; Meskali *et al.* 1995 ; Soroker *et al.* 1995 ; Lahav *et al.* 1999 ; Lenoir *et al.* 1999), les labels individuels des ouvrières hétérocoloniales de l'espèce hôte devaient être perçus comme moins différents du *template* de reconnaissance coloniale que ceux des ouvrières hétérocoloniales de l'espèce hôte non familière. Enfin, les profils des espèces non-hôtes, du fait de leur plus grande divergence qualitative et quantitative avec le *template* de référence des ouvrières parasites, ont été placés comme manifestant le plus grand degré de différence moyen sur notre modèle théorique. Cette hypothèse d'un « modèle de reconnaissance à seuils multiples » (cf. Fig VI-1) est presque similaire à celle d'un « modèle de reconnaissance à double *templates* » développée précédemment. Mais ici une seule image de référence globale, qui intègre à la fois les odeurs de l'espèce propre et de l'espèce hôte, permet d'expliquer l'apparition de comportements différenciés envers les ouvrières conspécifiques, les ouvrières esclaves, les hôtes potentiels et les non-hôtes. Ces

différentes odeurs permettraient d'établir deux seuils de reconnaissance différents. Le premier, correspondant au seuil classique de tolérance coloniale, s'appuierait sur la préférence innée pour certaines molécules caractéristiques de l'espèce propre de *M. ravouxi* et sur l'intégration de molécules issues de l'espèce hôte dans l'image de référence pour éviter les erreurs de rejet des ouvrières esclaves. Les ouvrières parasites seraient également exposées à des odeurs spécifiques de l'espèce hôte, qui seraient utilisés pour établir un second seuil : le seuil de reconnaissance des espèces hôtes. Cette hypothèse pourrait reposer sur des processus de généralisation à partir des indices chimiques portés par les ouvrières esclaves et perçus par les ouvrières parasites.

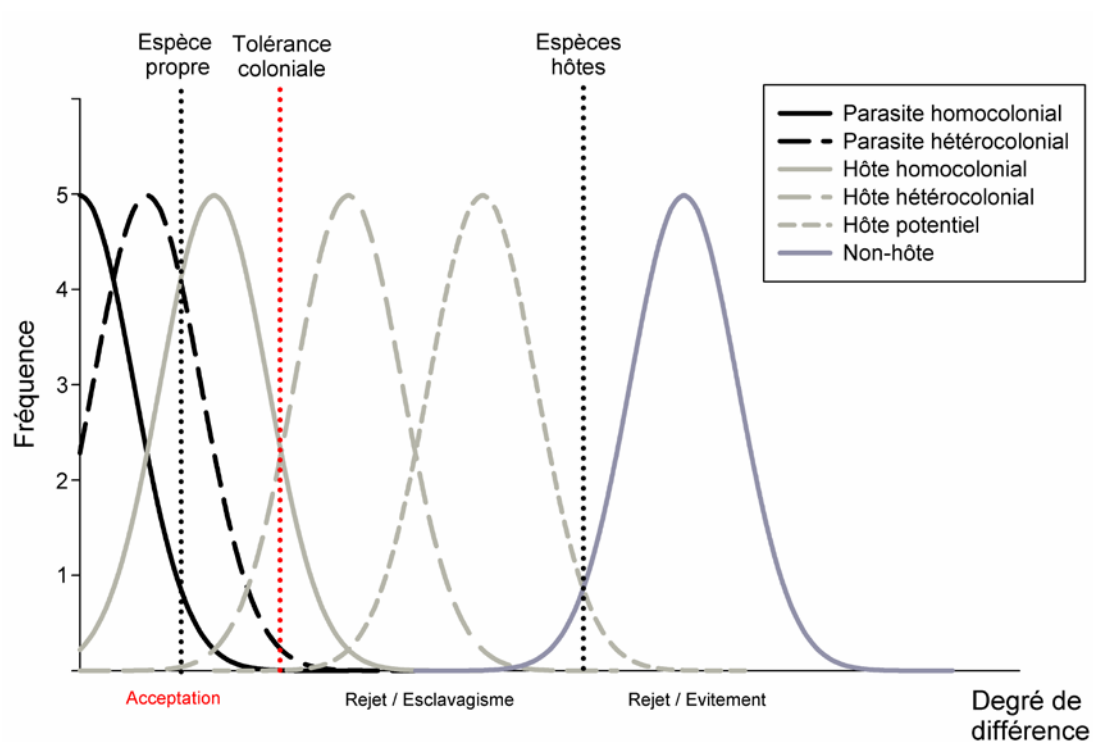


Fig VI-1. Modèle théorique de « reconnaissance à seuils multiples » du parasite esclavagiste *M. ravouxi*. Les courbes représentent la fréquence de distributions des différents types de labels chimiques rencontrés en fonction de leur degré de différence avec l'image de référence du parasite social. Les traits en pointillés représentent les différents

seuils de reconnaissance de ce template. Le seuil et la zone correspondant à la zone de tolérance coloniale tels que définis par Reeve (1989) sont indiqués en rouge.

#### **4- La communauté d'espèces**

Dans nos études, nous avons tâché de prendre en considération l'importance du contexte des interactions au sein de la communauté d'espèces à laquelle appartient le parasite *M. ravouxi*. Les invasions et les raids des espèces esclavagistes infligent des coûts considérables aux espèces hôtes (Foitzik & Herbers 2001; Hare & Alloway 2001; Johnson & Herbers 2006), mais très peu de données sont disponibles concernant le coût infligé aux colonies des espèces sympatriques non-hôtes. Quelques rares auteurs ont étudié le choix des esclavagistes confrontés à des espèces hôtes et non-hôtes. Chez *Harpagoxenus sublaevis*, le choix de l'espèce attaquée -l'espèce hôte principale- semble en partie lié à des préférences innées qui minimisent les risques d'erreur d'initiation de raids sur des espèces non-hôtes lors des explorations des colonies alentours (Schumann & Buschinger 1994, 1995).

L'une de nos études a permis de mettre en évidence un comportement de défense ritualisé chez une espèce non-hôte sympatrique de *M. ravouxi*. Ainsi, les ouvrières *T. nylanderi* au sein de colonies provenant d'une population où le parasite est présent ont éjecté sans dommages les ouvrières parasites introduites plus souvent que les espèces hôtes. Les espèces esclavagistes sont souvent tributaires d'une ou de quelques espèces hôtes, qui disposent certainement de caractéristiques écologiques et comportementales qui facilitent leur exploitation par des espèces esclavagistes a priori apparentées sur le plan phylogénétique (Emery 1909, Baur *et al.* 1995 ; Lowe *et al.* 2002 ; Savolainen & Vespäläinen 2003 ; Beibl *et al.* 2005), par exemple en apportant une alimentation et des

soins adéquats au couvain parasite. Aussi, les pressions de sélection que subissent les espèces esclavagistes pour favoriser la discrimination et le choix de l'espèce hôte appropriée peuvent-elles conduire au développement de mécanismes sensoriels et/ou cognitifs induisant une préférence innée pour l'espèce hôte (Schumann & Buschinger 1995), comme nous l'avons déjà discuté au sujet du modèle de reconnaissance social de l'esclavagiste *M. ravouxi*. Néanmoins, un parasite opportuniste tel que *M. ravouxi* reste capable d'exploiter différentes espèces hôtes (Buschinger 1989 ; Seifert 2007). Les ouvrières scoutes *M. ravouxi* explorent certainement des colonies voisines d'espèces non-hôtes durant la période des raids. Ce faisant, du fait de l'intensité et de la fréquence de ces derniers durant la saison (Foitzik & Herbers 2001a), l'apparition de comportements ritualisés au sein de ces communautés d'espèces entre l'espèce parasite et une ou plusieurs espèces non-hôtes a pu être favorisé. Or, chez *T. nylanderi*, le comportement d'éjection ne se manifeste que chez les colonies issues d'un site où le parasite est présent, mais pas au sein d'un site où il est absent. Nous pouvons donc émettre deux hypothèses : ce comportement peut-être soit la conséquence d'une adaptation locale (Foitzik *et al.* 2001 ; Brandt & Foitzik 2004 ; d'Ettorre *et al.* 2004 ; Scharf *et al.* 2011), soit le résultat d'un effet de l'expérience du fait des rencontres fréquentes des colonies avec les intruses parasites (cf. Knaden & Wehner 2003 ; Sanada-Morimura *et al.* 2003).

Cet exemple souligne l'importance de prendre en compte les différentes espèces sympatriques d'un parasite esclavagiste, y compris les espèces non-hôtes, pour correctement estimer l'impact du parasitisme social, notamment sur l'évolution de leurs capacités de discrimination sociale.

## 5- L'évolution du parasitisme social et de la virulence parasitaire

Ce contexte de communautés d'espèces est également fondamental pour bien comprendre l'évolution des stratégies esclavagistes chez les insectes sociaux, notamment chez les espèces de la tribu des *formicoxenini*. En effet, ces espèces sont largement répandues dans les milieux tempérés et affichent une certaine homogénéité écologique et comportementale. Cette disponibilité d'espèces hôtes potentielles, peut permettre de comparer les différents types d'interactions entre parasites et hôtes(cf. Hare & Alloway 2001 ; Brandt & Foitzik 2004), et donc de mieux appréhender l'évolution de la « virulence parasitaire ».

La virulence parasitaire est classiquement définie comme l'impact d'un parasite sur la survie de son ou de ses hôte(s). Plus un parasite sera virulent et plus la durée de vie d'un hôte sera réduite. Les modèles de virulence parasitaire, concernant classiquement les pathogènes (Frank 1994a, 1994b, 1996 ; Gandon & Michalakis 2000), peuvent être utilisés avec précaution pour proposer des prédictions concernant l'évolution du parasitisme social. De fait, tout comme pour les pathogènes, les parasites sociaux sont dépendants de leurs hôtes pour se développer. Les espèces esclavagistes entreprennent ainsi chroniquement des raids qui permettront de renouveler le stock d'esclaves aux dépens des colonies voisines de l'espèce hôte, afin d'assurer la survie de la colonie parasite. Ces raids ont des conséquences importantes pour les colonies voisines (Foitzik & Herbers 2001; Hare & Alloway 2001; Johnson & Herbers 2006), qui peuvent être détruites à l'issue de ces attaques. Une « virulence » trop importante des espèces esclavagistes -c'est-à-dire l'impact des colonies parasites sur la survie des colonies de l'espèce hôte dans la population concernée- peut donc réduire la démographie des populations de l'espèce hôte (Hare & Alloway 2001) et en conséquence limiter les capacités de dissémination des

sexués esclavagistes du fait du plus faible nombre de colonies de l'espèce hôte disponibles, ce qui aura pour effet de réduire le succès reproducteur des colonies parasites.

Or, les espèces esclavagistes peuvent être opportunistes ou spécialisées dans l'exploitation d'une espèce hôte en particulier. Le genre *Myrmoxenus* fournit en ce sens d'intéressants exemples, depuis l'opportuniste *M. ravouxi* (Buschinger 1989 ; Seifert 2007) jusqu'à l'esclavagiste « dégénérée » *M. kraussei* exploitant une seule espèce hôte : *Temnothorax recedens* (Buschinger & Winter 1983). Chez *M. kraussei*, l'essentiel des capacités reproductrices des reines est dévolu à la production de sexués. Les ouvrières sont peu nombreuses et « dégénérées », n'entreprenant que très rarement des raids esclavagistes (Buschinger 1989 ; Buschinger & Winter 1983). Au contraire, *M. ravouxi* réalise de nombreux raids à la fin du printemps et pille les colonies voisines (Buschinger 1989 ; Buschinger & Winter 1983). Le fait que l'une de ces deux espèces soit spécialisée dans l'exploitation d'une espèce hôte alors que l'autre est opportuniste nous a semblé intéressant, en regard de ces différences de stratégies comportementales. A ce titre, il est intéressant de noter que les ouvrières de cette espèce peuvent entreprendre des raids sous des conditions expérimentales appropriées (Buschinger & Winter 1993), mais ne le font que peu en milieu naturel, certainement du fait d'un seuil de déclenchement des comportements de raids plus restrictif, notamment à cause du faible nombre d'ouvrières parasites. Il semble donc que cette espèce était autrefois un parasite esclavagiste réalisant des raids réguliers, mais la dépendance à une seule espèce hôte lié à des stratégies de dispersion à courte distance a pu favoriser la disparition des raids, par exemple dans le cadre d'une importante compétition entre espèces parasites pour une espèce hôte donnée (*M. kraussei* et *Chalepoxenus muellerianus* parasitent toutes deux *Temnothorax recedens*) ou pour circonvier à un taux de mortalité important des sexués lors des vols nuptiaux. En effet, la réduction des raids favorise la survie des colonies voisines, qui sont autant de

colonies hôtes potentielles pour les fondations à venir. Qui plus est, alors que chez de nombreuses espèces des genres *Myrmoxenus* et *Temnothorax* le couvain subit une diapause hivernale et émergera l'année suivante celle de sa ponte, le couvain de sexués de *M. kraussei* se développe rapidement et émerge l'année où il est pondu (Buschinger 1989). De plus, les sexués se reproduisent à l'intérieur du nid, dans lequel les gynes restent pendant tout l'hiver avant de se disperser au printemps. Cette stratégie peut sembler efficace pour coloniser plus efficacement les colonies alentours. En effet, nous savons que les espèces parasites sont soumises à d'importantes pressions de sélection pour reconnaître leur espèce hôte. Si l'on considère l'apparemment plus probable des colonies voisines d'une espèce donnée au sein d'une population, on peut supposer qu'elles partagent une partie des indices chimiques de leurs labels coloniaux respectifs. Aussi, les gynes parasites pourront être plus familières de ces indices et porter elles-mêmes une partie d'entre eux sur leur cuticule, ce qui leur permettra respectivement de mieux discriminer les colonies de l'espèce hôte et de profiter d'un camouflage plus efficace pour tromper la fermeture coloniale (Buschinger 1989) dont elles partagent le même environnement (cf. Le Moli & Mori 1990 ; Mori *et al.* 1992 ; Liang & Silverman 2000 ; Silverman & Liang 2001 ; Richard *et al.* 2004 et Katzav-Gozansky *et al.* 2004 ; Bos *et al.* 2011).

Quoi qu'il en soit, ce mode de fondation à faible distance profite en effet de l'absence de raids entrepris sur les colonies voisines en permettant aux gynes parasites de trouver des colonies hôtes rapidement au printemps. *A contrario*, les ouvrières *M. ravouxi* entreprennent des raids durant plusieurs semaines et dispersent via un vol nuptial dès la fin de l'été (Buschinger 1989). En fait, on peut supposer que cette espèce ne subit que peu de pression pour abaisser sa virulence du fait de son opportunisme et de sa faculté à disperser plus loin. Buschinger (1990) a défendu une origine indépendante des différentes formes de parasitisme social et a remis en question le modèle de Wilson (1971) qui proposait

un chemin évolutif du parasitisme social progressif depuis les différentes formes connues (xénobiose, parasitisme temporaire ou esclavagiste) jusqu'à l'inquilinisme, forme permanente et plus complexe. Nous pensons également que les esclavagistes spécialisés peuvent dans certains cas évoluer vers un stade moins virulent du parasitisme social où la reine hôte n'est pas tuée et l'apport d'ouvrières esclaves constant. Ces caractéristiques sont celles de l'inquilinisme (Buschinger 1990 ; Holldöbler & Wilson 1990). Aussi, les reines parasites pourront consacrer l'essentiel de leur reproduction aux sexués, les ouvrières parasites ne remplissant plus de rôle fonctionnel pour la colonie et la force de travail « esclave » constamment renouvelée participant activement au succès reproducteur de la colonie parasite. Nous posons donc l'hypothèse que ce sont chez les espèces esclavagistes dégénérées connues, tels que *Myrmoxenus krausseii* (Buschinger & Winter 1983), *Myrmoxenus corsica* (Buschinger & Winter 1985) ou *Chalepoxenus brunneus* (Buschinger *et al.* 1989 ; Buschinger 1990), que la conservation de la reine hôte est la plus susceptible d'être sélectionnée au cours de l'évolution, conduisant ces espèces au stade de l'inquilinisme. Au contraire, les espèces opportunistes ne subiront pas de pression de sélection dans le sens d'une réduction de leur virulence parasitaire, du fait de leur capacité à changer d'espèce hôte, en investissant par exemple de nouvelles populations d'espèces différentes, limitant de ce fait le contrecoup de la réduction de la démographie des populations hôtes sur le succès reproducteur des sociétés parasites.

Les études entreprises durant cette thèse ont apporté des éléments confirmant que les mécanismes de reconnaissance coloniale pouvaient évoluer sous la pression de l'esclavagisme social. Aussi, si une population parasitée d'une espèce hôte développe un seuil de reconnaissance colonial plus restrictif qui réduit la réussite des stratégies parasites, *M. ravouxi* pourra progressivement s'adapter localement en changeant d'espèce hôte plutôt qu'en poursuivant la course à l'armement évolutif (Van Valen 1973). Dès lors, les défenses



de l'ancienne espèce hôte s'abaisseront de nouveau du fait de la faible pression de parasitisme subie et d'éventuels désavantages à maintenir un seuil de tolérance bas qui entraîne des erreurs de reconnaissance et le rejet d'individus appartenant à la colonie (Reeve 1989). Nous pensons donc que d'autres études devront être consacrées à la comparaison des relations entre différentes espèces parasites et leurs hôtes respectifs pour déterminer si l'opportunisme ou la spécificité des interactions permettent de prédire l'évolution de la virulence parasitaire chez les espèces esclavagistes. Hare et Alloway (2001) ont pu démontrer que la virulence des parasites esclavagistes sur leurs populations hôtes pouvait varier d'une espèce à une autre. En mettant ces résultats en rapport avec l'abondance des parasites, les auteurs conclurent que les parasites esclavagistes tendent à minimiser leur impact sur les populations hôtes dans le temps, qualifiant de « prudents » ces parasites sociaux plus avancés dans leur relation avec les populations de leur(s) espèce(s) hôte(s). Des études complémentaires sur des parasites opportunistes pourront permettre de tester cette hypothèse, en particulier en analysant les cycles d'infestation de ces derniers sur les différentes espèces disponibles dans les populations parasitées. Une telle analyse comparée dans une échelle de temps large permettrait de tester l'hypothèse que les esclavagistes opportunistes affectent localement la démographie de leurs espèces hôtes du fait d'une forte virulence et changent d'hôte (en colonisant une autre population ou en exploitant une autre espèce à l'intérieur d'une population) de manière cyclique plus rapidement que d'autres parasites esclavagistes exploitant une seule espèce hôte ou des espèces hôtes dont les aires de répartition ne se recouvrent pas.

## 6- Coévolution et spéciation

Les interactions interspécifiques forment une trame évolutive dynamique et sont considérées comme l'un des moteurs de l'évolution des espèces et, *a fortiori*, du processus d'apparition de nouvelles espèces : la spéciation (Thompson 1994, 2005).

La course évolutive (Van Valen 1973) à laquelle se livrent les parasites sociaux et leurs hôtes chez les insectes sociaux est particulièrement représentative de ce phénomène du fait de la dépendance du parasite à ses hôtes. En réponse à cette pression de sélection, ces derniers développeront des traits de résistance tels qu'un seuil de tolérance colonial plus restrictif et une agressivité générale ou spécifique plus importante (Alloway 1990; Mori *et al.* 1991; Foitzik and Herbers 2001b; Foitzik *et al.* 2001 ; Herbers and Foitzik 2002 ; d'Ettorre *et al.* 2004 ; Achenbach & Foitzik 2009). Les mécanismes de développement du modèle de reconnaissance pourront également favoriser des composantes « innées » qui limiteront la plasticité de l'image de référence, grâce par exemple à des sensilles chémoréceptrices permettant de détecter spécifiquement les indices de l'espèce propre (cf. Hansson *et al.* 1999 ; Ozaki *et al.* 2005). Quoi qu'il en soit, l'évolution des mécanismes de reconnaissance vers une intolérance coloniale plus importante localement peut favoriser l'isolement des populations des espèces hôtes entre elles en diminuant la fréquence des croisements inter-populationnels lors des essaimages, accélérant de fait le processus de spéciation.

La coévolution des espèces et de leurs stratégies comportementales est un phénomène progressif qui ramène à des échelles de temps qui ne sont pas toujours accessibles aux chercheurs, au contraire des pathogènes tels que les bactéries ou les virus, dont les cycles de vie sont très rapides (Frank 1994a, Frank 1994b, 1996 ; Gandon & Michalakis 2000 ; Hall *et al.* 2011). Aussi, nous pensons que les études à venir

s'intéressant à l'évolution du parasitisme social devront particulièrement s'appuyer sur les comparaisons entre populations et entre sites différents, afin de mieux comprendre l'évolution des traits adaptatifs et contre-adaptatifs chez les espèces concernées.

*M. ravouxi*, parasite opportuniste, exploite 6 à 7 espèces du genre *Temnothorax* (Buschinger 1989, Seifert 2007). Des études génétiques permettraient de confirmer nos données préliminaires sur la proximité phylogénétique importante entre ces espèces (cf. Chapitre I). En parallèle, il serait intéressant de mener une étude biogéographique sur ces différentes espèces hôtes en Europe, pour tester l'hypothèse que les zones d'habitat des populations parasitées ne se chevauchent pas. Une telle étude, mise en relation avec les données de la phylogénie, pourraient permettre de tester l'hypothèse que les espèces esclavagistes participent activement à la mosaïque géographique des espèces (Thompson 1994, 2005) en accélérant le développement de contre-adaptations aux stratégies parasites et en favorisant la spéciation allopatrique.

## **7- Conclusion Générale**

Notre étude nous aura permis d'éclairer un peu plus comment les interactions antagonistes entre espèces peuvent influencer l'évolution des mécanismes de reconnaissance (et par extension, de fermeture) chez les espèces subissant de fortes pressions. L'esclavagisme chez les fourmis est à ce titre un paradigme doublement intéressant. Les parasites esclavagistes doivent parvenir à duper leurs espèces hôtes pour être acceptées et profiter de la force de travail que les sociétés d'insectes constituent. Elles nous permettent de ce fait d'entrer avec elles à l'intérieur de la « forteresse coloniale », por

Les interactions entre les parasites sociaux et leurs hôtes chez les fourmis restent des modèles uniques pour étudier nombre de questions fondamentales sur l'évolution des insectes sociaux (d'Ettorre & Heinze 2001). Les parasites sociaux sont ainsi capables de flouer les mécanismes de reconnaissance des sociétés d'insectes et permettent de mieux comprendre comment la signature chimique distincte d'une colonie se forme (cf. Lenoir *et al.* 2001). Ils constituent également un modèle pertinent pour prédire l'évolution de la fermeture coloniale d'une espèce à l'autre, et d'une population à l'autre au sein d'une même espèce, selon les pressions évolutives qu'elles subissent (Foitzik & Herbers 2001b ; Brandt & Foitzik 2004 ; Brandt *et al.* 2005a). En ce sens, les interactions hôtes-parasites, notamment dans les cas des espèces esclavagistes qui infligent un coût important au succès reproducteur des populations d'espèces hôtes du fait des invasions et des raids (Foitzik & Herbers 2001b; Hare & Alloway 2001; Johnson & Herbers 2006), constituent des pistes intéressantes pour comprendre comment les interactions biotiques peuvent accélérer les phénomènes de spéciation et contribuer à la mosaïque géographique des espèces dans le vivant (Thompson 1994, 1999, 2005a, 2005b).

## Bibliographie

- Abbot, P., Abe, J., Alcock, J., Alizon, S., Alpedrinha, J. A. C., Andersson, M., Andre, J.-B., van Baalen, M., Balloux, F., Balshine, S., et al.** 2011. Inclusive fitness theory and eusociality. *Nature*, 471, E1-E4.
- Achenbach, A. & Foitzik, S.** 2009. First evidence for slave rebellion: enslaved ant workers systematically kill the brood of their social parasite *Protomognathus americanus*. *Evolution*, 63, 1068-1075.
- Achenbach, A., Witte, V. & Foitzik, S.** 2010. Brood exchange experiments and chemical analyses shed light on slave rebellion in ants. *Behav. Ecol.*, 21(5), 948-956.
- Akino, T., Yamamura, K., Wakamura, S. & Yamaoka, R.** 2004. Direct behavioral evidence for hydrocarbons as nestmate recognition cues in *Formica japonica* (Hymenoptera: Formicidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 39, 381-387.
- Alexander, R. D.** 1974. The evolution of social behavior. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 5, 325-383.
- Allies, A. B., Bourke, A. F. G. & Franks, N. R.** 1986. Propaganda substances in the cuckoo ant *Leptothorax kutteri* and the slave-maker *Harpagoxenus sublaevis*. *J. Chem. Ecol.*, 12, 1285-1293.
- Alloway, T. M.** 1979. Raiding behaviour of two species of slave-making ants, *Harpagoxenus americanus* (Emery) and *Leptothorax duloticus* Wesson (Hymenoptera: Formicidae). *Anim. Behav.*, 27, 202-210.
- Alloway, T. M.** 1980. The origins of slavery in leptothoracine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Am. Nat.*, 115, 247-261.
- Alloway, T. M.** 1990. Slave-species ant colonies recognize slavemakers as enemies. *Anim. Behav.*, 39, 1218-1220.
- Anderson, M.** 1984. The evolution of eusociality. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 15, 165-189.
- Anderson, M. J.** 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral. Ecol.*, 26, 32-46.
- Anderson M.J., Gorley R. N, Clarke K.R.** 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. Plymouth, UK: PRIMER-E Ltd.
- André, E.** 1896. Description d'une nouvelle fourmi de France (Hymén.). *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, 1896, 367-368.
- Baroni Urbani, C., Bolton, B. & Ward, P. S.** 1992. The internal phylogeny of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Syst. Entomol.*, 17, 301-329.
- Baroni Urbani, C.** 2000. Rediscovery of the Baltic amber ant genus *Prionomyrmex* (Hymenoptera, Formicidae) and its taxonomic consequences. *Eclogae Geologicae Helvetiae*, 93, 471-480.

- Bartz, S. H. & Hölldobler, B.** 1982. Colony founding in *Myrmecocystus mimicus* Wheeler (Hymenoptera: Formicidae) and the evolution of foundress associations. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 10, 137-147.
- Bauer, S., Böhm, M., Witte, V. & Foitzik, S.** 2010. An ant social parasite in-between two chemical disparate host species. *Evol. Ecol.*, 24, 317-332.
- Baur, A., Chalwatzis, N., Buschinger, A. & Zimmermann, F. K.** 1995. Mitochondrial DNA sequences reveal close relationships between social parasitic ants and their host species. *Curr. Genet.*, 28, 242-247.
- Beibl, J., Stuart, R. J., Heinze, J. & Foitzik, S.** 2005. Six origins of slavery in formicoxenine ants. *Insectes Sociaux*, 52, 291-297.
- Berlocher, S. H.** 2003. Comment on: When houseguests become parasites: sympatric speciation in ants; Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2003 Jun 10; 100(12): 7169-7174. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100, 6896-6898.
- Bernard, F.** 1950 (1946). Notes sur les fourmis de France. II. Peuplement des montagnes méridionales. *Ann. Soc. Entomol. France*, 115, 1-36.
- Bernard, F.** 1967 (1968). *Faune de l'Europe et du Bassin Méditerranéen. 3. Les fourmis (Hymenoptera Formicidae) d'Europe occidentale et septentrionale*. Paris: Masson.
- Blatrix, R. & Herbers, J. M.** 2003. Coevolution between slave-making ants and their hosts: host specificity and geographical variation. *Mol. Ecol.*, 12, 2809-2816.
- Brandt, M. & Foitzik, S.** 2004. Community context and specialization influence coevolution between a slavemaking ant and its hosts. *Ecology*, 85, 2997-3009.
- Blatrix, R. & Sermage, C.** 2005. Role of early experience in ant enslavement: a comparative analysis of a host and a non-host species. *Front. Zool.*, 2:13. [Epub], 7 p.
- Bolton, B.** 2003. Synopsis and classification of Formicidae. *Mem. Am. Entomol. Inst.*, 71, 1-370.
- Bonavita-Cougourdan, A., Clément, J. L. & Lange, C.** 1987. Nestmate recognition: the role of cuticular hydrocarbons in the ant *Camponotus vagus* Scop. *J. Entomol. Sci.*, 22, 1-10.
- Bonavita-Cougourdan, A., Clément, J. L. & Lange, C.** 1993. Functional subcaste discrimination (foragers and brood-tenders) in the ant *Camponotus vagus* Scop.: polymorphism of cuticular hydrocarbon patterns. *J. Chem. Ecol.*, 19, 1461-1477.
- Bonavita-Cougourdan, A., Riviere, G., Provost, E., Bagnères, A. G., Roux, M., Dusticier, G. & Clément, J. L.** 1996. Selective adaptation of the cuticular hydrocarbon profiles of the slave-making ants *Polyergus rufescens* Latr and their *Formica rufibarbis* Fab and *F-*

*cunicularia* Latr slaves. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 113, 313-329.

**BonavitaCougourdan, A., Bagneres, A. G., Provost, E., Dusticier, G. & Clement, J. L.** 1997. Plasticity of the cuticular hydrocarbon profile of the slave-making ant *Polyergus rufescens* depending on the social environment. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 116, 287-302.

**Bondroit, J.** 1918. Les fourmis de France et de Belgique. *Ann. Soc. Entomol. France*, 87, 1-174.

**Bono, J. M., Antolin, M. F. & Herbers, J. M.** 2006a. Parasite virulence and host resistance in a slave-making ant community. *Evolutionary Ecology Research*, 8, 1117-1128.

**Bono, J. M., Gordon, E. R., Antolin, M. F. & Herbers, J.** 2006b. Raiding activity of an obligate (*Polyergus breviceps*) and two facultative (*Formica puberula* and *F. gynecrates*) slave-making ants. *Journal of Insect Behavior*, 19, 429-446.

**Bono, J. M., Blatrix, R., Antolin, M. F. & Herbers, J. M.** 2007. Pirate ants (*Polyergus breviceps*) and sympatric hosts (*Formica occulta* and *Formica sp. cf. argentea*): host specificity and coevolutionary dynamics. *Biol. J. Linn. Soc.*, 91, 565-572.

**Boomsma, J. J.** 2009. Lifetime monogamy and the evolution of eusociality. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 364, 3191-3207.

**Boomsma, J. J., Beekman, M., Cornwallis, C. K., Griffin, A. S., Holman, L., Hughes, W. O. H., Keller, L., Oldroyd, B. P. & Ratnieks, F. L. W.** 2011. Only full-sibling families evolved eusociality. *Nature*, 471, E4-E5.

**Bos, N., Grinsted, L. & Holman, L.** 2011. Wax On, Wax Off: Nest Soil Facilitates Indirect Transfer of Recognition Cues between Ant Nestmates. *Plos One*, 6.

**Boulay, R., Hefetz, A., Soroker, V. & Lenoir, A.** 2000. *Camponotus fellah* colony integration: worker individuality necessitates frequent hydrocarbons exchanges. *Anim. Behav.*, 59, 1127-1133.

**Boulay, R., Katzav-Gozansky, T., Hefetz, A. & Lenoir, A.** 2004. Odour convergence and tolerance between nestmates through trophallaxis and grooming in the ant *Camponotus fellah* (Dalla Torre). *Insect. Soc.*, 51, 55-61.

**Boulay, R., Cerdá, X., Simon, T., Roldan, M. & Hefetz, A.** 2007. Intraspecific competition in the ant *Camponotus cruentatus*: should we expect the 'dear enemy' effect? *Anim. Behav.*, 74, 985-993.



- Bourke, A. F. G.** 1988. Worker reproduction in the higher eusocial Hymenoptera. *Q. Rev. Biol.*, 63, 291-311.
- Brandstaetter, A. S., Rossler, W. & Kleineidam, C. J.** 2011. Friends and Foes from an Ant Brain's Point of View - Neuronal Correlates of Colony Odors in a Social Insect. *PLoS ONE*, 6.
- Brandt, M. & Foitzik, S.** 2004. Community context and specialization influence coevolution between a slavemaking ant and its hosts. *Ecology*, 85, 2997-3009.
- Brandt, M., Foitzik, S., Fischer-Blass, B. & Heinze, J.** 2005a. The coevolutionary dynamics of obligate ant social parasite systems--between prudence and antagonism. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 80, 251-267.
- Brandt, M., Heinze, J., Schmitt, T. & Foitzik, S.** 2005b. A chemical level in the coevolutionary arms race between an ant social parasite and its hosts. *J. Evol. Biol.*, 18, 576-586.
- Brandt, M., Heinze, J., Schmitt, T. & Foitzik, S.** 2006. Convergent evolution of the Dufour's gland secretion as a propaganda substance in the slave-making ant genera *Protomognathus* and *Harpagoxenus*. *Insect. Soc.*, 53, 291-299.
- Breed, M. D. & Bennett, B.** 1987. Kin recognition in highly eusocial insects. In: *Kin recognition in animals* (Ed. by Fletcher, D. J. C. & Michener, C. D.), pp. 243-285. Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore: J. Wiley & Sons Ltd.
- Breed, M. D. & Moore, J.** 2011. *Animal Behavior*. Academic Press.
- Brunner, E. & Heinze, J.** 2009. Worker dominance and policing in the ant *Temnothorax unifasciatus*. *Insect. Soc.*, 56, 397-404.
- Burda, H., Honeycutt, R. L., Begall, S., Locker-Grutjen, O. & Scharff, A.** 2000. Are naked and common mole-rats eusocial and if so, why? *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 47, 293-303.
- Buschinger, A.** 1970. Neue Vorstellungen zur Evolution des Sozialparasitismus und der Dulosis bei Ameisen (Hym., Formicidae). *Biol. Zentralbl.*, 89, 273-299.
- Buschinger, A., Ehrhardt, W. & Winter, U.** 1980. The organization of slave raids in dulotic ants - a comparative study (Hymenoptera; Formicidae). *Z. Tierpsychol.*, 53, 245-264.
- Buschinger, A. & Winter, U.** 1983. Population studies of the dulotic ant, *Epimyrma ravouxi*, and the degenerate slavemaker, *E. kraussei* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomol. Gen.*, 8, 251-266.
- Buschinger, A. & Winter, U.** 1985. Life history and male morphology of the workerless parasitic ant *Epimyrma corsica* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomol. Gen.*, 10, 65-75.
- Buschinger, A.** 1986. Evolution of social parasitism in ants. *Trends Ecol. Evol.*, 1, 155-160.

- Buschinger, A. & Pfeifer, E.** 1988. Effects of nutrition on brood production and slavery in ants (Hymenoptera, Formicidae). *Insect. Soc.*, 35, 61-69.
- Buschinger, A., Ehrhardt, W., Fischer, K. & Ofer, J.** 1988. The slave-making ant genus *Chalepoxenus* (Hymenoptera, Formicidae). I. Review of literature, range, slave species. *Zool. Jahrb. Abt. Syst. Okol. Geogr. Tiere*, 115, 383-401.
- Buschinger, A.** 1989. Evolution, speciation, and inbreeding in the parasitic ant genus *Epimyrma* (Hymenoptera, Formicidae). *J. Evol. Biol.*, 2, 265-283.
- Buschinger, A., Cagniant, H., Ehrhardt, W. & Heinze, J.** 1989 (1988). *Chalepoxenus brunneus*, a workerless "degenerate slave-maker" ant (Hymenoptera, Formicidae). *Psyche*, 95, 253-363.
- Buschinger, A.** 1990. Sympatric speciation and radiative evolution of socially parasitic ants - Heretic hypotheses and their factual background. *Z. Zool. Syst. Evolutionsforsch.*, 28, 241-260.
- Buschinger, A.** 1997. Socially parasitic formicoxenine ants from Western Europe - a review (Hymenoptera, Formicidae). In: *Proceedings of the International Colloquia on Social Insects* (Ed. by Kipyatkov, V. E.), pp. 1-9. St. Petersburg: Russian Language Section of the IUSSI, Socium.
- Buschinger, A.** 2009. Social parasitism among ants: a review (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol. News*, 12, 219-235.
- Cao, T. T. & Dornhaus A.** 2012. Ants use pheromone markings in emigrations to move closer to food-rich areas. *Insect. Soc.*, 59, 87-92
- Charnov, E. L.** 1978. Evolution of eusocial behavior: offspring choice or parental parasitism? *J. Theor. Biol.*, 75, 451-465.
- Clarke K. R. & Gorley R. N.** 2006. *PRIMER v6: user manual/tutorial*. Plymouth (UK): PRIMER-E Ltd.
- Cockburn, A.** 2010. EVOLUTIONARY BIOLOGY Oh sibling, who art thou? *Nature*, 466, 930-931.
- Cole, B. J.** 1981. Dominance hierarchies in *Leptothorax* ants. *Science*, 212, 83-84.
- Craig, R.** 1979. Parental manipulation, kin selection, and the evolution of altruism. *Evolution*, 33, 319-334.
- Craig, R. & Crozier, R. H.** 1979. Relatedness in the polygynous ant *Myrmecia pilosula*. *Evolution*, 33, 335-341.
- Crosland, M. W. J.** 1989. Kin recognition in the ant *Rhytidoponera confusa*. I. Environmental odour. *Anim. Behav.*, 37, 912-919.

- Crozier, R. H. & Dix, M. W.** 1979. Analysis of two genetic models for the innate components of colony odor in social Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 4, 217-224.
- Crozier, R. H. & Pamilo, P.** 1996. One into two will go. *Nature*, 383, 574-575.
- Czechowski, W.** 1990. Autonomization of slaves from mixed colonies of *Formica sanguinea* Latr. & *Formica polyctena* Foerst. (Hymenoptera, Formicidae). *Mem. Zool.*, 44, 55-63.
- Czechowski, W.** 1994. Emancipation of slaves in *Formica sanguinea* Latr. colonies (Hymenoptera, Formicidae). *Ann. Zool., Warszawa*, 45, 15-26.
- Czechowski, W. & Rotkiewicz, W.** 1997. Relations between *Formica sanguinea* Latr. and *Formica cinerea cinerea* Mayr (Hymenoptera, Formicidae) - an unusual form of dulosis. *Ann. Zool., Warszawa*, 47, 469-478.
- Dahbi, A. & Lenoir, A.** 1998. Nest separation and the dynamics of the Gestalt odor in the polydomous ant *Cataglyphis iberica* (Hymenoptera, Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 42, 349-355.
- Dahbi, A., Hefetz, A., Cerdá, X. & Lenoir, A.** 1999. Trophallaxis mediates uniformity of colony odor in *Cataglyphis iberica* ants (Hymenoptera, Formicidae). *J. Insect Behav.*, 12, 559-567.
- Darwin, C.** 1859. *On the origin of species. (Facsimile of 1st edition, 1964)*. Cambridge, Mass: Harvard University Press.
- Davies, N. B., Butchart, S. H. M., Burke, T. A., Chaline, N. & Stewart, I. R. K.** 2003. Reed warblers guard against cuckoos and cuckoldry. *Animal Behaviour*, 65, 285-295.
- Dawkins, R. & Krebs, J. R.** 1979. Arms races between and within species. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 205, 489-511.
- d'Ettorre, P. & Errard, C.** 1998. Chemical disguise by the queen of the slave-making ant *Polyergus rufescens* during colony foundation. *Insect Social Life*, 2, 71-77.
- d'Ettorre, P., Errard, C., Ibarra, F., Francke, W. & Hefetz, A.** 2000. Sneak in or repel your enemy: Dufour's gland repellent as a strategy for successful usurpation in the slave-maker *Polyergus rufescens*. *Chemoecology*, 10, 135-142.
- d'Ettorre, P. & Heinze, J.** 2001. Sociobiology of slave-making ants. *Acta Ethol.*, 3, 67-82.
- d'Ettorre, P., Mondy, N., Lenoir, A. & Errard, C.** 2002. Blending in with the crowd: social parasites integrate into their host colonies using a flexible chemical signature. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 269, 1911-1918.
- d'Ettorre, P., Brunner, E., Wenseleers, T. & Heinze, J.** 2004. Knowing your enemies: seasonal dynamics of host-social parasite recognition. *Naturwissenschaften*, 91, 594-597.

- d'Ettorre, P. & Heinze, J.** 2005. Individual recognition in ant queens. *Curr. Biol.*, 15, 2170-2174.
- d'Ettorre, P., Hughes, D. P. & (Eds.).** 2008. *Sociobiology of communication: an interdisciplinary perspective*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- d'Ettorre, P. & Lenoir, A.** 2009. Nestmate recognition. In: *Ant Ecology* (Ed. by Lach, L., Parr, C. & Abbott, K.), pp. 194-209, references 319-383. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Dreier, S., van Zweden, J. S. & D'Ettorre, P.** 2007. Long-term memory of individual identity in ant queens. *Biol. Lett.*, 3, 459-462.
- Dukas, R.** 2008. Evolutionary biology of insect learning. *Annu. Rev. Entomol.*, 53, 145-160.
- Durier, V., Graham, P. & Collett, T. S.** 2003. Snapshot memories and landmark guidance in wood ants. *Curr. Biol.*, 13, 1614-1618.
- Elmes, G. W.** 1991. Mating strategy and isolation between the two forms, macrogyna and microgyna, of *Myrmica ruginodis* (Hym. Formicidae). *Ecol. Entomol.*, 16, 411-423.
- El Showk, S., van Zweden, J. S., d'Ettorre, P. & Sundström, L.** 2010. Are you my mother? Kin recognition in the ant *Formica fusca*. *J. Evol. Biol.*, 23, 397-406.
- Emery, C.** 1909. Über den Ursprung der dulotischen, parasitischen und myrmekophilen Ameisen. *Biol. Centralbl.*, 29, 352-362.
- Errard, C.** 1994. Development of interspecific recognition behavior in the ants *Manica rubida* and *Formica selysi* (Hymenoptera: Formicidae) reared in mixed-species groups. *J. Insect Behav.*, 7, 83-99.
- Errard, C. & Hefetz, A.** 1997. Label familiarity and discriminatory ability of ants reared in mixed groups. *Insect. Soc.*, 44, 189-198.
- Errard, C., Fresneau, D., Heinze, J., Francoeur, A. & Lenoir, A.** 1997. Social organization in the guest-ant *Formicoxenus provancheri*. *Ethology*, 103, 149-159.
- Errard, C., Hefetz, A. & Jaisson, P.** 2006a. Social discrimination tuning in ants: template formation and chemical similarity. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 59, 353-363.
- Errard, C., Ruano, F., Richard, F. J., Lenoir, A., Tinaut, A. & Hefetz, A.** 2006b. Co-evolution-driven cuticular hydrocarbon variation between the slavemaking ant *Rossomyrmex minuchae* and its host *Proformica longiseta* (Hymenoptera: Formicidae). *Chemoecology*, 16, 235-240.
- Errard, C., Le Guisquet, A. M., Christidès, J. P., Mercier, J. L., Lenoir, A. & Hefetz, A.** 2008. Early learning of volatile chemical cues leads to interspecific recognition between two ant species. *Insect. Soc.*, 55, 115-122.

- Fénéron, R. & Jaisson, P.** 1995. Ontogeny of nestmate brood recognition in a primitive ant, *Ectatomma tuberculatum* Olivier (Ponerinae). *Anim. Behav.*, 50, 9-14.
- Ferriere, R. & Michod, R. E.** 2011. Inclusive fitness in evolution. *Nature*, 471, E6-E8.
- Fischer, B. & Foitzik, S.** 2004. Local co-adaptation leading to a geographical mosaic of coevolution in a social parasite system. *J. Evol. Biol.*, 17, 1026-1034.
- Fischer-Blass, B., Heinze, J. & Foitzik, S.** 2006. Microsatellite analysis reveals strong but differential impact of a social parasite on its two host species. *Molecular Ecology*, 15, 863-872.
- Foitzik, S. & Heinze, J.** 1998. Nest site limitation and colony take over in the ant, *Leptothorax nylanderi*. *Behav. Ecol.*, 9, 367-375.
- Foitzik, S. & Heinze, J.** 2000. Intraspecific parasitism and split sex ratios in a monogynous and monandrous ant (*Leptothorax nylanderi*). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 47, 424-431.
- Foitzik, S. & Herbers, J. M.** 2001a. Colony structure of a slavemaking ant. II. Frequency of slave raids and impact on the host population. *Evolution*, 55, 316-323.
- Foitzik, S. & Herbers, J. M.** 2001b. Colony structure of a slavemaking ant. I. Intracolony relatedness, worker reproduction, and polydomy. *Evolution*, 55, 307-315.
- Foitzik, S., DeHeer, C. J., Hunjan, D. N. & Herbers, J. M.** 2001. Coevolution in host-parasite systems: behavioural strategies of slave-making ants and their hosts. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 268, 1139-1146.
- Foitzik, S., Fischer, B. & Heinze, J.** 2003. Arms races between social parasites and their hosts: geographic patterns of manipulation and resistance. *Behavioral Ecology*, 14, 80-88.
- Foitzik, S., Sturm, H., Pusch, K., D'Etterre, P. & Heinze, J.** 2007. Nestmate recognition and intraspecific chemical and genetic variation in *Temnothorax* ants. *Anim. Behav.*, 73, 999-1007.
- Foster, K. R. & Wenseleers, T.** 2006. A general model for the evolution of mutualisms. *J. Evol. Biol.*, 19, 1283-1293.
- Frank, S. A.** 1994a. COEVOLUTIONARY GENETICS OF HOSTS AND PARASITES WITH QUANTITATIVE INHERITANCE. *Evol. Ecol.*, 8, 74-94.
- Frank, S. A.** 1994b. KIN SELECTION AND VIRULENCE IN THE EVOLUTION OF PROTOCELLS AND PARASITES. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 258, 153-161.
- Frank, S. A.** 1996. Models of parasite virulence. *Q. Rev. Biol.*, 71, 37-78.
- Frank, S. A. & Schmid-Hempel, P.** 2008. Mechanisms of pathogenesis and the evolution of parasite virulence. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 396-404.

- Franks, N. R. & Scovell, E.** 1983. Dominance and reproductive success among slave-making worker ants. *Nature*, 304, 724-725.
- Franks, N., Blum, M., Smith, R. K. & Allies, A. B.** 1990. Behavior and chemical disguise of cuckoo ant *Leptothorax kutteri* in relation to its host *Leptothorax acervorum*. *J. Chem. Ecol.*, 16, 1431-1444.
- Franks, N. R. & Richardson, T.** 2006. Teaching in tandem-running ants. *Nature*, 439, 153.
- Freeman G. H., Halton J. H.** 1951. Note on exact treatment of contingency, goodness of fit and other problems of significance. *Biometrika*, 38, 141–149.
- Fürst, M. A., Durey, M. & Nash, D. R.** 2011. Testing the adjustable threshold model for intruder recognition on *Myrmica* ants in the context of a social parasite. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. doi: 10.1098/rspb.2011.0581
- Galizia, C. G. & Rossler, W.** 2010. Parallel Olfactory Systems in Insects: Anatomy and Function. In: *Annu. Rev. Entomol.*, pp. 399-420. Palo Alto: Annual Reviews.
- Gandon, S. & Michalakis, Y.** 2000. Evolution of parasite virulence against qualitative or quantitative host resistance. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 267, 985-990.
- Gladstone, D. E.** 1981. Why there are no ant slave rebellions. *Am. Nat.*, 117, 779-781.
- Grafen, A.** 1990. Do animals really recognize kin? *Anim. Behav.*, 39, 42-54.
- Graham, P. & Cheng, K.** 2009. Ants use the panoramic skyline as a visual cue during navigation. *Curr. Biol.*, 19(20), R935-R937.
- Grasso, D. A., Ugolini, A. & Le Moli, F.** 1996. Homing behaviour in *Polyergus rufescens* Latr. (Hymenoptera, Formicidae). *Ethology*, 102, 99-108.
- Grasso, D. A., Ugolini, A., Visicchio, R. & Le Moli, F.** 1997. Orientation of *Polyergus rufescens* (Hymenoptera, Formicidae) during slave-making raids. *Anim. Behav.*, 54, 1425-1438.
- Greene, M. J. & Gordon, D. M.** 2003. Cuticular hydrocarbons inform task decisions. *Nature*, 423, 32.
- Guerrieri, F. J., Nehring, V., Jorgensen, C. G., Nielsen, J., Galizia, C. G. & d'Ettorre, P.** 2009. Ants recognize foes and not friends. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 276, 2461-2468.
- Hall, A. R., Scanlan, P. D., Morgan, A. D. & Buckling, A.** 2011. Host-parasite coevolutionary arms races give way to fluctuating selection. *Ecol. Lett.*, 14, 635-642.
- Hamilton, W. D.** 1964a. The genetical evolution of social behaviour. I. *J. Theor. Biol.*, 7, 1-16.

- Hamilton, W. D.** 1964b. The genetical evolution of social behaviour. II. *J. Theor. Biol.*, 7, 17-52.
- Hansson, B.S.** 1999. *Insect olfaction*. Berlin: Springer-Verlag.
- Hare, J. F. & Alloway, T. M.** 2001. Prudent *Protomognathus* and despotic *Leptothorax duloticus*: Differential costs of ant slavery. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 12093-12096.
- Hauber, M. E. & Sherman P. W.** 2001. Self-referent phenotype matching: theoretical considerations and empirical evidence. *TRENDS in Neurosciences*, 24(10), 609-616.
- Hefetz, A., Errard, C. & Cojocar, M.** 1992. The occurrence of heterospecific substances in postpharyngeal gland secretion of ants reared in mixed groups. *Naturwissenschaften*, 79, 417-420.
- Heinze, J.** 1991. Biochemical studies on the relationship between socially parasitic ants and their hosts. *Biochem. Syst. Ecol.*, 19, 195-206.
- Heinze, J.** 1993. Habitat structure, dispersal strategies and queen number in two boreal *Leptothorax* ants. *Oecologia*, 96, 32-39.
- Heinze, J., Ortius, D., Holldobler, B. & Kaib, M.** 1994. Interspecific aggression in colonies of the slave-making ant *Harpagoxenus sublaevis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 35, 75-83.
- Heinze, J.** 1995. The Origin of Workerless Parasites in *Leptothorax* (S. Str.) (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 102, 195-214.
- Heinze, J., Foitzik, S., Hippert, A. & Holldobler, B.** 1996. Apparent dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nylanderi*. *Ethology*, 102, 510-522.
- Heinze, J., Puchinger, W. & Hölldobler, B.** 1997. Worker reproduction and social hierarchies in *Leptothorax* ants. *Anim. Behav.*, 54, 849-864.
- Helanterä, H., Martin, S. J. & Ratnieks, F. L. W.** 2007. Prior experience with eggs laid by non-nestmate queens induces egg acceptance errors in ant workers. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 62, 223-228.
- Herbers, J. M. & Foitzik, S.** 2002. The ecology of slavemaking ants and their hosts in North temperate forests. *Ecology*, 83, 148-163.
- Herre, E. A. & Wcislo, W. T.** 2011. In defence of inclusive fitness theory. *Nature*, 471, E8-E9.
- Hölldobler, B.** 1976. Tournaments and slavery in a desert ant. *Science*, 192, 912-914.

- Hölldobler, B. & Wilson, E. O.** 1990. *The ants*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O.** 1996. *Voyage chez les fourmis: Une exploration scientifique*. Paris: Seuil.
- Holm, S.** 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics* 1979, 6, 65-70.
- Hora, R. R., Doums, C., Poteaux, C., Fénéron, R., Valenzuela, J., Heinze, J. & Fresneau, D.** 2005. Small queens in the ant *Ectatomma tuberculatum*: a new case of social parasitism. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 59, 285-292.
- Howard, R. W. & Blomquist, G. J.** 2005. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.*, 50, 371-393.
- Hughes, W. O. H., Oldroyd, B. P., Beekman, M. & Ratnieks, F. L. W.** 2008. Ancestral monogamy shows kin selection is key to the evolution of eusociality. *Science*, 320, 1213-1216.
- Hurst, G. D. D.** 1997. Wolbachia, cytoplasmic incompatibility, and the evolution of eusociality. *J. Theor. Biol.*, 184, 99-100.
- Ichinose, K., Cerda, X., Jean-Philippe, C. & Lenoir, A.** 2005. Detecting nestmate recognition patterns in the fission-performing ant *Aphaenogaster senilis*: A comparison of different indices. *J. Insect Behav.*, 18, 633-650.
- Isingrini, M., Lenoir, A. & Jaisson, P.** 1985. Preimaginal learning as a basis of colony-brood recognition in the ant *Cataglyphis cursor*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 82, 8545-8547.
- Isingrini, M., Jaisson, P. & Lenoir, A.** 1986. Influence of preimaginal experience on the social behaviour of adult ants and the importance of fellowship in nestmate recognition. In: *The individual and society* (Ed. by Lachaud, J. P. & Passera, L.), pp. 39-43. Toulouse: Privat.
- Ito, F. & Higashi, S.** 1990. Temporary social parasitism in the enslaving ant species *Formica sanguinea* Latreille: an important discovery related to the evolution of dulosis in *Formica* ants. *J. Ethol.*, 8, 33-35.
- Jaisson, P.** 1975. L'imprégnation dans l'ontogenèse des comportements de soins aux cocons chez la jeune fourmi rousse (*Formica polyctena* Först). *Behaviour*, 52, 1-37.
- Jaisson, P. & Fresneau, D.** 1978. The sensitivity and responsiveness of ants *Formica polyctena* to their cocoons in relation to age and methods of measurement. *Anim. Behav.*, 26, 1064-1071.



- Jaisson, P.** 1985. Social behavior. In: *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Behaviour* (Ed. by G. A. Kerkut & L. I. Gilbert), pp. 673-694. Oxford: Pergamon Press.
- Jaisson, P.** 1991. Kinship and fellowship in ants and social wasps. In: *Kin recognition* (Ed. by P. G. Hepper), pp. 60-93. Cambridge: Cambridge University Press.
- Jaisson, P.** 1993. *La fourmi et le sociobiologiste*. Paris: Odile Jacob.
- Jarvis, J. U. M.** 1981. Eusociality in a mammal- Cooperative breeding in naked mole-rat colonies. *Science*, 212, 571-573.
- Johns, P. M., Howard, K. J., Breisch, N. L., Rivera, A. & Thorne, B. L.** 2009. Nonrelatives inherit colony resources in a primitive termite. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106, 17452-17456.
- Johnson, C. A.** 2000. Responses of two potential host species (*Formica gnava* and *Formica occulta*) to pupae of the obligatory slave-making ant, *Polyergus breviceps* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior*, 13, 711-730.
- Johnson, C. A., Topoff, H., Vander Meer, R. K. & Lavine, B.** 2005. Do these eggs smell funny to you?: an experimental study of egg discrimination by hosts of the social parasite *Polyergus breviceps* (Hymenoptera: Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 57, 245-255.
- Johnson, C. A. & Herbers, J. M.** 2006. Impact of parasite sympatry on the geographic mosaic of coevolution. *Ecology*, 87, 382-394.
- Kaib, M., Heinze, J. & Ortius, D.** 1993. Cuticular hydrocarbons profiles in the slave-making ant *Harpogoxenus sublaevis* and its hosts. *Naturwissenschaften*, 80, 281-285.
- Katzav-Gozansky, T., Boulay, R., Vander Meer, R. & Hefetz, A.** 2004. In-nest environment modulates nestmate recognition in the ant *Camponotus fellah*. *Naturwissenschaften*, 91, 186-190.
- Keller, L. & Ross, K. G.** 1998. Selfish genes: a green beard in the red fire ant. *Nature*, 394, 573-575.
- Keller, L. & Fournier, D.** 2002. Lack of inbreeding avoidance in the Argentine ant *Linepithema humile*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 13, 28-31.
- Knaden, M. & Wehner, R.** 2003. Nest defense and conspecific enemy recognition in the desert ant *Cataglyphis fortis*. *J. Insect Behav.*, 16, 717-730.
- Kozak, G. M., Head, M. L. & Boughman, J. W.** 2011. Sexual imprinting on ecologically divergent traits leads to sexual isolation in sticklebacks. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 278, 2604-2610.

- Kronauer, D. J., Gadau, J. & Holldobler, B.** 2003. Genetic evidence for intra- and interspecific slavery in honey ants (genus *Myrmecocystus*). *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 270, 805-810.
- Kruger, O.** 2007. Cuckoos, cowbirds and hosts: adaptations, trade-offs and constraints. *Philos T R Soc B*, 362, 1873-1886.
- Kutter, H., Le Masne, G. & Baroni Urbani, C.** 1969. [Review of: Bernard, F. 1967 ("1968"). Les fourmis (Hymenoptera Formicidae) d'Europe occidentale et septentrionale. Paris: Masson, 411 pp.]. *Boll. Soc. Entomol. Ital.*, 99-101, 117-120.
- Lahav, S., Soroker, V., Hefetz, A. & Vander Meer, R. K.** 1999. Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. *Naturwissenschaften*, 86, 246-249.
- Laland, K. N.** 1994. On the evolutionary consequences of sexual imprinting. *Evolution*, 48, 477-489.
- Latreille, P. A.** 1798. *Essai sur l'histoire des fourmis de la France*. Brive: F. Bourdeaux.
- Lehmann, L. & Perrin, N.** 2002. Altruism, dispersal, and phenotype-matching kin recognition. *Am. Nat.*, 159, 451-468.
- Le Moli, F. & Mori, A.** 1987. Why a slave ant species accepts and cares for cocoons of its slave-maker. *Insectes Sociaux*, 34, 136-141.
- Le Moli, F. & Mori, A.** 1991(1990). Laboratory experiments on environmental sources of nestmate and non-nestmate discrimination in three species of *Formica* ants (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 97, 147-169.
- Le Moli F., Grasso D. A., d'Ettorre P. & Mori A.** 1993. Intraspecific slavery in *Polyergus rufescens* Latr. (Hymenoptera, Formicidae): field and laboratory observations. *Insect. Soc.* 40: 433-437.
- Lenoir, A., Errard, C., Francoeur, A. & Loiseau, R.** 1992. Relations entre la fourmi parasite *Formicoxenus provancheri* et sur hôte *Myrmica incompleta*. Données biologiques et éthologiques (Hym. Formicidae). *Insect. Soc.*, 39, 81-97.
- Lenoir, A., Malosse, C. & Yamaoka, R.** 1997. Chemical mimicry between parasitic ants of the genus *Formicoxenus* and their host *Myrmica* (Hymenoptera, Formicidae). *Biochem. Syst. Ecol.*, 25, 379-389.
- Lenoir, A., Fresneau, D., Errard, C. & Hefetz, A.** 1999. Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: *Information processing in social insects* (Ed. by Detrain, C., Deneubourg, J. L. & Pasteels, J.), pp. 219-237. Basel: Birkhauser Verlag.

- Lenoir, A., D'Ettorre, P., Errard, C. & Hefetz, A.** 2001. Chemical ecology and social parasitism in ants. *Annual Review of Entomology*, 46, 573-599.
- Lenoir, J. C., Lachaud, J. P., Nettel, A., Fresneau, D. & Poteaux, C.** 2011. The role of microgynes in the reproductive strategy of the neotropical ant *Ectatomma ruidum*. *Naturwissenschaften*, 98, 347-356.
- Leonhardt, S. D., Brandstaetter, A. S. & Kleineidam, C. J.** 2007. Reformation process of the neuronal template for nestmate-recognition cues in the carpenter ant *Camponotus floridanus*. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.*, 193, 993-1000.
- Liang, D. & Silverman, J.** 2000. "You are what you eat": Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften*, 87, 412-416.
- Liebert, A. E. & Starks, P. T.** 2004. The action component of recognition systems: a focus on the response. *Annales Zoologici Fennici*, 41, 747-764.
- Liu, Z., Yamane, S., Wang, Q. & Yamamoto, H.** 1998. Nestmate recognition and temporal modulation in the patterns of cuticular hydrocarbons in natural colonies of Japanese carpenter ant *Camponotus japonicus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *J. Ethol.*, 16, 57-65.
- Liu, Z. & Bonfil, H.** 2001. Differential performance of a *Contarinia* gall midge (Diptera: Cecidomyiidae) on ant-defended *Acacia cornigera* (Fabaceae). *Proc. Entomol. Soc. Washington*, 103, 376-385.
- Lloyd, H. A., Schmuff, N. R. & Hefetz, A.** 1986. Chemistry of the anal glands of *Bothriomyrmex syrius* Forel – Olfactory mimetism and temporary social parasitism. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 83, 71-73.
- Lowe, R. M., Ward, S. A. & Crozier, R. H.** 2002. The evolution of parasites from their hosts: intra- and interspecific parasitism and Emery's rule. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 269, 1301-1305.
- MacKay, W. P.** 2000. A review of the New World ants of the subgenus Myrafant, (Genus *Leptothorax*) (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 36, 265-444.
- Martin, S. J., Jenner, E. A. & Drijfhout, F. P.** 2007. Chemical deterrent enables a socially parasitic ant to invade multiple hosts. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 274, 2717-2721.
- Martin, S. J. & Drijfhout, F. P.** 2009. Nestmate and task cues are influenced and encoded differently within ant cuticular hydrocarbon profiles. *J. Chem. Ecol.*, 35, 368-374.
- Martin, S. J., Helanterä, H., Kiss, K., Lee, Y. R. & Drijfhout, F. P.** 2009. Polygyny reduces rather than increases nestmate discrimination cue diversity in *Formica exsecta* ants. *Insect. Soc.*, 56, 375-383.

- Martin SJ, Vitikainen E, Drijfhout FP, Jackson D.** 2012. Conspecific ant aggression is correlated with chemical distance, but not with genetic or spatial distance. *Behav. Genet.*, 42, 323–331.
- Maschwitz, U., Dorow, W. H. O., Buschinger, A. & Kalytta, G.** 2000. Social parasitism involving ants of different subfamilies: *Polyrhachis lama* (Formicinae) an obligatory inquiline of *Diacamma sp.* (Ponerinae) in Java. *Insect. Soc.*, 47, 27-35.
- Mateo, J. M. & Johnston, R. E.** 2000. Kin recognition and the ‘armpit effect’: evidence of self-referent phenotype matching. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 267, 695-700.
- Maynard-Smith, J. & Price G.R.** 1973. The logic of animal conflict. *Nature*, 246, 15-18.
- Maynard-Smith, J.** 1979. Game theory and the evolution of behaviour. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 205, 475-488
- McArdle B. H., Anderson M. J.** 2001 Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology*, 82, 2, 90–297.
- McKinnon, J. S., Mori, S., Blackman, B. K., David, L., Kingsley, D. M., Jamieson, L., Chou, J. & Schluter, D.** 2004. Evidence for ecology's role in speciation. *Nature*, 429, 294-298.
- Meskali, M., Bonavita-Cougourdan, A., Provost, E., Bagnères, A. G., Dusticier, G. & Clément, J. L.** 1995. Mechanism underlying cuticular hydrocarbon homogeneity in the ant *Camponotus vagus* (Scop.) (Hymenoptera: Formicidae): Role of postpharyngeal glands. *J. Chem. Ecol.*, 21, 1127-1148.
- Michener, C. D. & Brothers, D. J.** 1974. Were workers of eusocial hymenoptera initially altruistic or oppressed. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 71, 671-674.
- Moksnes, A., Røskoft, E., Braa, A. T., Korsnes, L., Lampe, H. M. & Pedersen, H. C.** 1991. Behavioural responses of potential hosts towards artificial cuckoo eggs and dummies. *Behaviour*, 116, 64–89.
- Monnin, T.** 2006. Chemical recognition of reproductive status in social insects. *Ann. Zool. Fennici*, 43, 515-530.
- Moreau, C. S., Bell, C. D., Vila, R., Archibald, S. B. & Pierce, N. E.** 2006. Phylogeny of the ants: Diversification in the age of angiosperms. *Science*, 312, 101-104.
- Morel, L. & Blum, M. S.** 1988. Nestmate recognition in *Camponotus floridanus* callow worker ants: are sisters or nestmates recognized. *Anim. Behav.*, 36, 718-725.
- Mori, A., Grasso, D. A. & Le Moli, F.** 1991. Eco-ethological study on raiding behaviour of the European amazon ant, *Polyergus rufescens* Latr. (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology*, 88, 46-62.

- Mori, A., Zaccone, A. & Le Moli, F.** 1992. Experience-independent attraction to host-species ant cocoons in the slave-maker *Formica sanguinea* Latr. (Hymenoptera Formicidae). *Ethol. Ecol. Evol.*, 1992 (Spec. Issue 2), 85-89.
- Mori, A., D'Ettorre, P. & Le Moli, F.** 1995. Host nest usurpation and colony foundation in the European amazon ant, *Polyergus rufescens* Latr. (Hymenoptera: Formicidae). *Insect. Soc.*, 42, 279-286.
- Mori, A., D'Ettorre, P. & Le Moli, F.** 1996. Selective acceptance of the brood of two formicine slave-making ants by host and non-host related species. *Insectes Sociaux*, 43, 391-400.
- Mori, A., Grasso, D. A. & Le Moli, F.** 2000a. Raiding and foraging behavior of the blood-red ant, *Formica sanguinea* Latr. (Hymenoptera, Formicidae). *J. Insect Behav.*, 13, 421-438.
- Mori, A., Grasso, D. A., Visicchio, R. & Le Moli, F.** 2000b. Colony founding in *Polyergus rufescens*: the role of the Dufour's gland. *Insect. Soc.*, 47, 7-10.
- Mori, A., Visicchio, R., Sledge, M. F., Grasso, D. A., Le Moli, F., Turillazzi, S., Spencer, S. & Jones, G. R.** 2000c. Behavioral assays testing the appeasement allomone of *Polyergus rufescens* queens during host-colony usurpation. *Ethol. Ecol. Evol.*, 12, 315-322.
- Mori, A., Grasso, D. A., Visicchio, R. & Le Moli, F.** 2001. Comparison of reproductive strategies and raiding behaviour in facultative and obligatory slave-making ants: the case of *Formica sanguinea* and *Polyergus rufescens*. *Insect. Soc.*, 48, 302-314.
- Müller, M. & Wehner, R.** 1988. Path integration in desert ants, *Cataglyphis fortis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 85, 5287-5290.
- Muller, M. & Wehner, R.** 2010. Path Integration Provides a Scaffold for Landmark Learning in Desert Ants. *Curr. Biol.*, 20, 1368-1371.
- Nash, D. R., Als, T. D., Maile, R., Jones, G. R. & Boomsma, J. J.** 2008. A mosaic of chemical coevolution in a large blue butterfly. *Science*, 319, 88-90.
- Nehring, V., Evison, S. E. F., Santorelli, L. A., d'Ettorre, P. & Hughes, W. O. H.** 2011. Kin-informative recognition cues in ants. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 278, 1942-1948.
- Nel, A., Perrault, G. H., Perrichot, V. & Néraudeau, D.** 2004. The oldest ant in the Lower Cretaceous amber of Charente-Maritime (SW France) (Insecta: Hymenoptera: Formicidae). *Geologica Acta*, 2, 23-29.
- Newey, P. S., Robson, S. K. A. & Crozier, R. H.** 2009. Nest and colony-specific spectra in the weaver ant *Oecophylla smaragdina*. *Insect. Soc.*, 56, 261-268.

- Nonacs, P.** 2011. Kinship, greenbeards, and runaway social selection in the evolution of social insect cooperation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 108, 10808-10815.
- Nowak, M. A., Tarnita, C. E. & Wilson, E. O.** 2010. The evolution of eusociality. *Nature*, 466, 1057-1062.
- Nowak, M. A., Tarnita, C. E. & Wilson, E. O.** 2011. In defence of inclusive fitness theory. *Nature*, 471, E9-E10.
- Nowbahari, M. & Lenoir, A.** 1989. Age related changes in aggression in ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera, Formicidae): Influence on intercolonial relationships. *Behav. Process.*, 18, 173-181.
- Nowak, M. A., Tarnita, C. E. & Wilson, E. O.** 2010. The evolution of eusociality. *Nature*, 466, 1057-1062.
- Ozaki, M., Wada-Katsumata, A., Fujikawa, K., Iwasaki, M., Yokohari, F., Satoji, Y., Nisimura, T. & Yamaoka, R.** 2005. Ant nestmate and non-nestmate discrimination by a chemosensory sensillum. *Science*, 309, 311-314.
- Pamminger, T., Scharf, I., Pennings, P. S. & Foitzik, S.** 2011. Increased host aggression as an induced defense against slave-making ants. *Behav. Ecol.*, 22, 255-260.
- Parker, J. D. & Rissing, S. W.** 2002. Molecular evidence for the origin of workerless social parasites in the ant genus *Pogonomyrmex*. *Evolution*, 56, 2017-2028.
- Passera, L. & Aron, S.** 2005. *Les fourmis: comportement, organisation sociale et évolution*. Ottawa: Les Presses scientifiques du CNRC.
- Plateaux, L.** 1971. Sur le polymorphisme social de la Fourmi *Leptothorax nylanderii* (Förster). II. - Activité des ouvrières et déterminisme des castes. *Ann. Sci. Nat. Zool.*, 13, 1-90.
- Plateaux, L.** 1978. L'essaimage de quelques fourmis *Leptothorax*: rôles de l'éclairement et de divers autres facteurs. Effet sur l'isolement reproductif et la répartition géographique. 1re partie, I à VI. *Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim.*, (12)20, 129-164.
- Plateaux, L.** 1978. L'essaimage de quelques fourmis *Leptothorax*: rôles de l'éclairement et de divers autres facteurs. Effet sur l'isolement reproductif et la répartition géographique. 2e partie, suite et fin. *Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim.*, (12)20, 165-192.
- Pollock, G. B. & Rissing, S. W.** 1989. Intraspecific brood raiding, territoriality, and slavery in ants. *Am. Nat.*, 133, 61-70.
- Provost, E., Blight, O., Tirard A. & Renucci, M.** 2008. Hydrocarbons and insects' social physiology. In: *Insect Physiology: New Research* (Ed. Rayan P. Maes), pp 19-72. Nova Science Publishers Inc.

- Pusch, K., Heinze, J. & Foitzik, S.** 2006. The influence of hybridization on colony structure in the ant species *Temnothorax nylanderi* and *T. crassispinus*. *Insect. Soc.*, 53, 439-445.
- Ratnieks, F. L. W., Foster, K. R. & Wenseleers, T.** 2006. Conflict resolution in insect societies. *Annu. Rev. Entomol.*, 51, 581-608.
- Ratnieks, F. L. W. & Wenseleers, T.** 2008. Altruism in insect societies and beyond: voluntary or enforced? *Trends Ecol. Evol.*, 23, 45-52.
- Reeve, H. K.** 1989. The evolution of conspecific acceptance thresholds. *American Naturalist*, 133, 407-435.
- Richard, F. J., Hefetz, A., Christides, J. P. & Errard, C.** 2004. Food influence on colonial recognition and chemical signature between nestmates in the fungus-growing ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. *Chemoecology*, 14, 9-16.
- Robertson, R. J. & Norman, R. F.** 1976. Behavioural defences to brood parasitism by potential hosts of the brownheaded cowbird. *Condor*, 78, 166-173.
- Rothstein, S.I., Robinson, S.K.** 1998. *Parasitic birds and their hosts: studies in coevolution*. Oxford: Oxford University Press.
- Ruano, F. & Tinaut, A.** 1999. Raid process, activity pattern and influence of abiotic conditions in the slave-making ant *Rossomyrmex minuchae* (Hymenoptera, Formicidae). *Insect. Soc.*, 46, 341-347.
- Ruano, F., Devers, S., Sanllorente, O., Errard, C., Tinaut, A. & Lenoir, A.** 2011. A geographical mosaic of coevolution in a slave-making host-parasite system. *Journal of Evolutionary Biology*, 24, 1071-1079.
- Rüppell, O. & Heinze, J.** 1999. Alternative reproductive tactics in females: the case of size polymorphism in winged ant queens. *Insect. Soc.*, 46, 6-17.
- Rüppell, O., Heinze, J. & Hölldobler, B.** 2001. Alternative reproductive tactics in the queen size dimorphic ant *Leptothorax rugatulus* (Emery) and population genetic consequences. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 50, 189-197.
- Sanada-Morimura, S., Minai, M., Yokoyama, M., Hirota, T., Satoh, T. & Obara, Y.** 2003. Encounter-induced hostility to neighbors in the ant *Pristomyrmex pungens*. *Behav. Ecol.*, 14, 713-718.
- Sanetra, M. & Buschinger, A.** 2000. Phylogenetic relationship among social parasites and their hosts in the tribe *Tetramoriini* (Hymenoptera: Formicidae). *Eur. J. Entomol.*, 97, 95-117.
- Savolainen, R. & Vepsäläinen, K.** 2003. Sympatric speciation through intraspecific social parasitism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100, 7169-7174.

- Scharf, I., Pamminer, T. & Foitzik, S.** 2011. Differential Response of Ant Colonies to Intruders: Attack Strategies Correlate With Potential Threat. *Ethology*, 117, 731-739.
- Scherrer B.** 2007 *Biostatistiques, Volume 1, 2e édition*. Montréal: Gaëtan Morin éditeur.
- Schmid-Hempel, P.** 1998. *Parasites in social insects*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Schumann R. D.** 1992. Raiding behavior of the dulotic ant *Chalepoxenus muellerianus* (Finzi) in the field (Hymenoptera: Formicidae, Myrmicinae). *Insect. Soc.* 39, 325-333.
- Schumann, R. D. & Buschinger, A.** 1994. Imprinting effects on host-selection behaviour of colony-founding *Chalepoxenus muellerianus* (Finzi) females (Hymenoptera, Formicidae). *Ethology*, 97, 33-46.
- Schumann, R. D. & Buschinger, A.** 1995. Imprinting effects on host-selection behavior of slave-raiding *Chalepoxenus muellerianus* (Finzi) workers (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology*, 99, 243-251.
- Seger, J.** 1991. Relatedness, sex ratios, and controls. *Science*, 254, 384.
- Seifert, B.** 2007. *Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas*. Tauer: Lutra Verlags- und Vertriebsgesellschaft.
- Silverman, J. & Liang, D.** 2001. Colony disassociation following diet partitioning in a unicolonial ant. *Naturwissenschaften*, 88, 73-77.
- Smith, J. A., Tierney, S. M., Park, Y. C., Fuller, S. & Schwarz, M. P.** 2007. Origins of social parasitism: The importance of divergence ages in phylogenetic studies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43, 1131-1137.
- Soroker, V., Vienne, C., Hefetz, A. & Nowbahari, E.** 1994. The postpharyngeal gland as a "Gestalt" organ for nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*. *Naturwissenschaften*, 81, 510-513.
- Soroker, V., Vienne, C. & Hefetz, A.** 1995. Hydrocarbon dynamics within and between nestmates in *Cataglyphis niger* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Chem. Ecol.*, 21, 365-378.
- Soroker, V., Lucas, C., Simon, T., Fresneau, D., Durand, J. L. & Hefetz, A.** 2003. Hydrocarbon distribution and colony odour homogenisation in *Pachycondyla apicalis*. *Insect. Soc.*, 50, 212-217.
- Sprent P., Smeeton N. C.** 2001. *Applied Nonparametric Statistical Methods*. Chapman and Hall: 3d ed.
- Starks, P. T., Watson, R. E., Matthew, M. J. & Dipaola, C. P.** 1998. The effect of queen number on nestmate discrimination in the facultatively polygynous ant *Pseudomyrmex pallidus* (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology*, 104, 573-584.



- Strassmann, J. E., Page, R. E., Jr., Robinson, G. E. & Seeley, T. D.** 2011. Kin selection and eusociality. *Nature*, 471, E5-E6.
- Stroeymeyt, N., Brunner, E. & Heinze, J.** 2007. "Selfish worker policing" controls reproduction in a Temnothorax ant. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 61, 1449-1457.
- Stuart, R. J. & Alloway, T. M.** 1982. Territoriality and the origin of slave raiding in leptothoracine ants. *Science*, 215, 1262-1263.
- Stuart, R. J. & Alloway, T. M.** 1983. The slave-making ant, *Harpagoxenus canadensis* M.R. Smith, and its host-species, *Leptothorax muscorum* (Nylander): slave raiding and territoriality. *Behaviour*, 85, 58-90.
- Stuart, R. J.** 1988. Collective cues as a basis for nestmate recognition in polygynous leptothoracine ants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 85, 4572-4575.
- Stuart, R. J.** 1992. Nestmate recognition and the ontogeny of acceptability in the ant, *Leptothorax curvispinosus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 30, 403-408.
- Sturgis S. J. & Gordon D. M.** 2012. Nestmate recognition in ants (Hymenoptera: Formicidae): a review. *Myrmecol. News* 16, 101-110.
- Stumper, R. & Kutter, H.** 1950. Sur le stade ultime du parasitisme social chez les fourmis, atteint par *Teleutomyrmex Schneideri* (subtrib. nov.; gen. nov.; spec. nov. Kutter). *C. R. Sean. Acad. Sci.*, 231, 876-878.
- Sumner, S., Aanen, D. K., Delabie, J. & Boomsma, J. J.** 2004. The evolution of social parasitism in *Acromyrmex* leaf-cutting ants: a test of Emery's rule. *Insect. Soc.*, 51, 37-42.
- Tamarri, V., Castracani, C., Grasso, D. A., Visicchio, R., Le Moli, F. & Mori, A.** 2009. The defensive behaviour of two *Formica* slave-ant species: coevolutionary implications with their parasite *Polyergus rufescens* (Hymenoptera, Formicidae). *Italian Journal of Zoology*, 76, 229-238.
- Tannure-Nascimento, I. C., Nascimento, F. S., Dantas, J. O. & Zucchi, R.** 2009. Decision rules for egg recognition are related to functional roles and chemical cues in the queenless ant *Dinoponera quadriceps*. *Naturwissenschaften*, 96, 857-861.
- Thompson, J. N.** 1994. *The coevolutionary process*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Thompson, J. N.** 1999. Specific hypotheses on the geographic mosaic of coevolution. *American Naturalist*, 153, S1-S14.
- Thompson, J. N.** 2005a. Coevolution: The geographic mosaic of coevolutionary arms races. *Current Biology*, 15, R992-R994.

- Thompson, J.N.** 2005b. *The geographic mosaic of coevolution*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Topoff, H., Cover, S., Greenberg, L., Goodloe, L. & Sherman, P.** 1988. Colony founding by queens of the obligatory slave-making ant, *Polyergus breviceps*: the role of the Dufour gland. *Ethology*, 78, 209-218.
- Topoff, H.** 1990. Slave-making ants. *Am. Scient.*, 78(6), 520-528.
- Trivers, R. L. & Hare, H.** 1976. Haplodipoidy and the evolution of the social insects. *Science*, 191, 249-263.
- Vander Meer, R. K.** 1988. Behavioral and biochemical variation in the fire ant, *Solenopsis invicta*. In: *Interindividual behavioral variability in social insects* (Ed. By Jeanne, R.L.), pp. 223-255. Boulder, CO. 456p.: Westview Press.
- Vander Meer, R. K., Saliwanchik, D. & Lavine, B.** 1989. Temporal changes in colony cuticular hydrocarbon patterns of *Solenopsis invicta*: Implications for nestmate recognition. *J. Chem. Ecol.*, 15, 2115-2125.
- Vander Meer, R. K. & Morel, L.** 1998. Nestmate recognition in ants. In: *Pheromone communication in social insects* (Ed. by Vander Meer, R. K., Breed, M., Winston, M. & Espelie, K. E.), pp. 79-103. Boulder, CO. 368 p.: Westview Press.
- Van Valen, L.** 1973. A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*, 1, 1-30.
- van Zweden, J. S., Dreier, S. & d'Ettorre, P.** 2009a. Disentangling environmental and heritable nestmate recognition cues in a carpenter ant. *J. Insect Physiol.*, 55, 158-163.
- van Zweden, J. S., Heinze, J., Boomsma, J. J. & d'Ettorre, P.** 2009b. Ant queen egg-marking signals: matching deceptive laboratory simplicity with natural complexity. *PLoS ONE*, 4(3), e4718, 7 p.
- van Zweden, J. S. & d'Ettorre, P.** 2010 Nestmate recognition in social insects and the role of hydrocarbons. In *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology* (eds. G. J. Blomquist & A. Bagnères ), pp. 222-243. Cambridge: Cambridge University Press.
- Vepsäläinen, K., Ebsen, J. R., Savolainen, R. & Boomsma, J. J.** 2009. Genetic differentiation between the ant *Myrmica rubra* and its microgynous social parasite. *Insect. Soc.*, 56, 425-437.
- Via, S.** 2001. Sympatric speciation in animals: the ugly duckling grows up. *Trends Ecol. Evol.*, 16, 381-390.
- Vienne, C., Bagnères, A. G., Lange, C. & Errard, C.** 1990. Étude chimique de la reconnaissance interindividuelle chez *Myrmica rubra* et *Manica rubida* (Formicidae, Myrmicidae) élevées en colonies mixtes artificielles. *Actes Coll. Insect. Soc.*, 6, 261-265.

- Vienne, C., Soroker, V. & Hefetz, A.** 1995. Congruency of hydrocarbon patterns in heterospecific groups of ants: transfer and/or biosynthesis? *Insect. Soc.*, 42, 267-277.
- Visicchio, R., Sledge, M. F., Mori, A., Grasso, D. A., Le Moli, F., Turillazzi, S., Moneti, G., Spencer, S. H. & Jones, G. R.** 2000. Dufour's gland contents of queens of the slave-making ant *Polyergus rufescens* and its host species *Formica cunicularia*. *Ethol. Ecol. Evol.*, 12, 67-73.
- Visicchio, R., Mori, A., Grasso, D. A., Castracani, C. & Le Moli, F.** 2001. Glandular sources of recruitment, trail, and propaganda semiochemicals in the slave-making ant *Polyergus rufescens*. *Ethol. Ecol. Evol.*, 13, 361-372.
- Vogel, V., Pedersen, J. S., d'Ettorre, P., Lehmann, L. & Keller, L.** 2009. Dynamics and genetic structure of Argentine ant supercolonies in their native range. *Evolution*, 63, 1627-1639.
- Wagner, D., Brown, M. J. F., Broun, P., Cuevas, W., Moses, L. E., Chao, D. L. & Gordon, D. M.** 1998. Task-related differences in the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants, *Pogonomyrmex barbatus*. *J. Chem. Ecol.*, 24, 2021-2037.
- Wagner, D., Tissot, M., Cuevas, W. & Gordon, D. M.** 2000. Harvester ants utilize cuticular hydrocarbons in nestmate recognition. *J. Chem. Ecol.*, 26, 2245-2257.
- Wenseleers, T., Ito, F., van Borm, S., Huybrechts, R., Volckaert, F. & Billen, J.** 1998. Widespread occurrence of the micro-organism *Wolbachia* in ants. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 265, 1447-1452.
- Wenseleers, T. & Ratnieks, F. L. W.** 2006. Comparative analysis of worker reproduction and policing in eusocial hymenoptera supports relatedness theory. *American Naturalist*, 168, E163-E179.
- Wilson, E. O.** 1971. *The insect societies*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Wilson, E. O.** 1975a. *Sociobiology. The new synthesis*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Wilson, E. O.** 1975b. Slavery in ants. *Sci. Am.*, 232(6), 32-36.
- Wilson, E. O. & Holldobler, B.** 2005a. The rise of the ants: a phylogenetic and ecological explanation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 7411-7414.
- Wilson, E. O. & Holldobler, B.** 2005b. Eusociality: origin and consequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 13367-13371.
- Winter, U.** 1979. Untersuchungen zum Raubzugverhalten der dulotischen Ameise *Harpagoxenus sublaevis* (Nyl.). *Insect. Soc.*, 26, 123-135.

**Winter, U. & Buschinger, A.** 1983. The reproductive biology of a slavemaker ant, *Epimyrma ravouxi*, and a degenerate slavemaker, *E. kraussei* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomol. Gen.*, 9, 1-15.

**Yamaoka, R.** 1990. Chemical ecology of social insects. [in Japanese]. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* = *J. Agr. Chem. Soc. Jap.*, 64, 1749-1753 [Rev. Appl. Entomol. A 1779: 10390].



---

**Résumé :**

La réussite écologique des sociétés d'insectes, largement distribuées dans la biosphère et très peuplées, trouve en partie son explication dans l'organisation eusociale altruiste qu'elles ont adoptée. Ainsi, elles collaborent dans l'élevage et les soins consacrés à leurs jeunes congénères et participent au succès global de la colonie. Si de nombreux prédateurs et parasites profitent de cette ressource trophique, certaines espèces ont développé la capacité originale d'exploiter la force de travail que constitue la colonie. Parmi ces parasites sociaux, les fourmis esclavagistes en particulier réalisent régulièrement des raids sur les colonies de leurs espèces hôtes afin d'en piller le couvain et de renouveler constamment le stock d'esclaves. Cette stratégie originale applique une importante pression de sélection sur les espèces hôtes en affectant lourdement le taux de survie des colonies attaquées. Dès lors, on peut poser l'hypothèse que, dans cette course aux armements coévolutive qui lie l'hôte et le parasite, les mécanismes de reconnaissance des espèces seront les premiers affectés. Nos études montrent que les espèces sympatriques de la fourmi esclavagiste *Myrmoxenus ravouxi* sont moins tolérantes aux intrus qu'une espèce non-hôte. Nous montrons également que le parasite social est plus agressif vis-à-vis d'espèces hôtes, même non familières, laissant supposer l'existence de mécanismes sensori-cognitifs innés favorisant la préférence spontanée pour les espèces hôtes. Nous proposons un modèle théorique de reconnaissance qui pourrait permettre de mieux comprendre les schémas comportementaux de ce parasite. Nous discutons les implications évolutives de l'interaction hôte-parasite concernant la virulence parasitaire et la formation de la mosaïque géographique des espèces.

<b>Coevolution and social recognition in a slave-making ant species and its sympatric hosts and non-host species: The case of <i>Myrmoxenus ravouxi</i> and <i>Temnothorax</i> species.</b>
---

**Abstract :**

The ecological success of insect societies can partially be explained by the altruism displayed by their members. Social insects care for nestmates and thus increase the inclusive fitness of the colony. Insect societies have numerous predators and parasites, and some species have even developed an original strategy by diverting the entire labour force of colonies. Among these social parasites, slave-making ants invade and raid neighbouring colonies, heavily impacting their survival. We thus hypothesized that, in this arms race between hosts and parasites, recognition mechanisms are likely to be shaped by reciprocal constraints. Host species should discriminate and reject the parasite, while the slave-making ant has to be effective in finding suitable host colonies and break through their defences. We show that host species of the slave-making ant *Myrmoxenus ravouxi* are less tolerant than a non-host species. We also demonstrated that *M. ravouxi* displayed a more aggressive response toward familiar and unfamiliar host species, suggesting that partly innate sensorial or/and cognitive mechanisms are involved in host recognition by this slave-making ant. We formulate an original recognition model for *M. ravouxi* which could allow a better understanding of the behavioural patterns of this parasite. We also discuss the evolutive implications of host-parasite interaction regarding the parasite virulence and the set-up of geographic mosaic of species.

---

Discipline: Ethologie

---

**Mots-clés :**

Coévolution – Esclavagisme – Fourmis – Parasitisme Social – Reconnaissance sociale – *Myrmoxenus* – *Temnothorax*

---

Laboratoire d'éthologie expérimentale et comparée – Université Paris XIII – 93420 Villetaneuse