

UNIVERSITE PARIS XIII

THESE

Présentée pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XIII

Biologie des organismes
(Mention : Biologie du comportement)

Par

Damien DENIS

**Causes et conséquences de la polydomie
chez une fourmi ponérine monogyne
(*Pachycondyla goeldii*)**

Soutenue le 1 juin 2006 devant le jury composé de :

P. JAISSON	Professeur (Université Paris XIII)	Président
J. HEINZE	Professeur (Université de Regensburg, Allemagne)	Rapporteur
J. PASTEELS	Professeur Emérite (Université Libre de Bruxelles)	Rapporteur
X. CERDA	Directeur de Recherche (Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Espagne)	Examineur
T. MONNIN	Chargé de Recherche CNRS (Université Paris VI)	Examineur
C. ROULAND	Directeur de Recherche (Institut de Recherche pour le Développement)	Examineur
D. FRESNEAU	Professeur (Université Paris XIII)	Examineur Directeur

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée (CNRS UMR 7153)

Remerciements

Pour faire un doctorat il faut : un laboratoire d'accueil, un directeur de thèse,...

Je remercie Pierre Jaisson pour m'avoir accepté au sein de son équipe et de son laboratoire, ainsi que Dominique Fresneau pour avoir bien voulu me suivre à tous les niveaux au cours de ces années...

...il faut qu'un jury accepte de se déplacer et d'étudier un manuscrit pas forcément toujours très digeste,...

...je remercie Jürgen Heinze, Jacques Pasteels, Xim Cerda, Thibaud Monnin, Corinne Rouland, Luc Passera, et Pierre Jaisson d'avoir accepté cette tâche...

... il faut de nombreuses, longues et ardues discussions scientifiques,...

...merci, Ô combien merci à Stéphane Chameron, Rumsaïs Blatrix, Abraham Hefetz, Nicolas Châline, Dominique Fresneau, ainsi qu'à Cédric Alaux, Antoine Pezon, Léa zinck, Riviane Rodrigues da Hora, Jerome Orivel, Fabrice Savarit, Renée fénéron, ...

...il faut pouvoir relativiser,...

... merci Anne, ...

...il faut s'en sortir matériellement,...

...merci à mes Parents, merci Anne, ...

... il faut garder le moral quand ça ne va pas et profiter quand ça va,...

...merci Anne, merci à mes Parents et depuis peu à mon fils (je ne vous le dit pas souvent mais sachez que je vous aime), de profonds remerciements à mes amis les Popochiens : Seb, Antoine, Stéphane, Léa, Cédric, Gilles, Ghis, Marianne, depuis peu Manu, ceux hors popoche, les Perrots, Les Radojics, Les Denis de Bretagne, Les Cinnas, et tous les autres,...

... il faut être heureux d'aller au laboratoire chaque matin,...

...merci à Alain, Benoit, Elise, Fabien, Christophe, Patrick, Nicolas, Monique, Catherine, Marie Claire, Simone, Paul, Daphnée, Clovis, Mélanie, Olivier pour résumer, à toutes les personnes qui font et qui ont fait de ce laboratoire un endroit qui m'a été agréable,...

... il faut des étudiants prêts à accepter de travailler jusqu'à pas d'heure sans rechigner et avec le sourire,...

...merci Arnaud et Léna,...

...Il faut être capable d'accepter la critique,...

...merci sincèrement à tous les referees anonymes qui ont su me répondre par des critiques constructives, même si un peu plus de réponses positives ne m'auraient pas forcément dérangé...

... il faut des fourmis,...

...merci et désolé c'était vraiment pas personnel,...

et surtout il faut avoir un sacré grain de folie, voir même un rocher...de folie.

...

*À la mémoire du passé et aux espoirs du futur
À mon frère David et à mon fils Liam*

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	7
1. EUSOCIALITE	8
2. LA COLONIE : RESULTAT DE PRESSIONS EXTERNES ET INTERNES	10
3. LES PRESSIONS EXTERNES : LES CONTRAINTES ENVIRONNEMENTALES	13
3.1. <i>Les ressources trophiques</i>	14
3.2. <i>Les conditions microclimatiques</i>	15
3.3. <i>Conclusion</i>	16
4. LES PRESSIONS INTERNES : LES CONFLITS INTRA-COLONIAUX	17
4.1. <i>Le conflit reine/ouvrière pour le sex-ratio</i>	17
4.2. <i>Le conflit reine/ouvrière pour l'investissement dans la reproduction</i>	18
4.3. <i>Les conflits pour la production des mâles</i>	19
4.4. <i>Conclusion</i>	20
5. <i>PACHYCONDYLA GOELDII</i> : UNE PONERINE ARBORICOLE	21
5.1. <i>Les ponerinae</i>	21
5.2. <i>Pachycondyla goeldii</i>	22
6. OBJECTIF GENERAL.....	24
6.1. <i>Problématique</i>	24
6.2. <i>Déroulement de l'étude</i>	25
CHAPITRE I : LES PARAMÈTRES ENVIRONNEMENTAUX	26
1. INTRODUCTION	27
1.1. <i>Contraintes environnementales</i>	27
1.2. <i>Des contraintes changeantes pour Pachycondyla goeldii</i>	28
2. <i>P. GOELDII</i> , UNE FOURMI MONOGYNE POLYDOMIQUE.....	28
2.1. <i>Une structure sociale évolutive</i>	28

2.2. <i>Ponérine monogyne et polydomique : des caractéristiques improbables</i>	29
2.3. <i>Une structure sociale conséquence de la pression environnementale</i>	30
3. MANUSCRIT #1	32
3.1. <i>Summary</i>	33
3.2. <i>Introduction</i>	34
3.3. <i>Materials and methods</i>	36
3.4. <i>Results</i>	38
3.5. <i>Discussion</i>	42
CHAPITRE II : LES CONFLITS INTRA-COLONIAUX	48
1. INTRODUCTION	49
1.1. <i>Contexte d'expression des conflits</i>	49
1.2. <i>P. goeldii : la monogynie conséquence de luttes royales</i>	50
2. LES CONFLITS AU SEIN DES SOCIÉTÉS MATURES DE <i>P. GOELDII</i>	52
2.1. <i>Conflits inter-caste</i>	54
2.2. <i>Conflit intra-caste</i>	55
3. MANUSCRIT #2	58
3.1. <i>Summary</i>	59
3.2. <i>Introduction</i>	61
3.3. <i>Materials and methods</i>	64
3.4. <i>Results</i>	66
3.5. <i>Discussion</i>	70
4. MANUSCRIT #3	74
4.1. <i>Summary</i>	75
4.2. <i>Introduction</i>	76
4.3. <i>Materials and methods</i>	80
4.4. <i>Results</i>	85
4.5. <i>Discussion</i>	93
CHAPITRE III : LES SIGNAUX CHIMIQUES	97

1. INTRODUCTION	98
1.1. De l'indice au signal	98
1.2. Des signaux multiples.....	98
2. LES SIGNAUX CHIMIQUES ET LEURS FONCTIONS CHEZ <i>P. GOELDII</i>	100
2.1. Description de 3 types de signaux chimiques chez <i>P. goeldii</i>	100
2.2. L'intégration multiple de signaux	101
3. MANUSCRIT #4 :	104
3.1. Summary.....	105
3.2. Introduction.....	106
3.3. Materials and methods	109
3.4. Results	114
3.5. Discussion	126
4. MANUSCRIT #5 :	132
4.1. Résumé	133
4.2. Introduction.....	134
4.3. Matériels et méthodes.....	137
4.4. Résultats	140
4.5. Discussion	144
DISCUSSION GÉNÉRALE	147
1. LA POLYDOMIE : CONSEQUENCE DES CONFLITS INTRA-COLONIAUX OU DE LA COMPETITION INTER-SPECIFIQUE ?.....	148
2. LE PARCOURS EVOLUTIF DE <i>PACHYCONDYLA GOELDII</i>	150
3. LA POLYDOMIE, POINT DE DEPART DES CONFLITS INTRA-COLONIAUX ?.....	152
4. LES HYDROCARBURES : INDICES OU SIGNAUX ?.....	154
5. CONCLUSION	156
RÉFÉRENCES	158



INTRODUCTION

1.

Eusocialité

Le succès écologique des fourmis est incontestable. Elles représentent plus de 10 000 espèces différentes réparties dans 16 sous-familles distinctes (Bolton, 1994). Elles se sont adaptées à la quasi-totalité des écosystèmes. Nombre d'estimations confirment ainsi leur réussite : les 2% d'espèces d'insectes auxquelles correspondent les fourmis représentent plus d'un tiers de la biomasse animale totale (Wilson & Holldobler, 2005), une biomasse quatre fois plus importante que celle de la totalité des vertébrés en Amazonie (Fittkau & Klinge, 1973). Ainsi dans certains biotopes, les fourmis sont inévitables comme dans le Grand Erg saharien algérien où elles correspondent à 96% des invertébrés (Bernard, 1972).

La clé de leur succès provient sans doute de leur capacité à développer des sociétés incomparables en termes de complexité, de gigantisme et de fonctionnement. Les fourmis sont des insectes sociaux mais il existe plusieurs degrés de socialité. Certaines caractéristiques développées par la majorité des espèces de fourmis ont poussé les biologistes à les considérer comme eusociales (Wilson, 1971).

Ce terme est réservé aux espèces présentant l'ensemble des caractères suivants :

- Division des rôles avec spécialisation d'un nombre restreint d'individus dans la reproduction

- Superposition de plusieurs générations adultes dans un même groupe social

- Elevage coopératif des jeunes

Cependant, des concepts moins restrictifs sur l'évolution de la socialité permettent de replacer les fourmis dans le continuum évolutif des espèces sociales (Gadagkar, 1994 ; Sherman et al., 1994). Si cette représentation de l'évolution sociale rend moins

incontournable l'exemple des sociétés de fourmis, elle a le mérite de les replacer dans un contexte plus général (Aron & Passera, 2000). Selon cette représentation, toutes les espèces de fourmis n'ont pas le même niveau d'**eusocialité**. Si la majorité des espèces, comme celles appartenant à la sous-famille des Formicinae, peuvent être qualifiées d'**eusociales évoluées**, d'autres espèces, telles que les espèces parthénogénétiques e.g. *Pristomyrmex pungens* (Itow et al., 1984), ne sont considérées que comme des espèces **eusociales primitives** (Tableau 1).

Degrés de socialité	Inter attraction	Comportements parentaux	Site d'élevage commun	Coopération dans les soins aux jeunes	Élevage communautaire des jeunes/s spécialisation des tâches	Individus spécialisés dans la reproduction (castes)
Solitaire						
Grégaire	+					
Subsocial	+	+				
Colonial	+	+	+			
Communal	+	+	+	+		
Eusocial primitif	+	+	+	+	+	
Eusocial évolué	+	+	+	+	+	+

Tableau 1 : Les degrés de la socialité selon Aron & Passera (2000)

Chez les Formicidae, les colonies sont majoritairement composées de deux castes d'individus : les reines spécialisées dans la reproduction qui pondent la majorité des œufs, et les ouvrières stériles qui accomplissent les tâches nécessaires à la maintenance de la colonie (Wilson, 1971 ; Passera, 1984 ; Hölldobler & Wilson, 1990). Les fourmis sont haplo/diploïdes : les mâles sont habituellement haploïdes tandis que les femelles (reines et ouvrières) sont diploïdes. Cette caractéristique mène à des asymétries d'apparentement entre les différents membres de la colonie. Ainsi les ouvrières sont plus apparentées à leurs sœurs ($r = \frac{3}{4}$) qu'à leur propre descendance ($r = \frac{1}{2}$) (Wilson, 1971 ; Hölldobler & Wilson, 1990).

Généralement, les ouvrières ne se reproduisent pas directement. Leur *fitness* (i.e. adéquation adaptative) est maximisée via la *fitness* de leurs sœurs. Hamilton définit ainsi le concept d'*inclusive fitness* (i.e. adéquation adaptative globale) : l'*inclusive fitness* d'un individu correspond à la somme de sa *fitness* directe et de celle de ses apparentés (*fitness* indirecte) en fonction de leur degré d'apparentement. La théorie de la sélection de parentèle, appliquée à un tel système, pourrait permettre de comprendre l'émergence de la socialité chez les hyménoptères par sélection des individus prodiguant leurs soins préférentiellement aux membres les plus apparentés (Hamilton, 1964a, b).

Les sociétés de fourmis sont diverses et variées en bien des points (taille, structure coloniale, etc.). Certaines espèces peuvent ainsi présenter plusieurs millions d'individus (e.g., *Formica rufa* : Brian, 1965 ; *Polyrhachis debilis* : Wilson, 1959) lorsque d'autres n'en possèdent jamais plus d'une dizaine (e.g., *Adelomyrmex biroi* : Wilson, 1959 ; *Myrmoteras barbouri* : Moffett, 1986). Les colonies peuvent être localisées dans un nid unique (e.g., *Formica pratensis* , *F. lugubris*, *F. rufa* : Pamilo, 1987) ou au contraire dans plusieurs nids (e.g., *Camponotus detritus* : Curtis, 1985 ; *Gigantiops destructor* : Beugnon et al., 2001). Il est difficile de mettre en évidence les facteurs qui entraînent l'émergence de ces différents types de sociétés.

2. La colonie : résultat de pressions externes et internes

La théorie de l'évolution darwinienne explique qu'une espèce s'adapte à son milieu par sélection des individus les plus performants (Darwin, 1859). De fait, chaque individu est soumis aux contraintes qui caractérisent son environnement. Les recombinaisons et mutations génétiques induisent de la variabilité inter-individuelle transmissible aux descendants. Les

nouveaux caractères ainsi créés peuvent alors donner un avantage à l'individu qui les développe en le rendant plus performant dans la réussite de tâches nécessaires à sa survie. Ces performances se traduisent par une augmentation de la *fitness* des individus concernés. Le nouveau phénotype se voit alors sélectionné et maintenu dans la population grâce au succès reproducteur qu'il confère aux individus qui le possèdent.

Certains auteurs considèrent que la sélection naturelle agit exclusivement au niveau individuel (Williams, 1966). Suite à de multiples controverses exposées par Reeve & Keller (1999), Wynne-Edwards a proposé qu'elle pourrait aussi s'appliquer aux groupes (Wynne-Edwards, 1962, 1993). L'approche de sélection de groupe de Wynne-Edwards - très critiquée - considérait la population en tant que groupe et proposait ainsi une adaptation au niveau de la population afin de prévenir sa propre extinction. De nouvelles définitions bien moins controversées de la sélection de groupe ont maintenant vu le jour (Wilson, 1975 ; Wade, 1978 ; Wilson, 1980). Selon une définition de Wilson (1997a) "*Group selection is the process of natural selection operating at the level of groups rather than individuals. Group selection favors traits that increase the fitness of groups relative to other groups.*" La sélection de groupe nous pousserait à voir la colonie non plus comme un groupe d'individus mais comme une entité à part entière. La structure sociale, le fonctionnement, et en fait l'ensemble des caractéristiques de ce super-organisme constituerait alors une réponse aux contraintes environnementales externes au groupe dans le cadre de la compétition **inter-groupe**.

Selon cette définition, la sélection de groupe n'est en fait qu'une conséquence de la sélection individuelle. Ainsi Hamilton (1975) indique que la théorie de l'inclusive *fitness* inclut une composante de la sélection de groupe. Wade (1978) explique que la sélection de groupe ne peut être envisagée que si les individus qui constituent ce groupe sont apparentés car les individus voient alors leurs *fitness* augmenter avec le succès du groupe.

De nombreux auteurs proposent alors que la sélection puisse agir simultanément à différents niveaux définissant ainsi le concept de **sélection multi-niveaux** (e.g., Lewontin, 1970 ; Gould, 1980 ; Bourke & Franks, 1995 ; Mayr, 1997 ; Wilson, 1997a, b, c ; Keller, 1999). La sélection de groupe serait alors basée sur les intérêts particuliers des individus qui bénéficieraient indirectement du succès de leurs congénères. La sélection pourrait donc agir au niveau de l'individu, elle n'augmenterait alors que la *fitness* de l'individu au sein du groupe (**sélection intra-groupe**). Dans le même temps, elle pourrait agir au niveau du groupe elle augmenterait alors la *fitness* de tous les membres dans la *fitness* générale du groupe : la *fitness* coloniale (**sélection inter-groupe**) (voir Wilson, 1997a).

Ainsi dans une colonie de fourmis le phénotype d'une ouvrière peut être sélectionné s'il augmente la représentation des sexués lui étant apparentés au sein de la colonie. Par exemple, en développant des comportements individuels qui rendront l'individu plus performant dans sa gestion des conflits reproductifs (voir l'exposé ci-dessous) et donc augmenteront sa représentation génétique au sein de la colonie : on parlera ici, de **sélection intra-groupe**. Un second phénotype peut être sélectionné s'il donne un avantage à la colonie dans son ensemble. Par exemple, la colonie pourrait développer une structure polydomique (i.e. colonie formée de plusieurs nids physiquement dispersés dans l'espace) qui maximiserait la dispersion des sexués. De fait, la reproduction de cette colonie serait plus performante que celle des colonies n'ayant pas développé ce phénotype. La représentation génétique des individus de cette colonie au sein de la population serait augmentée puisque la colonie plus performante augmenterait les chances de succès des sexués qu'elle produit. La sélection agirait alors au niveau de la colonie puisqu'elle aura augmenté la *fitness* de cette colonie relativement aux autres colonies : on parlera alors de sélection **inter-groupe**.

Dans un tel schéma, les contraintes environnementales et la compétition intra-spécifique pourraient à elles seules expliquer l'évolution des colonies si l'ensemble des individus qui constituaient ce groupe possédaient strictement le même patrimoine génétique. Leurs intérêts personnels convergents s'associeraient alors en un intérêt commun : l'intérêt du groupe. Cependant nous le verrons par la suite que chez les fourmis, les individus du groupe, bien que relativement apparentés, ont gardé des intérêts divergents. On ne peut donc pas se limiter à la recherche des contraintes externes d'une colonie pour expliquer son évolution. La colonie serait le résultat d'un équilibre entre les pressions externes à la colonie (principalement des contraintes environnementales) et les pressions internes que constituent les intérêts divergents des individus de la colonie (Wade, 1982 ; Bourke & Franks, 1995 ; Keller, 1999). Tentons d'évaluer quelques-unes des pressions externes et internes à la base de la structure sociale des colonies de fourmis.

3. Les pressions externes : les contraintes environnementales

Comme n'importe quel organisme, chaque colonie a besoin d'une niche écologique pour survivre, niche caractérisée à la fois par des contraintes microclimatiques, d'espace ou encore de nourriture. Chacun de ces paramètres peut avoir une influence sur la structure sociale et le fonctionnement des colonies. Intéressons-nous d'une part aux ressources trophiques et d'autre part aux conditions microclimatiques nécessaires à la survie des colonies.

3.1. Les ressources trophiques

Si la plupart des espèces de fourmis sont généralistes (Passera, 1984 ; Hölldobler & Wilson, 1990), d'autres se sont spécialisées dans l'exploitation de ressources difficilement accessibles ou assimilables. Ainsi la symbiose des Attines avec leur champignon leur permet d'exploiter les feuilles de diverses plantes comme ressource primaire (Kannowski, 1972 ; Weber, 1972). D'autres fourmis ont adopté des outils physiques et comportementaux adaptés à leurs proies. Certaines espèces se sont par exemple spécialisées dans la chasse des termites (e.g., *Ophthalmopone ilgi*, *Centromyrmex feae*, *Termitopone*, référencé dans Wheeler, 1936). D'autres, suite à des phénomènes de coévolution, deviennent quasiment les uniques prédateurs d'une espèce particulière comme les *Thaumatomyrmex* vis-à-vis des *Penicilata* (Brandão, 1983 ; Delabie et al., 2000).

La contrainte d'exploitation des ressources est liée à la disponibilité des ressources dans l'environnement, mais aussi à la quantité de compétiteurs exploitant le même type de ressources (Brian et al., 1966 ; Lynch et al., 1980 ; Davidson, 1985 ; Rosengren, 1986 ; Savolainen & Vepsäläinen, 1988 ; Vepsäläinen & Savolainen, 1990 ; Andersen, 1992 ; Andersen & Patel, 1994 ; Human & Gordon, 1996). Pour certaines espèces, ces compétitions sont si établies qu'elles donnent parfois lieu à la mise en place d'actes ritualisés de dominance entre les fourrageuses d'espèces différentes pendant l'exploitation d'une ressource trophique (Savolainen & Vepsäläinen, 1988 ; Mercier & Dejean, 1996).

Au-delà de la dominance relative entre espèces, d'autres facteurs influent sur la contrainte que constitue l'exploitation des ressources trophiques. Par exemple, la vitesse de rapatriement d'une ressource : elle sera d'autant plus rapide que la distance nid/ressource est courte. Une colonie située à proximité d'une ressource sera donc capable de l'exploiter plus

rapidement qu'une colonie plus éloignée, la mettant ainsi plus rapidement hors d'atteinte des compétiteurs. Ainsi la structure sociale que constitue la polydomie (i.e. colonie formée de plusieurs nids physiquement dispersés dans l'espace) peut répondre à la contrainte que constituerait une nourriture dispersée dans l'espace et très convoitée par les autres espèces. Mais les mouvements coloniaux constitués par les déménagements peuvent aussi contribuer à rapprocher les colonies de certaines sources, ceci impliquant nécessairement des structures de nidification simples. Ainsi certaines espèces ont développé la capacité d'établir des nids à proximité de ressources nutritives relativement pérennes (Holway & Case, 2000) prenant, là encore, un avantage décisif vis-à-vis des compétiteurs sur l'exploitation de ces ressources.

3.2. Les conditions microclimatiques

C'est principalement de l'emplacement du nid qui abrite la colonie que dépend la qualité des conditions microclimatiques nécessaires à sa survie, la compétition inter-spécifique apparaît donc là aussi être importante. Le difficile choix du site de nidification couplé à l'importante compétition pour ces sites rendent les bons emplacements rares et convoités (Hölldobler & Wilson, 1977 ; Rosengren & Pamilo, 1983 ; Herbers, 1993). D'ailleurs, certaines espèces n'hésitent pas à déloger des colonies établies afin de prendre leur place (Yamaguchi, 1992 ; Cerdá & Retana, 1998).

Les structures préexistantes prêtes à accueillir des colonies de fourmis sont donc limitées et soumises à une importante compétition entre les différentes espèces qui les exploitent. Ces structures préexistantes sont généralement éphémères et peuvent ainsi devenir rapidement impropres à la survie de la colonie (Foitzik & Heinze, 1998). En réponse à ces pressions, de nombreuses espèces ont acquis la capacité de construire des nids plus solides et placés dans des lieux correspondant au mieux aux conditions microclimatiques recherchées.

On observe ainsi chez les espèces terricoles la formation de structures souterraines creusées (e.g., *Ectatomma tuberculatum* : Delabie, 1990 ; *Veromessor pergandei* : Wheeler & Rissing, 1975). Dans les milieux arboricoles, certaines utilisent un complexe de feuilles liées entre elles en guise de nid (e.g., *Oecophylla longinoda*, *Oecophylla smaragdina* : Hölldobler & Wilson, 1983). D'autres élaborent des jardins de fourmis en plantant des graines d'épiphytes et en construisant leurs nids au sein des plantes (e.g., *Camponotus femoratus*, *Azteca traili* : Kleinfeldt, 1986 ; Davidson, 1988).

Quels que soient les types de nids utilisés, les conditions microclimatiques peuvent évoluer et devenir inadaptées au cours du temps. De tels changements mènent souvent au déménagement des colonies (Brian, 1956 ; Smallwood, 1982 ; Banschbach et al., 1997). Il faut cependant rappeler qu'un tel fonctionnement colonial est grandement facilité par l'utilisation de nids peu coûteux en termes de construction.

3.3. Conclusion

Les pressions externes que constituent les conditions microclimatiques et l'accès aux ressources nutritives peuvent à elles seules expliquer un bon nombre de structures et de fonctionnements coloniaux (Wilson & Holldobler, 2005). La structure monodominique ou polydominique d'une colonie peut ainsi répondre à l'accessibilité et à la fréquence des ressources exploitées par ses membres. De plus, certaines colonies peuvent répondre à la fluctuation des conditions microclimatiques en construisant leur propre nid. Elles ont ainsi la possibilité de choisir le meilleur site de nidification sans se restreindre aux emplacements limités des structures préexistantes. De leur côté, les déménagements coloniaux permettent une réponse rapide à la fluctuation des conditions microclimatiques.

4. Les pressions internes : les conflits intra-coloniaux

Intéressons-nous maintenant à quelques-unes des pressions internes à la colonie. Elles proviennent principalement des asymétries d'apparement qui lient les différents membres d'une même colonie. Comme cela a été indiqué précédemment, ces asymétries d'apparement couplées au concept d'*inclusive fitness* permettent d'expliquer l'émergence de la socialité chez les fourmis. Cependant ces asymétries pourraient avoir d'autres conséquences car chaque individu pourrait maximiser son *inclusive fitness* en jouant sur l'équilibre des différents types de sexués produits par la colonie (i.e. mâles/femelles). Lorsque les intérêts des individus qui forment les sociétés de fourmis sont contradictoires, ils donnent lieu à des conflits. Ces conflits opposent généralement les castes (reines et ouvrières) qui partagent en moyenne des relations génétiques comparables avec les différents types de reproducteurs (mâles et femelles). Au cours de ce travail nous nous concentrerons principalement sur quelques-uns des conflits existant dans les colonies monogynes monoandres.

4.1. Le conflit reine/ouvrière pour le sex-ratio

Ce conflit évoqué par Trivers & Hare (1976) et largement repris dans la littérature (e.g., Crozier & Pamilo, 1996 ; Queller & Strassmann, 1998 ; Chapuisat & Keller, 1999) serait une conséquence directe de l'haplo-diploïdie. Effectivement un mâle étant haploïde, ses gamètes contiennent tous le même matériel génétique. Ainsi les ouvrières issues de l'unique fécondation d'une reine par un mâle partageront toujours la totalité du patrimoine génétique provenant de ce dernier ainsi que la moitié de celui de leur mère, la reine. Ces ouvrières partageront en moyenne $r : \frac{3}{4}$ de leurs gènes tandis qu'elles ne partageront que $r : \frac{1}{4}$ de leurs gènes avec leurs frères. Reine et ouvrières devraient produire un ratio de reproducteurs mâles

et femelles proportionnel à la quantité de gènes qu'elles partagent avec eux. Les reines tendraient à produire autant de sexués mâles que de femelles alors que les ouvrières auraient plutôt intérêt à produire $\frac{3}{4}$ de femelles pour $\frac{1}{4}$ de mâles.

4.2. Le conflit reine/ouvrière pour l'investissement dans la reproduction

Selon Pamilo (1991), les ouvrières et les reines auraient des intérêts divergents à investir dans la reproduction ou dans la maintenance de la colonie ; voir aussi (Bourke & Chan, 1999). L'investissement dans la reproduction est défini comme la quantité de sexués (mâles ou femelles) produits par la colonie, tandis que l'investissement dans la maintenance est défini comme la quantité d'ouvrières produites par cette colonie. L'investissement dans la reproduction implique un moindre investissement en ouvrières, ce qui aurait pour conséquence directe l'abaissement de la survie de la colonie (Oster & Wilson, 1978).

Le modèle proposé par Herbers et al. (2001) propose que ce conflit est lié au ***conflit reine/ouvrière pour le sex-ratio***. Effectivement la valeur reproductive d'un sexué mâle ou femelle est dépendante de la quantité du même type de sexués présents dans l'environnement. Concrètement il vaut mieux investir dans la production d'un type de reproducteurs lorsqu'il y en a peu dans l'environnement. Ceux-ci sont alors peu soumis à la compétition et ont de meilleures chances de se reproduire. Ainsi, en fonction du sex-ratio de la population et de celle de la colonie, il peut être plus ou moins intéressant d'investir dans la reproduction, quitte à abaisser la survie de la colonie. Cependant la proximité génétique entre les reines et les reproducteurs (mâles et femelles) produits par la colonie est différente de celle qui lie les ouvrières à ces mêmes individus. Ainsi la valeur du sex-ratio colonial pour lequel l'investissement reproducteur prime sur la survie de la colonie n'est pas le même pour les

deux castes. Cette divergence mène à l'établissement d'un *conflit entre la reine et les ouvrières pour l'investissement dans la reproduction*.

4.3. Les conflits pour la production des mâles

Ces derniers conflits nécessitent que les ouvrières aient gardé leur capacité de ponte. Chez de nombreuses espèces de fourmis, les ouvrières sont tout comme les reines, capables de produire des œufs haploïdes grâce à la parthénogénèse arrhénotoque (Bourke, 1988). Ces œufs ne peuvent se développer qu'en individus mâles qui ne participent généralement pas au maintien de la colonie. Ces mâles possèdent toujours la moitié du patrimoine génétique de leur mère (reine ou ouvrière). Cependant, les mâles produits par les ouvrières leur sont génétiquement plus proches que les mâles provenant de la ponte de la reine (en moyenne $r : 3/8$ contre $r : 1/4$). Les ouvrières auraient tout intérêt à remplacer le couvain mâle de la reine par le leur, induisant ainsi un *conflit reine/ouvrière pour la production des mâles* (e.g., Ratnieks, 1988 ; Hammond & Keller, 2004 ; Ratnieks et al., 2006). Dans les sociétés avec reine, ce conflit cache un second conflit sous-jacent. Chaque ouvrière a intérêt à pondre ses propres œufs plutôt que de laisser pondre ses sœurs puisqu'elle partage la moitié de ses gènes avec sa descendance contre seulement $r : 1/4$ avec celle de ses sœurs. La ponte des ouvrières doit être limitée car une trop grande quantité de couvain ne pourrait pas être gérée par l'ensemble des membres de la colonie (Wenseleers et al., 2004). Les ouvrières doivent alors s'opposer dans un *conflit ouvrière/ouvrière pour la production des mâles*. Ce conflit est plus habituellement observé dans les colonies qui ont perdu leur reine, dite colonies orphelines (Bourke, 1988). Dans ces sociétés orphelines, la colonie est vouée au déclin à moyen terme puisque plus aucune ouvrière ne sera formée, la caste reproductrice étant absente. La reproduction des ouvrières encore en vie constitue alors l'unique moyen de continuer à augmenter sa *fitness*.

4.4. Conclusion

Il faut noter que ces conflits d'intérêts déjà présents dans les colonies monogynes monoandres se complexifient lorsque les colonies développent de la polygynie et/ou de la polyandrie. Dans ce cas de nouveaux conflits opposant les individus issus de matri-lignées ou de patri-lignées différentes viennent s'ajouter aux premiers conflits opposant déjà la reine aux ouvrières (Figure 1) (Keller, 1999 ; Hannonen & Sundstrom, 2003 ; Ratnieks et al., 2006).

Les conflits intra-coloniaux se manifestent donc principalement au niveau de la reproduction des colonies. La quantité de mâles et de femelles formée par celle-ci et le moment où ils sont formés sont donc liés aux relations génétiques qu'entretiennent les différents

membres de la colonie. Il semble donc que les pressions internes à la colonie influencent la reproduction des colonies, on ne peut cependant pas conclure qu'elles soient les uniques facteurs influençant cette reproduction. Ainsi certaines colonies développent des sexuées femelles principalement dans les nids qui ne contiennent pas de reines (Ito et al., 1988 ; Snyder & Herbers, 1991 ; Banschbach & Herbers, 1996 ; Cerdá et al., 2002). D'autres développent principalement des ouvrières dans les nids situés en bordure des limites

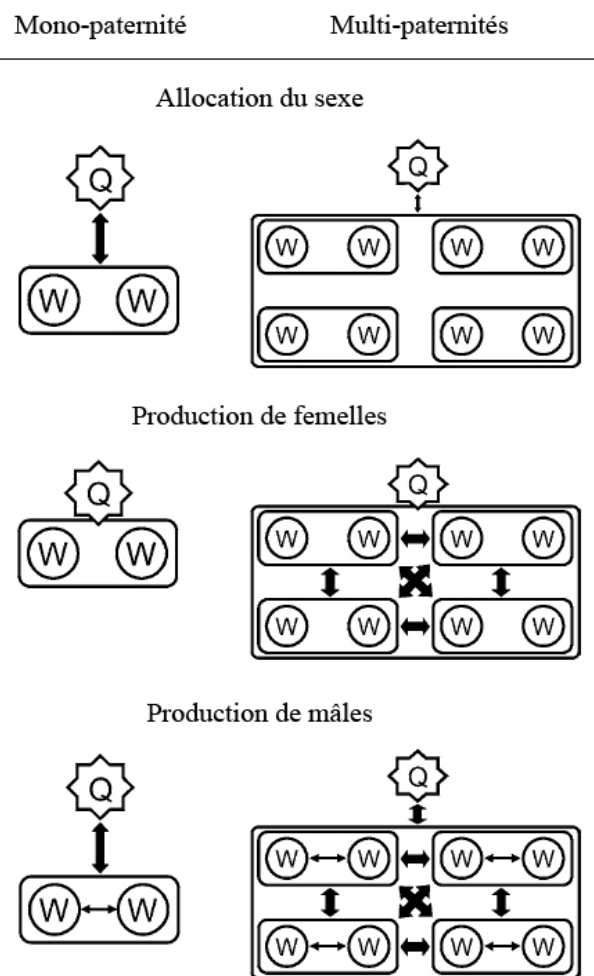


Figure 1 : Conflits potentiels dans les sociétés d'hyménoptères provenant d'une reine et d'un mâle (colonne gauche) ou quatre mâles (colonne droite). Le rectangle externe représente toute les ouvrières. Les rectangles internes (colonne droite) représente les ouvrières de pères différents. Les flèches représentent les conflits, et leur taille le niveau du conflit relativement aux autres flèches pour ce conflit particulier. Modifié à partir de (Ratnieks et al., 2006).

territoriales de la colonie (Walin et al., 2001). Ce type de biais pourrait permettre d'optimiser la reproduction de la colonie en terme de dispersion de sexués en réponse à des contraintes telle que la disponibilité des sites de nidification. Dans ces cas de figure il devient difficile de faire la part des choses entre l'influence des pressions externes et internes à la colonie sur le comportement reproductif de la colonie.

5. *Pachycondyla goeldii* : une ponérine arboricole

5.1. *Les ponerinae*

Les Formicidae sont réparties en quinze sous-familles distinctes. Parmi elles, la sous-famille des ponerinae qui appartient au groupe des poneromorphes est sans doute l'une des plus diversifiées (Wilson & Holldobler, 2005). Elle compte plus de 1300 espèces différentes distribuées en 3 tribus (Bolton, 2003). Les ponerinae possèdent des caractéristiques considérées comme archaïques (Peeters, 1997). Ainsi ces fourmis forment en général des colonies de petite taille, même si certaines d'entre elles peuvent compter plusieurs dizaines de milliers d'individus comme *Pachycondyla lutéola* (Davidson & McKey, 1993 ; Verhaagh, 1994), un grand nombre de ces espèces ne comptent que quelques centaines d'individus. On considère que la faible fertilité des reines est la principale explication à ces petits effectifs (Peeters, 1997). Certaines particularités morphologiques et comportementales sont propres aux ponérines. L'absence de jabot social, dans cette sous-famille empêche toute trophallaxie. L'échange de nutriment liquide est alors assuré par des phénomènes de pseudo-trophallaxie : les substances liquides sont transportées sous forme de gouttelettes retenues dans l'espace triangulaire formé par les mandibules et la tête. L'absence de réserves métaboliques des reines de ponerinae rend impossible la fondation claustrale au sein de cette sous-famille. Effectivement les reines ne possédant que peu de réserves, elles se voient dans l'obligation de

sortir fourrager durant la phase de fondation. Enfin, contrairement à de nombreuses espèces considérées comme plus évoluées et qui construisent des nids complexes, l'utilisation de structures préexistantes pour établir son nid est répandue au sein des ponerines.

5.2. *Pachycondyla goeldii*

Pachycondyla goeldii appartient à la sous-famille des ponerinae, elle possède donc les caractéristiques communes aux espèces de cette sous-famille. Elle possède un mode de fondation semi claustrale, c'est-à-dire que les reines sont obligées de sortir de leur nid afin de fourrager. Le dimorphisme des reines est peu développé et leur fertilité est faible. Comme pour la majorité des espèces du genre *Pachycondyla*, les ouvrières de *P. goeldii* sont avant tout prédatrices, mais elles sont aussi capables d'utiliser les liquides sucrés que fournissent les nectaires extra-floraux ou autre miellat d'homoptères.

A la différence de la majorité des *Pachycondyla*, *P. goeldii* n'utilise pas de structures préexistantes, elle a acquis la faculté de construire son propre nid. De plus, *P. goeldii* est arboricole (Jeanne, 1979 ; Benson, 1985 ; Davidson & Epstein, 1989 ; Orivel, 2000). Cette faculté à vivre de façon arboricole a coïncidé avec la mise en place d'un grand nombre d'adaptations à la vie arboricole (Orivel, 2000). Ces caractéristiques sont de différents types : morphologiques, comportementales et physiologiques. Ainsi les ouvrières ont développé des prétarses, griffes tarsales et des arolias adaptés à la marche sur des substrats verticaux et inversés (Orivel et al., 2001). Les fourrageuses sont extrêmement agressives, rapides et agiles durant la chasse, ce qui leur permet de capturer la plupart des proies avant leur fuite (Orivel et al., 2000). Leur glande à venin contient des neurotoxiques et des histolytiques à action rapide et efficace (Orivel & Dejean, 2001). En plus de ces adaptations morphologiques, comportementales et physiologiques, *Pachycondyla goeldii* est capable d'initier des jardins de

fourmis. La première génération d'ouvrières élabore un nid en carton, la construction de carton étant un phénomène répandu chez les fourmis arboricoles (Longino, 1986 ; Davidson & Epstein, 1988). Une fois le carton construit, les ouvrières y incorporent des graines d'épiphytes. Les fourmis établissent alors leur colonie dans les racines des plantes issues de la germination de ces graines (Corbara & Dejean, 1996 ; Orivel et al., 1996 ; Orivel et al., 1998 ; Corbara et al., 1999).

La localisation géographique de *Pachycondyla goeldii* est difficile à définir car avant les récents travaux d'Orivel (2000), cette fourmi avait peu été étudiée. On la retrouve cependant mentionnée dans quelques études généralistes. Elle a ainsi été observée au nord du Brésil dans la région de Manaus en Amazonie (Jeanne, 1979 ; Madison, 1979 ; Benson, 1985 ; Davidson & Epstein, 1989). Les travaux d'Orivel ont, eux, été menés en Guyane Française (Orivel, 2000). Ces quelques points de récoltes nous laissent penser que cette espèce serait principalement répartie autour de fleuve Amazone.

6. Objectif général

6.1. Problématique

Les premiers théoriciens pensaient qu'il était possible de définir l'équation générale régissant la vie. Nous savons aujourd'hui qu'une telle équation relève de l'utopie. Cependant nous essayons toujours de modéliser la vie dans son ensemble en adoptant une démarche différente. Nous confrontons des exemples, réunissons les similitudes et séparons les dissemblances afin d'établir quelques-unes des multiples règles qui régissent la vie. Ce travail peut être qualifié d'incommensurable dans le cadre des insectes sociaux parce qu'il nécessite la compréhension de plusieurs milliers de sociétés différentes. L'objectif de ce travail est d'étudier un nouvel exemple de société de fourmis en définissant certaines des contraintes auxquelles sont soumises les colonies de *Pachycondyla goeldii* ainsi que les différentes adaptations qu'elles ont développées.

Nous avons vu précédemment que la structure sociale d'une société de fourmis pouvait être la résultante de plusieurs facteurs. Nous nous focaliserons sur deux de ces paramètres : d'une part les contraintes écologiques qui influencent la survie de la colonie dans son ensemble et d'autre part les conflits intra-coloniaux qui opposent les membres de la colonie. Nous nous interrogerons ainsi sur l'influence que chacun de ces deux facteurs ont sur les colonies. Nous tenterons donc de comprendre comment chacun de ces facteurs a pu agir sur l'évolution de la structure sociale des colonies tout en prenant en compte l'interaction des différentes réponses développées par *Pachycondyla goeldii* au cours de son évolution.

6.2. Déroulement de l'étude

Le présent rapport de thèse s'organise en trois chapitres, chacun articulé autour d'un ou deux manuscrits auxquels nous ajouterons quelques données supplémentaires.

Au cours du premier chapitre nous chercherons à déterminer les particularités de l'environnement colonisé par *P. goeldii*. Nous tenterons ainsi de comprendre en quoi la polydomie peut correspondre à une adaptation de cette espèce à son milieu.

Nous évoquerons ensuite l'expression des conflits au sein de ces sociétés, d'une part en décrivant et interprétant les comportements agonistiques observés à différents stades du développement de la colonie et d'autre part en identifiant la résultante de ces conflits en condition naturelle.

Enfin nous tenterons de comprendre quelques-uns des mécanismes qui régissent dans le même temps la cohésion et les conflits entre les différents individus et castes des sociétés. Dans cette dernière partie nous nous concentrerons sur les hydrocarbures et sur les comportements qu'ils déclenchent en fonction du contexte social de la colonie.



CHAPITRE I : LES PARAMÈTRES ENVIRONNEMENTAUX

1. Introduction

1.1. Contraintes environnementales

Pachycondyla goeldii colonise les zones arboricoles pionnières situées principalement en lisière de forêt et dans les « trous de lumières » libérés lors de la chute des grands arbres. Ces situations apparaissent couramment dans les grandes forêts humides, mais la déforestation due à l'anthropisation de ces milieux (chantiers, voies de circulations) tend à multiplier la formation de tels espaces. Ces zones sont dites pionnières car elles sont soumises à une colonisation par de nouvelles espèces végétales. La petite taille des jeunes plantes colonisatrices du milieu induit une faible couverture végétale accompagnée d'un grand ensoleillement du milieu (Dejean et al., 2000).

Parmi les contraintes de la vie arboricole, le nombre limité de sites de nidification favorables et les types de ressources alimentaires disponibles sont des facteurs importants à prendre en considération. Les conditions microclimatiques du milieu arboricole sont différentes des conditions du sol : il s'agit d'un milieu plus sec où la rétention de l'eau est bien moindre qu'au sol (Hölldobler & Wilson, 1990 ; Davidson, 1997).

Enfin les aspects de la compétition interspécifique qui interviennent dans ces zones évoluent au cours du temps. Effectivement la recolonisation des zones défrichées par les plantes s'accompagne d'une colonisation des plantes par les insectes arboricoles. Ainsi, si la compétition entre espèces de fourmis est faible dans les premières années de la recolonisation, elle devient conséquente au fur et à mesure de l'arrivée de nouvelles espèces compétitrices (Orivel, 2000).

1.2. Des contraintes changeantes pour *Pachycondyla goeldii*

Les colonies de *Pachycondyla goeldii* de par leur capacité à initier des jardins de fourmis sont capables de commencer à coloniser leur milieu de vie avant l'arrivée des espèces compétitrices. En effet, elles disposent d'un répertoire comportemental leur permettant de pallier à l'une des principales ressources manquantes dans les zones arboricoles pionnières : le site de nidification. Ainsi en érigeant leurs propres jardins de fourmis là où aucune autre espèce ne peut s'installer, *P. goeldii* jouit d'une certaine liberté dans les débuts de sa vie coloniale. Cependant le vieillissement de la zone pionnière s'accompagne de nombreuses évolutions dont un développement de la couverture végétale modifiant les paramètres microclimatiques et permettant de fait l'installation de nouvelles espèces colonisatrices.

P. goeldii n'est donc pas soumise aux mêmes contraintes tout au long de la vie de la colonie puisque les paramètres microclimatiques et la compétition pour l'accès aux sites de nidification augmentent avec l'âge des zones pionnières (Orivel, 2000).

2. *P. goeldii*, une fourmi monogyne polydomique

Présentation du manuscrit 1

2.1. Une structure sociale évolutive

La fourmi ponérine *Pachycondyla goeldii* est une espèce de fourmis monogyne (chaque colonie ne contient qu'une seule reine), colonisatrice des zones pionnières arboricoles. Les précédentes études menées sur *Pachycondyla goeldii* ont initialement caractérisé cette fourmi comme monodominique (un nid par colonie). Cependant le jeune âge des zones pionnières étudiées dans ces travaux laisse présager que les colonies, elles aussi, étaient jeunes. De plus,

la comparaison des nids collectés au cours de deux sessions de récoltes successives sur le même site (1994 et 2001) a montré une augmentation conséquente de nids sans reine ; 69% (n : 86) contre seulement 7% (n : 14) en 1994. Ces paramètres laissaient présager une certaine évolution des structures sociales des colonies de *P. goeldii* au cours de leur maturation. Nous nous sommes alors intéressés à la structure sociale des colonies matures de *P. goeldii*. Par des méthodes de prélèvements, de marquages et de réintroductions d'ouvrières dans leur nid d'origine, nous avons pu vérifier les déplacements de ces dernières entre différents nids. Cette observation pouvait s'expliquer par une structure polydomique ou par l'absence de fermeture coloniale. Afin d'étudier cette dernière hypothèse nous avons effectué des rencontres dyadiques d'ouvrières en fonction de leur nid d'origine et des échanges observés durant la manipulation précédente. Nous nous sommes alors rendus compte que (i) les ouvrières provenant de nids n'ayant effectué aucun échange se montraient extrêmement agressives au cours de ces rencontres et que (ii) les ouvrières prélevées dans le même nid ainsi que celles provenant de nids ayant effectué des échanges ne montraient aucune agressivité. L'ensemble de ces résultats montre clairement que les colonies matures de *P. goeldii* sont des sociétés fermées qui adoptent des structures polydomiques. Nos résultats indiquant un maximum de quatre nids par colonie pour une distance d'une dizaine de mètres entre les nids sont probablement sous-évalués puisque nombre d'ouvrières marquées n'ont jamais été retrouvées, ce qui laisse présager qu'elles se sont réfugiées dans des nids non accessibles.

2.2. Ponérine monogyne et polydomique : des caractéristiques improbables

Les études de Rosengren sur les Formica suggèrent que la polydomie soit une conséquence directe de la polygynie associée à une reproduction de type fission (Rosengren et al., 1993). On remarque effectivement que dans la littérature le nombre d'espèces de fourmis monogynes polydomiques est relativement peu important. Chez les fourmis ponérines qui, de

par leur faible taux de fécondité, sont condamnées à ne former que de petites colonies (Peeters, 1997), la polydomie semble encore plus improbable. Pourtant *Pachycondyla goeldii* qui cumule cette monogynie et ce faible taux de fécondité forme des colonies polydomiques. A notre connaissance, elle est la seule fourmi ponérine qui présente en même temps ces deux caractéristiques.

2.3. Une structure sociale conséquence de la pression environnementale

L'avantage principal que semble conférer la polydomie dans la majorité des espèces étudiées est un meilleur accès aux ressources (Hölldobler & Lumsden, 1980 ; McIver, 1991 ; Davidson, 1997 ; Holway & Case, 2000). Cependant nos études de terrain ont montré que les ouvrières de *P. goeldii* semblaient utiliser une autre particularité de la polydomie : la possibilité de déménager entre les différents nids de la colonie. Par le biais de ces mouvements, les ouvrières semblent fuir certains de leurs nids agressés pour en investir d'autres plus sains. Effectivement parmi les nids que nous avons perturbés au cours de nos séquences de marquage, quatre ont été totalement évacués par les ouvrières au bout d'une semaine. *Pachycondyla goeldii* étant toujours inféodée aux jardins de fourmis (Dejean et al., 1997 ; Orivel & Dejean, 1999), une fuite du nid semblerait donc impossible sans le caractère polydomique de ces colonies. Dans le milieu arboricole, les sites de nidification sont rares, c'est pourquoi de nombreuses espèces colonisent des jardins de fourmis qu'elles n'ont pourtant pas la capacité d'initier (Orivel, 2000). Cette compétition qui pourrait mener à l'éviction de colonies se trouve exacerbée avec le vieillissement des zones pionnières qui voient arriver de plus en plus de nouvelles espèces colonisatrices.

Cette évolution des zones pionnières s'accompagne d'un changement des paramètres microclimatiques du milieu. Avec l'augmentation de la couverture végétale, l'ensoleillement

recherché par *P. goeldii* s'amenuise. Là encore, le déménagement semble être la seule possibilité. Nous avons testé ce paramètre en laboratoire en faisant varier le niveau d'hygrométrie de trois calies de colonies polydomiques. Nous avons ainsi observé que *P. goeldii* était capable d'adapter la distribution des ouvrières entre les différentes calies en fonction de paramètres microclimatiques.

Il semble donc que le caractère polydomique de *P. goeldii* soit lié aux conditions environnementales du milieu qu'elle colonise. En lui permettant d'évacuer les nids agressés ou soumis à de mauvaises conditions microclimatiques, ces fourmis assurent leur survie en développant de nouveaux jardins, futurs nids de replis.

3. Manuscrit #1

**First record of polydomy in a monogynous ponerine ant : a means to allow
emigration between *Pachycondyla goeldii* nests**

Journal Of Insect Behavior: accepted

D. Denis¹, J. Orivel², R. R. Hora³, S. Chameron¹, D. Fresneau¹

¹ *Laboratoire d’Ethologie Expérimentale et Comparée, CNRS UMR 7153, Université
Paris 13, 99 avenue J.-B. Clément, 93430 Villetaneuse, France*

² *Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, CNRS UMR 5174, Université Paul
Sabatier, Bat IV R3, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 4, France*

³ *U.P.A. Laboratório de Mirmecologia, Convênio UESC/CEPLAC,
Centro de Pesquisas do Cacau, C.P.7, 45600-000 Itabuna, Bahia, Brazil*

Running head : Polydomy in *Pachycondyla goeldii*

Key Words : Ponerinae, Polydomy, Monogyny, Pioneer areas, Colony emigration

3.1. Summary

The ponerine ant *Pachycondyla goeldii* is a monogynous (i.e. one queen per colony) arboreal species that colonizes pioneer areas. Founding queens and first generation workers initiate their own ant garden by building a cardboard-like structure into which epiphyte seeds are integrated. Following the growth of the epiphyte, the colony establishes its nest within the root system. This particular nest-building behavior is crucial in an environment where suitable nest sites are rare. Nevertheless, the slow growing process of ant gardens does not allow this species to readily evacuate and find another refuge in the advent of an attack by a predator or worsening climatic conditions. Previous field studies of *P. goeldii* were performed after forest destruction and subsequent colonization by *P. goeldii*. As a result, the colonies studied were relatively young and monodomous (i.e. one nest per colony). Our study of nest composition, worker exchanges between ant gardens in the field, and dyadic encounters shows that mature colonies of *P. goeldii* are polydomous (i.e. multiple nests per colony). In ants, the association of polydomy with monogyny has infrequently been reported. To our knowledge, *P. goeldii* represents the first record of a Ponerinae exhibiting both these particular characteristics. Our field and laboratory experiments suggest that polydomy is adaptively advantageous in coping with the microclimatic instability of pioneer areas by providing colonies with easily accessible nests.

3.2. Introduction

The ecological success of insect societies is partly due to their complex social organization, where different castes of individuals are devoted to different colony tasks. In most ant species, for example, queens take on the reproductive role while workers care for the brood and ensure a constant supply of resources for the colony through foraging (Hölldobler & Wilson, 1990). The performance and efficiency of foraging activities are highly dependent on nest structure and location. Indeed, if an ant colony occupies a single nest (i.e. monodomy) and trophic resources are located far away, foragers must make long trips to provide food for their colony – a situation which can severely limit colony growth. Many ant colonies occupy multiple nests (i.e. polydomy), and such a nesting structure provides direct advantages in foraging. Colonies of the polydomous ant, *Linepithema humile*, can rapidly set up new nest near food sources (Holway & Case, 2000). In addition to enhancing foraging efficiency, polydomy presents other advantages. Colonies of many polydomous species often benefit from their ability to readily emigrate to a safe nest not only in the advent of an attack or raid on one of their nests (e.g., Yamaguchi, 1992 ; Cerdá & Retana, 1998 ; McGlynn et al., 2004) but also in response to microclimatic changes (Smallwood, 1982).

Polydomy is frequent among arboreal ant species that are able to build their own nests and enables the exploitation of scattered food sources at a lower cost. In arboreal tropical environments, multiple-nest structures release ant species from nest site limitation on foraging by placing their nests in the immediate vicinity of abundant trophic resources. Polydomy significantly reduces the energetic costs of foraging in a three dimensional space by directly positioning colony fragments near essential resources (Davidson, 1997).

The neotropical ponerine ant *Pachycondyla goeldii* is an arboreal species which colonizes pioneer areas (Corbara & Dejean, 1996). This species has developed several morphological, behavioral, and physiological traits in response to the constraints imposed by its arboreal environment : workers have pretarsa, tarsal claws, and arolia adapted for walking on vertical substrates and even upside down (Orivel et al., 2001) ; foragers are highly aggressive, swift, and agile during hunting which enables them to capture most insect preys before they are able to escape (Orivel et al., 2000). In addition to these morphological, behavioral, and physiological adaptations, *P. goeldii* is able to initiate ant gardens, and in the field colonies are always associated with ant gardens. Founding queens and the first generation of workers build cardboard-like structures into which epiphyte seeds are incorporated. Following the development of the epiphytes, the colony establishes its nest within the root system (Corbara & Dejean, 1996 ; Orivel et al., 1998).

Previous studies have described this monogynous species as monodomous (Orivel, 2000). Such a colony structure in *P. goeldii* is rather surprising given the pioneer arboreal environment it inhabits, which is characterized by a low number of available nesting sites and unstable microclimatic conditions (Dejean et al., 2000). Monodomy would greatly reduce the ability of *P. goeldii* colonies to move in response to nest eviction by other ant species or bad microclimatic conditions. Preliminary field observations, however, appeared to contradict the strictly monodomous nest structure previously described in this ponerine ant. The aim of this study is thus (i) to characterize the specific colony structure (i.e. monodomy versus polydomy) of the monogynous arboreal ponerine ant *P. goeldii* throughout colony development, and (ii) determine the impact of nest structure on a colony's response to adverse microclimatic conditions.

3.3. Materials and methods

Field studies

Colony composition

We collected a total of 102 nests (i.e. ant gardens) of *P. goeldii* along a 22 km stretch of road leading to the dam of “Petit Saut”, French Guiana, in September of 1994 (n = 16), 2001 (n = 42), and 2002 (n = 44). Ant gardens were collected by cutting the branch on which they stood and immediately placing them in plastic bags. After collection, the ant gardens were opened in the laboratory and the number of individuals (i.e. queens and workers) present in each nest was counted.

Worker exchange between ant gardens and dyadic confrontations

To study worker exchange between ant gardens, we mapped four different areas containing a total of 22 ant gardens during the 2002 field session. In each ant garden, we sampled between 18 and 36 workers. All sampled workers belonging to the same ant garden were marked on the thorax with a dot of similarly colored enamel paint. Workers were then directly returned to their nest of origin. A week later, all ant gardens were collected and the number of marked workers of different colors was noted. We also counted the number of individuals (i.e. queens and workers) present in each nest.

In each of the areas described above, we performed dyadic encounters between unmarked ants belonging to different ant gardens. For each pair of ant gardens, we performed 5 replicates, giving a total of 90 dyadic encounters. The presence or absence of aggressive behaviors (i.e. biting and stinging) was recorded for each test.

Laboratory studies

Colony structure

To check whether *P. goeldii* colonies were able to adopt a polydomous colony structure in laboratory conditions, we used three colonies containing 168, 260, and 321 workers and respectively 111, 83, and 149 brood items (i.e. eggs, larvae, and pupae). Each colony was installed in a plaster nest (13 x 19 x 4 cm) connected to a foraging arena of identical size and shape. One month later, two identical plaster nests providing the same microclimatic conditions were connected to the foraging arena. Two weeks later, we recorded the number of workers and brood found inside the new nests.

Worker distribution in response to nest microclimatic change

To study the ability of workers to move following nest microclimatic changes, we used the three aforementioned colonies at the end of the previous experimental protocol (i.e. three plasters nests connected to a single foraging arena). For each colony, the three plaster nests were subjected to three slightly different microclimatic conditions for one week : dry condition (i.e. the nest was not humidified), standard condition (i.e. the nest was humidified twice with 100 ml of water), and moist condition (i.e. the nest was humidified twice with 200 ml of water). Each nest was subjected once to the different conditions. Between each change of conditions, nests were under normal laboratory conditions (i.e. standard condition) for one week. The number of workers was noted immediately before and after exposure to experimental conditions.

3.4. Results

Field studies

Colony composition

We found significantly more workers in the 27 queenright (i.e. containing the queen) ant gardens collected in 2001 and 2002 than in the 13 queenright ant gardens collected in 1994 (respectively 204 ± 178 and 73 ± 34 workers, mean \pm SD ; permutation test, $P < 0.0001$). We never found more than one queen in an ant garden. The proportion of queenless ant gardens was higher in 2001 and 2002 than in 1994 (respectively 69% and 7%, $n = 86$ and 14 ; Chi square test, $\chi^2 = 57.65$, $P < 0.0001$). We found 25 workers in the queenless nest collected in 1994, while those collected in 2001 and 2002 contained 106 ± 81 workers. At last, callow workers were found in 54% of the queenless nests (32 out of 59) in 2001 and 2002.

Worker exchange between ant gardens and dyadic confrontations

The number of worker exchange between ant gardens was low, but the phenomenon was observed in each studied area, suggesting that colonies are polydomous (Fig. 1). Furthermore, dyadic encounters led to aggressive behaviors only between ant gardens that had not performed worker exchanges (Fig. 2). These results clearly indicate that ant gardens which engage in exchanges are part of the same colony. Indeed, each polydomous colony forms a functional network where each ant garden displayed at least one exchange of worker with at least one other nest of the (polydomous) colony. Mapped *P. goeldii* colonies were always monogynous, i.e. we found only one queenright nest containing a single queen per colony.

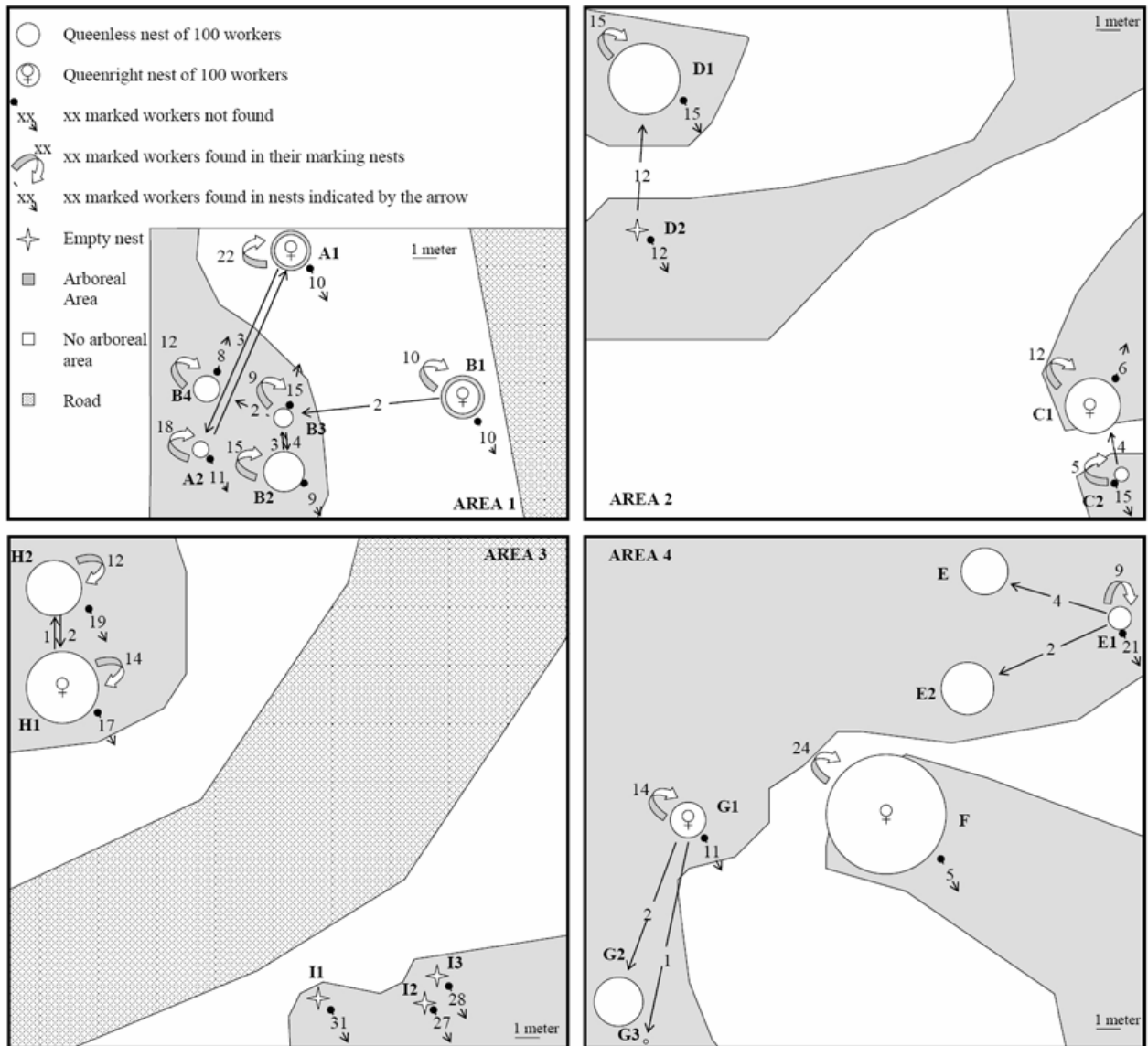


Figure MS#1-1 : Location of ant gardens and displacement of marked workers after collection in four areas. The diameter of the circle representing a nest is proportional to the number of workers in that nest. Ant gardens E2, E4, G2, and G3 were found after the marking session so none of their workers were marked. Number of workers in colonies A, B, C, D, E, F, G, and H is respectively 202, 499, 290, 298, 513, 500, 373, and 530.

Ant gardens belonging to the same colony were always found in different trees, and some ant gardens were established on isolated trees, suggesting that these arboreal ants are able to move on the ground (Fig. 1, nests A1 and B1). We found a maximum of four ant gardens per colony, leading to a total of 401 ± 126 workers in polydomous colonies ($n = 8$). We consider this figure as likely to be an underestimate since ant gardens are sometimes difficult to detect. Last, four ant gardens were entirely deserted (Fig. 1, nests I1, I2, I3, and

D2) by the time we collected them. For one of these ant gardens (D2), most marked workers were found in another nest of the same colony (D1).

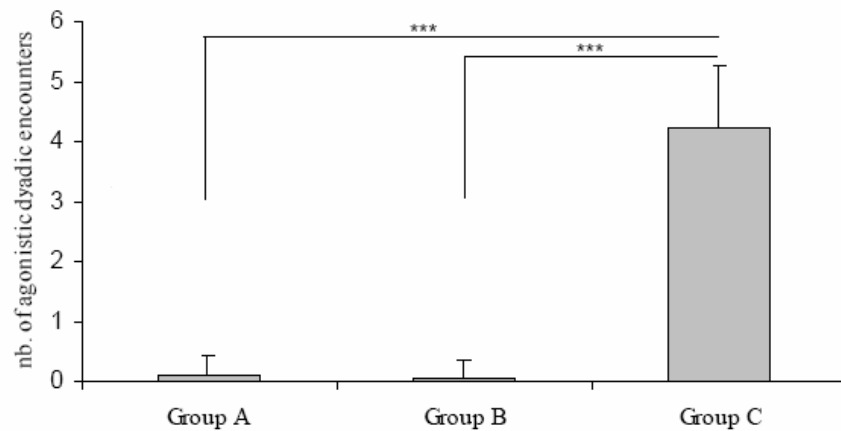


Figure MS#1-2 : Mean number and standard deviation of dyadic encounters which led to agonistic behaviors (i.e. biting and stinging) in three different groups of workers. Group A : workers belonging to the same nest (n = 19). Group B : workers belonging to different ant gardens which exchanged marked workers (n = 13). Group C : workers belonging to different ant gardens (from the same area) which did not exchange marked workers (n = 54). Kruskal-Wallis test : $H = 65.70$, (***) $P < 0.001$.

Laboratory studies

Colony structure

Workers from the 3 tested colonies colonized the two empty nests and brought in some brood, thus proving able to adopt a polydomous nest structure in experimental conditions. We indeed found $28.8 \pm 12.2\%$ of the workers and $14.1 \pm 8.1\%$ of the brood in each of the new nests two weeks after their connection to the foraging arena.

Worker distribution in response to nest microclimatic change

In laboratory conditions, workers were found to adapt their distribution between the different nests in response to slight microclimatic changes. Indeed, workers fled moist nests and occupied preferentially standard nests (Fig. 3). The repeated microclimatic changes had a negative effect on the brood. During these experiments, we observed a high mortality rate for

the larvae ($89 \pm 8\%$, mean \pm SD). However, despite changing conditions, the queen never moved to a new location.

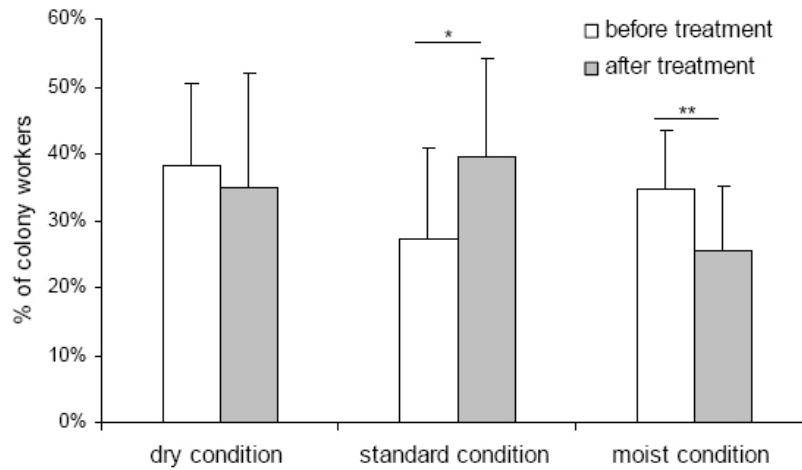


Figure MS#1-3 : Mean percentage and standard deviation of workers in each of the three artificial nests occupied by the colony. At the beginning of the experiment the number of workers in colonies A, B, and C was respectively 145, 229, and 211. Wilcoxon test for paired sample : (*) $P < 0.05$, (**) $P < 0.01$.

3.5. Discussion

Our study provides original data on the expansion and division of *P. goeldii* colonies during the course of their development. Indeed, our results show that mature colonies of *P. goeldii* develop a polydomous colony structure. The proportion of queenless nests was relatively high and increased with the passing years (59 out of 86 colonies collected in 2001-2002). From July 1987 to July 1989, the sampled area suffered from major road construction which led to the destruction of the surrounding forest. The resulting pioneer areas were subsequently colonized by *P. goeldii* (Corbara & Dejean, 1996). We assume that the higher number of workers in queenright nests collected during the later period is the consequence of colonies ageing. Our results suggest that the surge in queenless nests is caused by the development of polydomy in mature colonies of *P. goeldii*. An alternative hypothesis would be that queenless nests are in fact orphaned monodomous colonies. In half of the queenless nests collected in 2001-2002, callow workers indicate the presence of a queen in the colony at least until recently. We therefore discard the alternative hypothesis of a sudden massive disappearance of queens as highly improbable. Moreover, workers from connected ant gardens never performed agonistic behaviors during dyadic encounters ; conversely, workers from unconnected ant gardens always exhibited agonistic interactions during dyadic tests. Since *P. goeldii* exhibits social closure, the exchange and tolerance of workers between ant gardens demonstrates that connected nests are actually part of the same polydomous colony.

We found, in accordance with previous studies (Orivel et al., 2000), that mature colonies of *P. goeldii* are always monogynous. The existence of polydomy in a monogynous Ponerinae is unexpected. Indeed, most polydomous ants also present polygynous colonies. In *Formica* ants, polydomy is correlated with polygyny (Rosengren et al., 1993). In fact, polydomy is

often considered as a direct consequence of polygyny and colony reproduction by budding and fission (Rosengren et al., 1993 ; Chapuisat et al., 1997). Nevertheless, one should consider that the association of polydomy with monogyny is likely to be underestimated in literature, since people excavating a queenless nest of a monogynous species usually do not think in polydomy but in unsuccessful excavation (Orivel et al., 2000). According to Bolton's classification (Bolton, 2003), monogynous and polydomous ants have never been described in the Subfamily Ponerinae (table 1). Our study therefore is the first report of a monogynous and polydomous ponerine ant.

Genus	species	Domy	Gyny	References
<i>Hypoponera</i>	<i>nubatama</i>	polydomous	polygynous	Yamauchi et al., 2001
<i>Hypoponera</i>	<i>opaciceps</i>	polydomous	polygynous	reviewed in Foitzik et al., 2002
<i>Hypoponera</i>	<i>bondroiti</i>	polydomous	polygynous	Yamauchi et al., 1996
<i>Hypoponera</i>	<i>gleadowi</i>	polydomous	polygynous	reviewed in Foitzik et al., 2002
<i>Hypoponera</i>	<i>opacior</i>	polydomous	polygynous	Foitzik et al., 2002
<i>Ophthalmopone</i>	<i>berthoudi</i>	polydomous	polygynous*	Peeters & Crewe, 1985
<i>Pachycondyla</i>	<i>goeldii</i>	polydomous	monogynous	present study
<i>Pachycondyla</i>	<i>luteola</i>	polydomous	polygynous	Verhaagh, 1994

Table MS#1-1 : Gyny in polydomous ponerine ants.

* This ponerine ant has permanently lost the queen caste, but the reproductive role is ensured by mated, egg-laying workers (i.e. gamergates). Colonies are considered functionally polygynous (Rosengren et al., 1993 ; Chapuisat et al., 1997).

Polydomy is well documented in social insects, and the main advantages it provides can be sorted into three categories. First, by multiplying the number of central place foraging sites, a polydomous system decreases the distance between the nest and the surrounding trophic resources and increases the number of available food sources (Hölldobler & Lumsden,

1980 ; McIver, 1991 ; Davidson, 1997 ; Holway & Case, 2000). Since *P. goeldii* is a generalist predator and its prey items are randomly distributed (Orivel et al., 2000), polydomy expands the size of the foraging domain available to foragers by increasing the number of ant gardens.

Polydomy can also be considered as an adaptation to local, microclimatic changes (Brian, 1956 ; Smallwood, 1982 ; Banschbach et al., 1997). Our laboratory experiments show that *P. goeldii* workers can invest empty nests. We also found that they can acutely detect slight microclimatic changes and flee from a moist nest in the laboratory. Nevertheless we did not observe complete colony emigration from these nests, and the queen never moved under our experimental conditions. We propose that these results are mainly due to both the low severity of the microclimatic changes and the small time scale of the experience. We suppose that the queen would have eventually moved if the microclimatic conditions had been more drastic, constituting a threat to its life. The important loss of brood is indeed not representative of harsh conditions, brood being quite fragile and subject to loss when maltreated in the laboratory. Moreover, we suggest that even those moderately adverse conditions could lead to a gradual desertion of the nest if maintained over a long period, but that emigrating from an ant garden too soon is not justified and could even be counter-adaptive in *P. goeldii* (if the microclimatic disturbance is limited in time). Speaking more generally, colony move could be slow under moderate pressure (see Holway & Case, 2000 as an example) even if it can readily occurs under severe pressure (e.g., Carlson & Gentry, 1973 ; Pezon et al., 2005). Colony move from one ant garden to another could be advantageous in pioneer arboreal environments, where a low number of potential nesting sites and an unstable climatic environment are the main constraints (Dejean et al., 2000). They could at least partly explain the gradual disappearance of *P. goeldii* in the Petit Saut area, which has been attributed to the growth of a thicker vegetation cover. The consecutive change

in microclimatic conditions of ant gardens (Orivel, 2000) may have lead to gradual nest desertion.

The last main advantage of polydomy is a protection against competitors and/or predators (Mabelis, 1979 ; Droual, 1984 ; Cerdá & Retana, 1998 ; McGlynn et al., 2004). Individuals have the possibility of fleeing from an attacked nest to another one of the colony. The fact that four ant gardens had been deserted after marking (in one case for another nest of the same colony) suggests that polydomy can actually allow nest desertion by *P. goeldii* in the case of an attack by predators or competitors. While most ponerine species use pre-existing cavities to relocate, *P. goeldii* is limited to ant gardens (Dejean et al., 1997 ; Orivel & Dejean, 1999).

Monogynous and polydomous species have previously been described beyond the Ponerinae sub-family, like in Formicinae (e.g., Curtis, 1985 ; Hasegawa, 1992 ; Mercier, 1999 ; Beugnon et al., 2001) or Myrmicinae (e.g., Snyder & Herbers, 1991 ; Foitzik & Heinze, 1998 ; Foitzik & Herbers, 2001). The three aforementioned advantages of polydomy are not necessary exclusive, and can apply to monogynous species (Cerdá et al., 2002). Some authors underline the importance of polydomy for those species to optimize their foraging range and/or to be competitive in resource pre-emption (Traniello & Levings, 1986 ; Delabie et al., 1991 ; Federle et al., 1998 ; Pfeiffer & Linsenmair, 1998 ; Debout et al., 2003). *P. goeldii* undoubtedly benefits from polydomy for both habitat exploitation and protection, but we propose that its obligatory association with ant gardens may have played a major role for developing polydomous colony structure. Such association with epiphytes indeed prevents monodomous colonies from moving because of the absence of ready nest, while nest instability is high in the pioneering areas colonized by *P. goeldii*. Other arboreal monogynous species display obligatory association with instable host plants, and use polydomy to occupy

small clumps of trees before their colonization by a competitor ant (e.g., *Cataulacus mckeyi* : Debout et al., 2003). Interestingly, such situation is not restricted to arboreal species as convergent evolution can be seen for example in *Leptothorax nylandery* colonies, which face rapid decay of their nests and therefore continuously grab highly limited and fragile nest sites in a polydomous colony structure (Foitzik & Heinze, 1998).

As a conclusion, a major advantage of polydomy for *P. goeldii* could be to allow rapid resettlement in ready ant gardens in response to microclimatic changes. It is nevertheless of high interest to point out that polydomy can also have consequences on colonies reproductive structure. In eusocial Hymenoptera, relatedness asymmetries within colonies lead to potential conflicts over sexual production between colony members, conflicts that can be expressed under some conditions. Being away from the queen influence may trigger the sexualization of diploid brood by workers, therefore influencing the colony sexual production in their own interest (Herbers et al., 2001), as already observed in queenless nests of several monogynous polydomous species (Ito et al., 1988 ; Snyder & Herbers, 1991 ; Cerdá et al., 2002). We propose that *P. goeldii* could be an appropriate model for further investigation of both ultimate and proximate consequences of polydomy on reproductive strategies.

Acknowledgements

We are grateful to Dr. P. Cerdan, director of “HYDRECO”, for his logistical help and access to facilities, as well as Kiki for his invaluable help in the field. We wish to thank Dr. A. Pezon for English corrections on the manuscript, and three anonymous referees for helpful comments. DD and DF are grateful to the *Laboratoire d’Ethologie Expérimentale et Comparée* for funding of the field studies in Petit Saut, French Guiana. The experiments were

conducted in accordance with the current laws of France to the best of the authors' knowledge.



CHAPITRE II :
LES CONFLITS
INTRA-COLONIAUX

1. Introduction

1.1. Contexte d'expression des conflits

Malgré leur harmonie apparente, les sociétés de fourmis sont le siège de conflits opposant les individus de la colonie. Nous avons présenté précédemment les principaux conflits qui pourraient s'exprimer dans les sociétés de fourmis. Ces conflits sont liés aux coefficients d'apparentements génétiques entre individus, qui sont eux-mêmes liés à la structure sociale des colonies. Ainsi *le conflit reine/ouvrière pour le sex-ratio*, prédit une formation équivalente de sexués femelles et mâles par la reine, en contradiction avec les ouvrières qui biaiseraient la formation des sexués en faveur des femelles. Il s'exprime avec une plus forte intensité dans les colonies ne comprenant qu'une seule reine (monogyne) fécondée par un mâle unique (monoandre) (Trivers & Hare, 1976 ; Crozier & Pamilo, 1996 ; Queller & Strassmann, 1998 ; Chapuisat & Keller, 1999). De même le *conflit reine/ouvrière pour l'investissement dans la reproduction* prédit que les ouvrières et les reines auraient des intérêts divergents à investir dans la formation de sexués plutôt que dans celle d'ouvrières en fonction de paramètres tels que le sex-ratio de la population, le taux de survie des colonies établies et la probabilité de survie des nouvelles colonies en cours de fondation. Ce conflit est une conséquence directe du *conflit reine/ouvrière pour le sex-ratio*, il est donc maximum dans une structure coloniale monogyne monoandre (Pamilo, 1991 ; Herbers et al., 2001). Enfin le *conflit reine/ouvrière pour la production des mâles*, qui propose que les ouvrières auraient plus intérêt pour augmenter leur fitness, à remplacer le couvain mâle produit par leur reine par le leur, ne dépend que faiblement du degré de polyandrie ou de polygynie de la société. En effet, quelle que soit la structure sociale coloniale, il est toujours génétiquement plus intéressant pour une ouvrière de produire ses propres mâles plutôt que ceux de leur reine.

Cependant ce n'est que dans les systèmes monogynes monoandres que chaque ouvrière a aussi plus intérêt à privilégier le couvain mâle de ses sœurs par rapport à celui de leur mère (Ratnieks, 1988 ; Hammond & Keller, 2004 ; Ratnieks et al., 2006).

Les ouvrières de *Pachycondyla goeldii*, comme la majorité des ponerinae, ont la capacité physiologique de pondre des œufs haploïdes. Elles possèdent donc les pré-requis nécessaires au développement des **conflits pour la production des mâles**. La polyandrie est un phénomène rare chez les fourmis (Strassmann, 2001). De plus, chez toutes les reproductrices de ponerinae étudiées jusqu'à aujourd'hui, la fécondation unique est la règle (e.g., *Rhytidoponera sp.12* : Tay & Crozier, 2000 ; *Dinoponera quadriceps* : Monnin & Peeters, 1998 ; *Streblognathus peetersi* : Cuvillier Hot, 2002). Tous ces paramètres nous conduisent donc à considérer *P. goeldii* comme une espèce monoandre. Le dernier pré-requis nécessaire à l'existence du **conflit reine/ouvrière pour le sex-ratio ou pour l'investissement dans la reproduction** est la monogynie or *P. goeldii* est une espèce monogyne, même si les fondations sont généralement polygynes (i.e. pléometrose ; (Hölldobler & Wilson, 1977)

1.2. *P. goeldii* : la monogynie conséquence de luttes royales

Chez de nombreuses espèces de fourmis, la monogynie se met en place dès le commencement, les reines s'isolent dans le cadre d'une fondation claustrale. *P. goeldii*, appartenant à la sous-famille des ponérines, est incapable de faire une fondation de type claustral (Peeters, 1997). Elle ne possède pas la capacité physiologique d'accumuler suffisamment de réserves pour pouvoir s'isoler pendant plusieurs mois. C'est sans doute ce paramètre qui a mené à la pléometrose chez cette espèce. Effectivement, les colonies de *P. goeldii* ne sont pas monogynes à l'origine, elles ne présentent cette structure qu'à la fin de leur phase de fondation. Nous avons étudié quatre fondations polygynes de *P. goeldii*

récoltées en Guyane en 2002. Nous les avons installées en laboratoire dans des nids en plâtre et avons relevé leurs comportements (comportements agonistiques, ovipositions, fourrages) deux heures par jours pendant douze jours. Parallèlement à cela, nous avons enregistré ces fondations 8 heures par jours, tous les jours, jusqu'à ce qu'elles soient monogynes. Notre étude a montré l'émergence de nombreux comportements de boxe antennaire (comportement ritualisé de domination entre deux fourmis, (e.g., Ito & Higashi, 1991 ; Heinze et al., 1996 ; Cuvillier Hot et al., 2004a). Nous avons d'ailleurs pu mettre en évidence que les fondatrices dites subordonnées, donc destinataires de la plupart des boxes antennaires, effectuaient aussi le plus grand nombre de sorties d'approvisionnement, augmentant par là même le risque de prédation au profit indirect des dominantes (Figure 2).

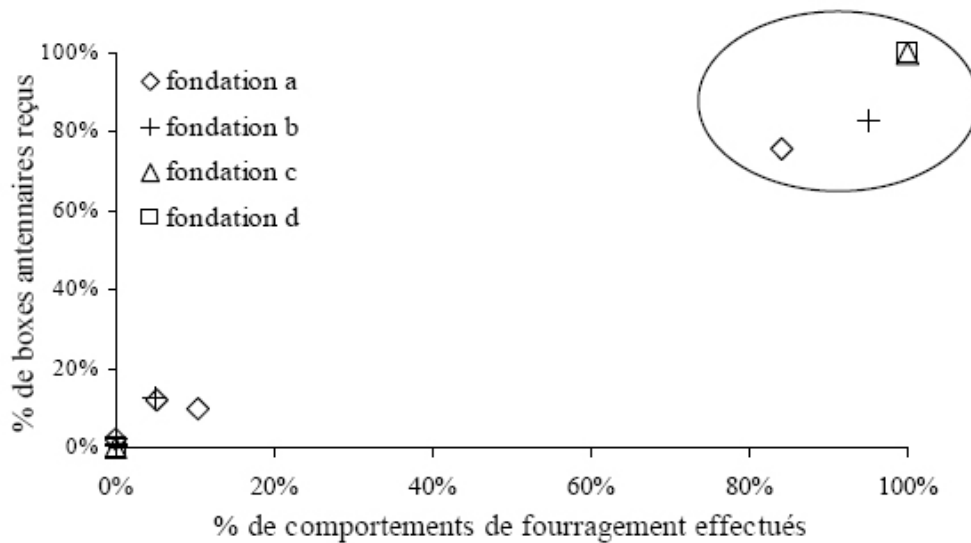


Figure 2 : Corrélation entre le pourcentage des boxes antennaires reçus et le pourcentage de comportements de fourrage effectués par reine dans chacune des quatre fondations. Les points entourés représentent les fondatrices qui ont effectué plus de 80% des sorties et ont reçu plus de 70% des boxes antennaires effectuées dans leurs nids. Nombre total de boxes antennaire : 476 ; nombre total de comportements de fourrage : 73. (Corrélation de Spearman ; $n = 11$; $r = 0.9287$; $P < 0.001$).

Nous avons aussi observé de nombreux comportements de morsures infligées par des fondatrices à d'autres fondatrices après leurs pontes. Ces confrontations aboutissaient généralement à la destruction de l'œuf. Le plus spectaculaire reste que, dans l'ensemble de

ces fondations, au bout de plusieurs semaines, les reines se sont affrontées successivement par dyade jusqu'à ce qu'il n'y ait plus qu'une seule survivante (Tableau 2), amenant ainsi la colonie à une structure monogyne secondaire.

Fondation	Nb. de reines fécondées	Nb. d'oeufs pondus	Nb. d'oeufs dévorés par les co-fondatrices	Nb. de callows*	Nb. final de reine survivante
a	2	2	0	4	1
b	2	2	0	4	1
c	4	5	1	10	1
d	5	6	4	15	1

Tableau 2 : Nombre de fondatrices, comportements de ponte, productivité et nombre final de reines de quatre fondations polygyne de *P. goeldii*.

*Les callows émergent peu avant les premiers combats entre reines

2. Les conflits au sein des sociétés matures de *P. goeldii*

Présentation des manuscrits 2 et 3

Les colonies de *P. goeldii* sont monogynes polydomiques, ceci signifie que dans une colonie polydomique avec reine il existe deux types de calies : une avec reine et une ou plusieurs sans reine. Dans les études suivantes nous serons amenés à comparer ces calies avec des colonies de laboratoire avec ou sans reine. Afin d'éviter toute confusion et de clarifier la nomenclature utilisée, nous allons définir les termes qui qualifieront les colonies, les nids et les calies dans la suite de cette thèse.

Les colonies avec reine monodmiques ou '*monodomous queenright colonies*' sont composées d'un seul nid, qui contient forcément la reine, et appelé 'nid avec reine' ou '*queenright nest*'. Les colonies orphelines monodmiques ou '*monodomous orphaned colonies*' sont elles aussi composées d'un nid unique mais qui ne possède pas de reine et appelé 'nid orphelin' ou '*orphaned nest*'. Les colonies avec reine polydomiques ou

‘*polydomous queenright colonies*’ sont composées de plusieurs nids appelés calies ou ‘*calies*’. La calie avec reine est appelée calie primaire ou ‘*primary caly*’ et les calies sans reine associés à la calie primaire sont appelés calies secondaires ou ‘*secondary calies*’. Les colonies orphelines polydomiques ou ‘*polydomous orphaned colonies*’ sont elles aussi composées de calies sans reine mais qui ne sont pas associées à une calie primaire, elles sont appelées calies orphelines ou ‘*orphaned calies*’ (pour récapitulatif voir tableau 3).

Colonie <i>Colony</i>	avec reine <i>queenright</i>	orpheline <i>orphaned</i>
monodominique <i>monodomous</i>	1 nid avec reine 1 queenright nest	1 nid orphelin 1 orphaned nest
polydominique <i>polydomous</i>	1 calie primaire <i>1 primary caly</i> n calies secondaires <i>n secondary calies</i>	n calies orphelines <i>n orphaned calies</i>

Tableau 3 : Récapitulatif des termes utilisés en fonction de la présence ou l’absence de la reine ainsi que de la structure de la colonie.

Au cours de ces deux études, nous avons tenté de définir les conflits opérants au sein de ces colonies monogynes polydomiques par l’intermédiaire des conséquences comportementales, physiologiques et démographiques qu’ils induisent dans les sociétés matures de *P. goeldii*. Pour cela nous avons mené plusieurs études : (i) des études de terrain afin de mesurer des paramètres tels que l’allocation reproductive ou encore le développement ovarien des ouvrières en fonction de leur localisation : dans une calie primaire, contenant une reine ; ou dans une calie secondaire sans reine mais associée à une calie primaire ; ou encore dans une calie orpheline, appartenant à une colonie ayant définitivement perdu sa reine. (ii) des études de laboratoire ayant pour but la description des comportements agonistiques se manifestant dans ces différentes calies.

2.1. Conflits inter-caste

Nous avons observé les effets des conflits inter-caste en notant sur le terrain une plus grande proportion de femelles vierges dans les calies secondaires comparativement aux primaires. Nos études de laboratoire sur des colonies orphelines ont montré une différenciation préférentielle des larves diploïdes restantes en femelles vierges. Ce résultat nous indique que la différenciation du couvain en ouvrières ou en femelles vierges n'est pas encore établie au stade œuf, ce qui permet une certaine flexibilité. Les mêmes mécanismes de différenciation préférentielle de couvain en femelles vierges semblent intervenir au sein des colonies matures de *P. goeldii* probablement en conséquence du ***conflit reine/ouvrière pour l'investissement dans la reproduction***. Les effets de ce conflit sur l'investissement reproducteur des différents types de calies sont difficiles à déterminer (Herbers et al., 2001). L'intérêt à investir dans la reproduction ou dans la maintenance de la colonie diffère non seulement entre les deux castes mais aussi en fonction du sex-ratio colonial et du sex-ratio de la population. Il est à noter que les ouvrières peuvent prendre part à ce conflit de deux façons : soit en manipulant le couvain royal afin de le sexualiser, soit en pondant leurs propres œufs haploïdes. Dans ce dernier cas de figure, les ouvrières investissent dans leur reproduction plutôt que dans la maintenance de la colonie

Ce dernier paramètre nous a amené à définir la provenance des œufs haploïdes dans les deux types de calies. Les études du développement ovarien des ouvrières et de la taille des œufs produits (les ouvrières produisant des œufs de petite taille photo 1) ont montré que les ouvrières participaient à la formation des mâles dans les calies secondaires, contribuant ainsi au ***conflit reine/ouvrière pour la production des mâles***.

Photo 1 : Œufs de *P. goeldii*, les 3 œufs situés à gauche proviennent d'une reine et les 3 œufs situés à droite proviennent d'ouvrières. Voir méthodologie P. 62



Ces deux conflits, pour l'investissement dans la reproduction et pour la production des mâles, ne peuvent être considérés séparément car leurs effets respectifs peuvent interagir. Dans nos études de terrain nous observons une formation préférentielle de femelles vierges ainsi qu'une reproduction des ouvrières dans les calies secondaires et une formation préférentielle d'ouvrières dans les calies primaires. Au vu de ces résultats, au niveau du *conflit reine/ouvrière pour l'investissement dans la reproduction* la reine tendrait à abaisser son investissement reproducteur envers les femelles tandis que les ouvrières, de leur côté tendraient à l'augmenter. De plus le *conflit reine/ouvrière pour la production des mâles* préconiserait que les ouvrières pondent leurs propres œufs et détruisent le couvain haploïde de leur reine, ce qui modifierait le *sex-ratio* de la colonie et irait donc à l'encontre du conflit précédent. Les différents investissements constatés dans les calies primaires et secondaires pourraient donc être la résultante de l'interaction de ces différents conflits au sein des colonies matures de *P. goeldii*.

2.2. Conflit intra-caste

Le *conflit reine/ouvrière pour la production des mâles* entraîne la formation d'un second conflit cette fois interne à la caste ouvrière. Effectivement la ponte simultanée de

l'ensemble des ouvrières dans la colonie aurait des conséquences désastreuses sur le développement de la colonie, celle-ci étant incapable d'élever l'importante quantité de couvain ainsi produite (Hrdy & Hausfater, 1984 ; Cole, 1986 ; Nonacs, 1992 ; Frank, 1996 ; Johnson, 1998 ; Johnstone & Cant, 1999 ; Wenseleers et al., 2004). Dans les colonies orphelines de plusieurs *Pachycondyla* tout comme chez *P. goeldii* (manuscrit #3), il est classique d'observer l'émergence de hiérarchies reproductives entre ouvrières, phénomène permettant la régulation de la quantité de couvain. (e.g. *Pachycondyla obscuricornis* ; Gobin et al., 2003 ; *Pachycondyla inversa* ; Heinze et al., 2002 ; *Pachycondyla sublaevis* ; Ito & Higashi, 1991). La mise en place d'une telle hiérarchie entre les ouvrières des calies secondaires semble être le moyen que *P. goeldii* a développé pour réguler la quantité d'ouvrières pondeuses. Nous avons ainsi observé l'émergence de comportements agonistiques appelés boxes antennaires entre ouvrières de calies secondaires en laboratoire. Or de tels comportements dans les systèmes orphelins de *P. goeldii* sont liés à la mise en place de hiérarchies reproductives entre ouvrières. L'observation de ce type de comportements dans les calies secondaires, et ce de façon significativement plus élevée que dans les calies primaires, indique que des hiérarchies comparables se mettent en place dans les calies secondaires. De plus, à l'aide d'ouvrières entravées ne pouvant quitter leurs calies (photo 2) nous avons pu mettre en évidence que le facteur déclenchant de ces comportements agonistiques dans les calies secondaires était l'isolement physique de la reine.



La reine influence généralement la ponte des ouvrières grâce à un signal phéromonal (Fletcher & Ross, 1985 ; Bourke, 1988 ; Ratnieks, 1988 ; Keller & Nonacs, 1993). On le considère comme peu volatil mais certaines études ont montré qu'il pouvait être véhiculé via le couvain

Photo 2 : ouvrière entravée de *P. goeldii*. Voir méthodologie P. 81

(Seeley, 1979 ; Naumann et al., 1992 ; Naumann et al., 1993 ; Passera et al., 1995 ; D'Ettoire et al., 2004a ; Endler et al., 2004 ; Endler et al., 2006). Nous proposons l'idée que, même si l'odeur royale est présente dans les calies secondaires, elle est tout de même moins concentrée que dans la calie primaire ; ce qui mènerait d'une part à la ponte des ouvrières et d'autre part à la différenciation du couvain diploïde en femelles.

3. Manuscrit #2

Reproductive allocation in multi-nest colonies of the ponerine ant *Pachycondyla goeldii*.

Ecological Entomology: submitted

Damien Denis¹, Antoine Pezon², Dominique Fresneau¹

¹ *Laboratoire d’Ethologie Expérimentale et Comparée, CNRS UMR 7153,
Université Paris 13, 99 avenue J.-B. Clément, 93430 Villetaneuse, France*

² *BMCC/CUNY, 199 Chambers Street, New York, NY 10007, USA*

Key Words : Polydomy, Monogyny, Reproductive allocation, Queen-workers conflict,
Queen pheromonal signal, Egg size

3.1. Summary

Social insect colonies are characterized by a reproductive division of labor, where the queen is specialized for reproduction while sterile workers perform all the tasks required for colony maintenance. This organization is due to the asymmetrical relatedness between colony members (i.e. in a monogynous monoandrous species ; .5 between a mother and her offspring but .75 between sisters and .25 between brother and sister) which has led to the emergence of altruistic behavior between sisters. Such asymmetrical relatedness has also generated numerous queen/workers conflicts within the society. Thus, the queen/workers conflict over reproductive allocation suggests that queens and workers compete to enforce divergence in the quantity of sexual from queen brood. Moreover, in the few species whose workers have retained the ability to lay their own male eggs, the queen/workers conflict over male parentage proposes that workers rear their own male offspring in preference to those produced by the queen. In monogynous species with a multiple nest structure, two types of calies coexist : one queenright (i.e., caly containing a queen, primary caly hereafter) and several queenless (i.e., calies without a queen but associated to a primary caly ; secondary calies hereafter). Workers from secondary calies physically separated from the queen could prevail in these different conflicts. We investigated the impact of polydomy on reproductive allocation between nests in the monogynous ant *Pachycondyla goeldii*. Our results suggest that queen-laid eggs preferentially turn into workers in primary calies and into virgin queens in secondary calies. Furthermore, worker reproduction takes place predominantly in secondary calies, as evidenced by the presence of smaller eggs typical of workers. Such a pattern of reproductive allocation between nests most likely results from pheromonal absence of the queen from these nests. We consider that the evolutionary reason for such a biased

reproductive allocation between nests likely originates from the different conflicts (exposed above) occurring in *P. goeldii* colonies.

3.2. Introduction

Social insect colonies habitually contain two castes : queens, who specialize in reproduction by laying most of the eggs, and workers, who have reduced fertility and perform all the tasks required to maintain the colony (Wilson, 1971). Typically, both queens and workers elaborate the nest in which they live and rear the brood. In most species, young colonies with few workers occupy a single nest, but as the number of workers increases, colonies of many species establish supplementary nests. Between these different nests, sexuals, workers, brood, and food can then be exchanged, therefore resulting in a polydomous or multiple-nest colony.

Polydomy is well documented in social insects, and the main advantages it provides can be sorted into two categories. First, by multiplying the number of central place foraging sites, a polydomous system decreases the distance between the nest and the surrounding trophic resources and increases the number of available food sources (Hölldobler & Lumsden, 1980 ; McIver, 1991 ; Davidson, 1997 ; Holway & Case, 2000).

Secondly, polydomy can also facilitate colony emigration in unstable environments. Colonies of many polydomous species often benefit from their ability to readily emigrate to a safe nest not only in the advent of an attack or raid on one of their nests (e.g., Yamaguchi, 1992 ; Cerdá & Retana, 1998 ; McGlynn et al., 2004) but also in response to microclimatic changes (e.g., Smallwood, 1982).

In the *Formica* group as in most polydomous ants, polydomy is correlated with polygyny (Rosengren et al., 1993). In fact, polydomy is often considered a direct consequence of polygyny and colony reproduction by budding and fission (Rosengren et al., 1993 ; Chapuisat et al., 1997). In the seldom cases of ant species which possess both monogynous

and polydomous features, colonies are composed of two distinct nest types : a single primary caly (i.e., containing the queen) and one or several secondary calies (i.e., without a queen but associated to a primary caly). In such cases, polydomy can have a direct impact on reproductive allocation between calies. As previously observed in the secondary calies of four monogynous polydomous species, being away from the queen's influence leads to the sexualization of diploid brood (Ito et al., 1988 ; Snyder & Herbers, 1991 ; Banschbach & Herbers, 1996 ; Cerdá et al., 2002).

Secondary calies seems to act as orphaned colonies, since queen loss induces significant changes in worker behavior and brood development. A drastic increase in the production of sexuals occurs, first through the massive differentiation of female brood into virgin queens and then through the laying of male eggs by workers with developed ovaries (reviewed in Brian, 1980). The same cause can therefore lead to the differentiation of sexuals in both orphaned nests and secondary calies.

The neotropical ponerine ant *Pachycondyla goeldii* (Forel) is an arboreal polydomous species that lives in ant gardens resulting from its close association with epiphytes (Corbara & Dejean, 1996 ; Orivel et al., 1998 ; Orivel, 2000). *Pachycondyla goeldii* is strictly monogynous, and therefore constitutes the only recorded case of a monogynous polydomous society in the *Ponerinae* subfamily. Polydomy in this species seems to favor the rapid relocation of the colony to preexisting ant gardens in response to microclimatic changes and predatory attacks (Denis et al., accepted). As in many ponerine ants, workers of *P. goeldii* possess functional ovaries but lack a sperm receptacle, the spermatheca (Peeters, 1991 ; Ito & Ohkawara, 1994 ; Peeters, 1997). They have retained the ability to lay male eggs, thus permitting to study the potential consequences of the queen's proximity or absence on workers' ovarian development. Previous studies have shown size differences between queen

laid eggs and worker laid eggs. In the ponerine ant *Odontomachus hematodaes* queen eggs are longer than worker eggs (Colombel, 1971), while in the formicine ant *Cataglyphis cursor* the opposite was found (Cagniant, 1984). Such an egg-size difference in *P. goeldii* would shed light on the origin of eggs (i.e., worker- or queen-laid) present in each caly type.

In the present study, we investigate the impact of polydomy on reproductive allocation between nests in *P. goeldii*. The presence or absence of the queen in the various nests composing the colony could have direct consequences on the behavior of workers. In secondary calies, workers should behave as if orphaned, that is, female brood should be preferentially reared as future reproductives, and workers should possess developed ovaries leading to the production of their own males.

3.3. Materials and methods

Nest composition

A total of 67 nests of *P. goeldii* were collected in 18 patches around the locality of Petit Saut, French Guiana (France) in September 2001 (n=44) and October 2002 (n=23). Each patch was thoroughly investigated ensuring that all nests belonging to a colony were collected. Since more than one colony could occupy a given patch, we conducted aggression tests between all the nests collected in the same patch in order to group nests by colony (see Denis et al., accepted for details of the method). Upon collection, we recorded for each nest the number of workers and sexuals (i.e., males and virgin queens) as well as the presence or absence of the queen.

Worker ovarian development

To study worker ovarian development, we randomly selected 20% of the workers in 9 primary calies, 9 secondary calies, and 5 orphaned calies (i.e., calies belonging to a colony that permanently lost the queen). All sampled workers were immediately frozen pending dissection in the laboratory. For each ant, we recorded the presence (i.e., developed ovaries) or absence (i.e., undeveloped ovaries) of chorionated basal oocytes. In ants, reproductive eggs are always encased in a chorion, while trophic eggs entirely lack such a structure. In ants with developed ovaries, we further measured the length of each chorionated basal oocytes. As a degree of ovarian development, we then established for each ant an ovarian index equal to the total length of all its chorionated basal oocytes.

Egg size

We removed all the eggs present in 9 primary calies, 9 secondary calies, and 5 orphaned calies, and measured their length. In addition to our field study, we established after carefully removing all eggs 3 queenright and 3 orphaned nests containing approximately 80 workers each. Experimental colonies were reared in the laboratory in a controlled environment room ($T=28\pm 2^{\circ}\text{C}$; $\text{RH}=70\pm 10\%$; light :dark cycle=12h :12h) and housed in artificial plaster nests (26x18.5cm). Each nest was connected to a foraging area (25x24cm), where food consisting of honeywater, locusts, and dealate fruitflies was provided biweekly. Seven months later, we removed all eggs present and measured their length.

Laboratory orphaning

In order to determine whether or not orphaned workers have the capacity to rear diploid larvae into virgin females and to lay viable haploid eggs in an orphaned condition, 6 colonies were divided into two parts, both containing the same number of workers and brood, but only one of them retaining the queen. We thus set up 12 experimental colonies (6 queenright and 6 orphaned), each consisting of 150 ± 38 workers and 175 ± 50 brood items. At the time of splitting, all individuals were marked with a dot of enamel paint, which clearly distinguished them from all workers and virgin females emerging during the 4 month observation. The date of the first male emergence was recorded in each orphaned colony.

3.4. Results

Nest composition

The mean number of nests per colony was 2.9 ± 1.4 ($n=22$). One of the colonies was monodomous and completely surrounded by other colonies. It contained 500 workers and 34 virgin females, demonstrating that primary nests have the capacity to rear virgin females. In the 21 polydomous colonies, the number of workers was significantly higher in primary calies than in secondary, while the number of virgin queens was significantly higher in secondary compared to primary calies. The number of males was not significantly different between secondary and primary calies (Table 1).

Caste	type of caly	mean number \pm S.D.	Permutation test (p)
workers	primary (n=21)	202.1 \pm 185.8	< .01
	secondary (n=41)	112.7 \pm 82.7	
virgin queens ^a	primary (n=11)	0.7 \pm 2.3	< .01
	secondary (n=30)	10.0 \pm 13.9	
males ^a	primary (n=11)	3.5 \pm 7.5	> .40
	secondary (n=30)	4.5 \pm 9.0	

Table MS#2-1. Number of workers, virgin queens, and males in primary and secondary calies.

^a colonies ($n=10$) that had not produced at least one reproductive were excluded from our analysis.

Worker ovarian development

Worker ovarian activity was highest in orphaned, intermediate in secondary, and lowest in primary calies, and was thus inversely related to queen proximity (Fig. 1). The worker ovarian index differed significantly between the 3 caly types (Permutation test with strata, $p < .001$; orphaned vs. secondary, $p < .01$; orphaned vs. primary, $p < .001$ and secondary vs. primary, $p < .05$).

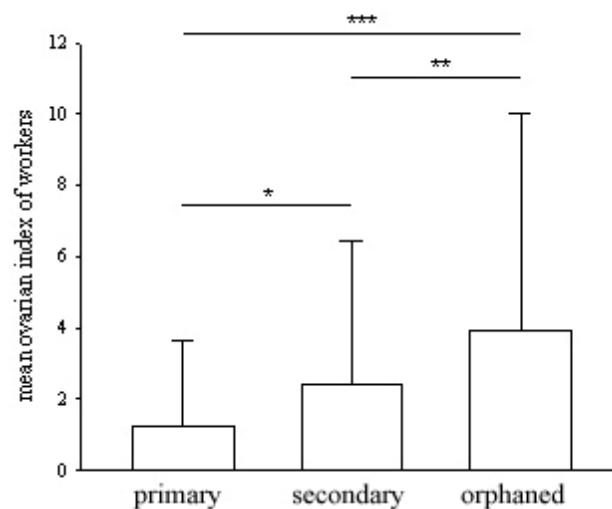


Figure MS#2-1 : Ovarian index of workers in primary (n=9), secondary (n=9), and orphaned (n=5) calies. Results are based on 188, 168, and 92 workers from primary, secondary, and orphaned calies respectively. Vertical lines represent standard deviation ; one asterisk (*) denotes $p < .05$, two asterisks (**) $p < .01$, and three (***) $p < .001$.

Egg size

Laboratory results showed that queen-laid eggs were significantly longer than worker-laid eggs (Permutation test, $p < .001$; Fig. 2a), thus allowing correct interpretation of our field data. Field results showed a significant difference in egg length between the 3 nest types (Permutation test with strata, $p < .001$; Fig. 2b). Eggs collected in primary calies were

significantly longer than those found in secondary or orphaned calies (primary vs. secondary, $p < .05$; primary vs. orphaned, $p < .001$). Furthermore, eggs in orphaned calies were significantly shorter than those in secondary calies ($p < .001$). Egg length was thus highest in primary calies, where the queen was most likely the primary egg-layer, intermediate in secondary calies, where eggs could originate from both the queen and workers, and lowest in orphaned calies where workers were the sole egg-layers.

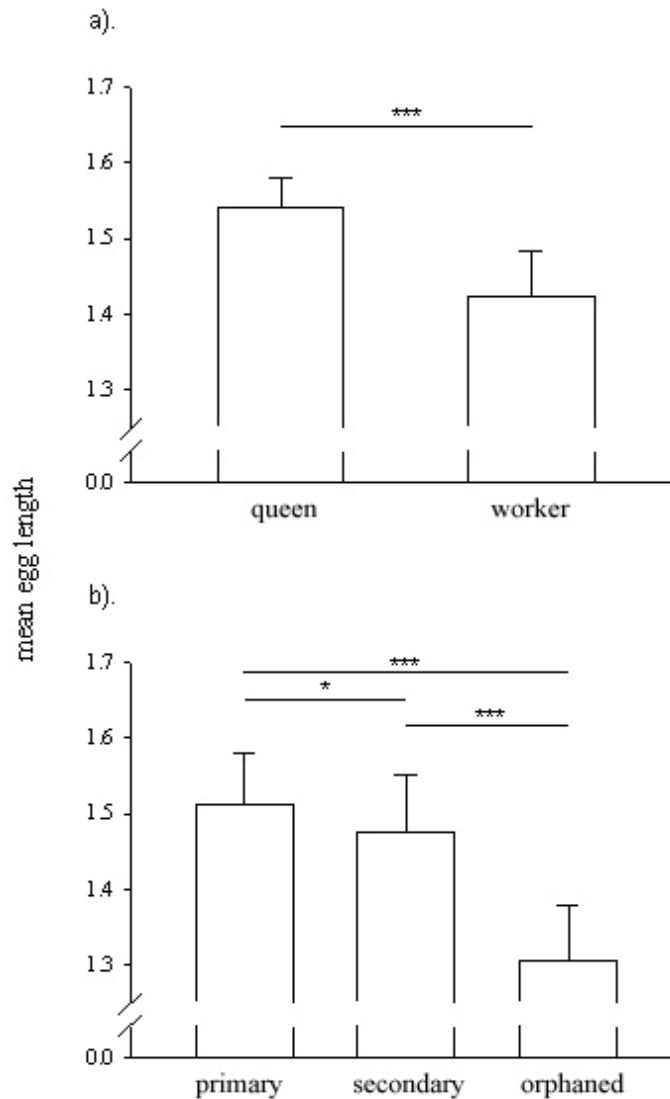


Figure MS#2-2. Mean egg length of a) eggs laid by queens (n=192) and workers (n=145) in the laboratory and b) eggs collected in 9 primary (n=216), 9 secondary (n=97), and orphaned (n=63) nests. Vertical lines represent standard deviation ; three asterisks (***) denote $p < .001$.

Laboratory orphaning

In orphaned colonies, $21 \pm 8\%$ (mean \pm S.D. ; $n=112 \pm 44$) of pupa emergences were virgin females, compared to $0.0 \pm 0.0\%$ ($n=105 \pm 50$) in queenright colonies (permutation test with strata, $p < .05$). Moreover, males were the only imagoes to emerge from queenright colonies up to 102 ± 9 days after orphaning.

3.5. Discussion

Our results show that secondary calies from monogynous polydomous colonies of *P. goeldii* contain more virgin females than primary calies. The distribution of males is not, however, biased in these colonies, despite higher worker ovarian development and the presence of small egg sizes – indicative of worker-laid eggs – in secondary calies.

This biased female distribution can result from two non exclusive mechanisms : a preferential transfer of virgin queen towards secondary calies and/or a higher proportion of diploid brood reared into virgin female in secondary calies. Similar biased female distributions have been observed in others polydomous monogynous ant species (Ito et al., 1988 ; Snyder & Herbers, 1991 ; Banschbach & Herbers, 1996 ; Cerdá et al., 2002), and most authors have concluded that isolating the diploid brood from the queen may lead to its sexualization in secondary calies. Queen loss typically leads to the development of virgin females in orphaned colonies (Brian, 1980), and *P. goeldii* orphaned colonies follow the same pattern. Such brood sexualization likely results from the lack of queen pheromones, so a decrease in queen pheromones could lead to diploid brood sexualization in secondary calies. Indeed, queen presence can be difficult to perceive in a calies physically distinct from the one containing the queen, since most identified queen pheromones appear to be non-volatile (e.g., *Dinoponera quadriceps* : Monnin et al., 1998 ; *Harpegnathos saltator* : Liebig et al., 2000) ; *Pachycondyla cf inversa* : Heinze et al., 2002). In *Diacamma* sp., gamergate (i.e. reproductive female) pheromones disperse throughout the caly by direct physical contact between the reproductive and the workers (Tsuji et al., 1999).

Studies suggest that queen reproductive pheromones, although non-volatile, can be distributed throughout the caly by workers who have been “contaminated” when grooming

the queen (e.g., in large colonies of honeybees or argentine ants : Seeley, 1979 ; Naumann et al., 1991 ; Naumann et al., 1992 ; Passera et al., 1995). Queen-laid or gamergate-laid eggs can also be labelled by such pheromones (e.g., Monnin & Peeters, 1997 ; D'Ettorre et al., 2004a ; Endler et al., 2004 ; Endler et al., 2006). It is our contention that any queen signal diffusing indirectly through workers into queenless calies is likely to be less efficient than the direct presence of queen in primary calies. Such a diminished queen signal could lead to the sexualization of diploid brood in these secondary calies.

Both higher worker ovarian development and the presence of small-sized eggs in secondary calies could result from the same decrease in queen pheromones. In all known cases, queen pheromones have an inhibitory effect on worker reproduction (e.g., Brian, 1980 ; Bourke, 1988). Queen pheromones were previously described as a substitute for physical intimidation, allowing the queen to manipulate workers and win the conflict over male parentage (i.e., queen control theory ; Wilson, 1971 ; Fletcher & Ross, 1985 ; Bourke, 1988). Recently an alternative theory views queen pheromones as an honest signal used by workers to behave in their own best interest by triggering self- or worker-policing in the presence of the reproductive (Fletcher & Ross, 1985 ; Ratnieks, 1988 ; Keller & Nonacs, 1993). In view of this last theory, queen pheromones seem to activate self-policing in *P. goeldii* workers. Nevertheless, the fact that both caly types contain comparable numbers of males despite worker ovarian development and shorter overall egg length in secondary calies seems to indicate that worker-policing occurs in these calies.

Finally, the most likely proximal mechanism explaining the distribution of gynes, the physiological development of workers, and the presence of small-sized eggs in secondary calies is the pheromonal absence of the queen from these calies, which leads to the development of orphaned-colony features (i.e., gyne production and worker reproduction).

The particular distribution of virgin females could have an impact on their dispersion during the nuptial flight. Indeed, in the polygynous polydomous ant, *Mymica rubra*, calies at the periphery of the colony invest more heavily in new workers. This species reproduce by budding, a process by which queens leave their natal nest with a group of workers to initiate a new nest. Invest in individual in charge of colony reproduction in peripheral calies could facilitate their dispersion (Walin et al., 2001). In species, such as *P. goeldii*, that reproduce by independent colony foundation, the accumulation of virgin queens in peripheral calies could also lead to a better dispersion of sexuals. In *P. goeldii* colonies, such a scheme is however highly improbable since the mean number of calies per colony is 2.9 ± 1.4 . Such a low number of calies excludes the possibility that any single caly be devoted to reproductive dispersion, since none of the calies can be considered as peripheral.

We consider that the evolutionary reason for such a biased reproductive allocation between calies likely originates from the different conflicts occurring in ant colonies. Conflicts may arise between queens and workers over what proportion of resources should be allocated to growth versus reproduction. This type of conflict depends in part on parameters such as the population-wide sex-ratio, the survivorship probabilities of existing colonies, and the odds of establishing new colonies (Pamilo, 1991 ; Herbers et al., 2001). In monogynous monandrous ant species, a different type of queen-worker conflict results from a higher relatedness between workers and their respective sons than between workers and their brothers (Ratnieks et al., 2006). The expression of these various conflicts solely in secondary calies could be of great interest to the entire colony. Indeed, these conflicts are dependent on the rearing of sexuals, which may have disastrous consequences for a young colony as it is not sufficiently strong to support the added cost (Cole, 1986 ; Wenseleers et al., 2004). Since the number of calies is a good indicator of colony size, the expression of these queen/worker

conflicts exclusively in secondary calies would save colony of a so earlier reproductive development.

Acknowledgements

We are grateful to Philippe Cerdan of HYDRECO for access to facilities, as well as Kiki for his invaluable help in the field. We wish to thank Rumsaïs Blatrix for his helpful comments on an earlier version of this paper. This work was partially supported by a doctoral research grant (N° 00128) awarded by the Ministère de la Jeunesse, de l'Éducation Nationale et de la Recherche to AP. DD and AP are grateful to the Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée for funding of the 2001 and 2002 field studies in Petit-Saut, French Guiana.

4. Manuscrit #3

Worker reproduction in polydomous societies of *Pachycondyla goeldii*

(Hymenoptera : Formicidae)

Ethology: submitted

Damien Denis, Stéphane Chameron, Léna Costille, Arnaud Pocheville, Nicolas Châline,

Dominique Fresneau

Laboratoire d’Ethologie Expérimentale et Comparée, CNRS UMR 7153,

Université Paris 13, 99 avenue J.-B. Clément, 93430 Villetaneuse, France

Key Words : Worker reproduction, Workers-workers conflict ; Antennal boxing ; Polydomy ; Monogyny

4.1. Summary

In eusocial Hymenoptera, the ability of workers to reproduce is a cause of conflict, both between the queen and workers and among workers. Reproductive decisions by workers depend on parameters such as colony size (which reduces the cost of selfish reproduction for the colony) or queen fertility. Indeed, queen signals are thought to inhibit reproduction from workers either by coercion or because of self restraint. In larger colonies, the queen signal has to spread via inter-individual contacts. Multi-nests societies called polydomous facilitate the collection of scattered food and colony movement in unstable environment. In these societies, queen signal dispersion should be hindered by the physical absence of queen in some nests. Here we investigate how polydomy influences worker reproduction and social hierarchy in the monogynous polydomous ant *Pachycondyla goeldii*. We show, for the first time in a polydomous species, that *P. goeldii* workers in the field display a significantly higher ovarian development in secondary (queenless) than in primary (queenright) calies. More importantly, ovary development is fully consistent with worker reproduction only in secondary calies. We also present experimental evidence of reproductive hierarchy set-up in newly-colonised secondary calies. We therefore postulate that in *P. goeldii* worker reproduction takes place in secondary calies of polydomous colonies, where it is regulated by reproductive hierarchy. Our results lead us to discuss the mechanism of queen signal dispersion between nests. We postulate that the proximate cause for the set-up of a hierarchy between workers, and the eventual development of their ovaries, is the decrease in queen signal intensity in secondary calies. Caly development is a good indicator of colony size and therefore could be used by workers to trigger reproduction.

4.2. Introduction

In eusocial Hymenoptera, relatedness asymmetries within colonies lead to potential conflict over reproduction between colony members (Hamilton, 1964a, 1964b ; Wilson, 1971 ; Hölldobler & Wilson, 1990). In most species, workers cannot mate but retain functional ovaries and are able to lay unfertilised eggs which develop into males. The reproductive potential of workers can be most readily seen when the queen is lost and many workers start laying eggs which are reared into males before colony death (Brian, 1980 ; Bourke, 1988). This ability of workers creates a conflict over male production because individuals (be it a queen or a worker) are always more related to their own sons (Trivers & Hare, 1976 ; Ratnieks, 1988). However, this conflict is rarely expressed because of social regulation mechanisms (known as policing) or self-restraint from most individuals, leading to a queen monopoly on male production (Fletcher & Ross, 1985 ; Bourke, 1988 ; Ratnieks, 1988 ; Keller & Nonacs, 1993).

Two parameters explain the evolution of such mechanisms. The first is relatedness. For example in polyandrous species, workers as a group are on average more related to the queen's sons than to the workers' sons and therefore benefit from preventing each other from reproducing (Ratnieks, 1988). The second is the cost of selfish reproduction by workers to colony productivity (Wenseleers et al., 2004). These two parameters combine as selfish reproduction by workers is at a cost to the production of related individuals (both male and female), so often cost to inclusive *fitness* will outweigh the direct *fitness* benefits of reproduction (Wenseleers et al., 2004 ; Helanterä & Sundstrom, 2005 ; Ratnieks et al., 2006).

Reproductive decisions by colony members will depend on these parameters and on the amount of information available to them to assess colony state (Bourke & Ratnieks, 1999 ;

Beekman & Ratnieks, 2003). Several colony characteristics can influence the costs of reproduction. The first is colony size as diminishing returns to scale or productivity effect (Michener, 1964 ; Oster & Wilson, 1978 ; Bourke & Ratnieks, 1999) reduces the cost of selfish reproduction as colony size increases. The second is queen fecundity. If the queen fecundity decreases, or is less than the maximum amount of brood that the colony workforce could successfully rear, then both queen and workers can increase their inclusive *fitness* with worker reproduction (Wenseleers et al., 2004). Thus, fertility signals from the queen are thought to play an important role in the assessment of colony productivity. Queen pheromonal signals inhibit reproduction from workers by coercion (Fletcher & Ross, 1985 ; Bourke, 1988) or self-restraint (Ratnieks, 1988 ; Keller & Nonacs, 1993).

How queen pheromones spread through the colony heavily depends on colony structure, size and organisation. In small societies, each individual is potentially in direct contact with the queen, whereas in larger ones the queen signal has to spread via inter-individual contacts (Seeley, 1979 ; Naumann et al., 1992 ; Naumann et al., 1993 ; Passera et al., 1995 ; D'Ettoire et al., 2004a ; Endler et al., 2004 ; Endler et al., 2006). Multi-nests societies (called polydomous) facilitate the collection of scattered food and colony movement in unstable environment (Foitzik & Heinze, 1998 ; Holway & Case, 2000 ; Debout et al., 2003). Polydomous species are very interesting to understand the mechanism of queen signal dispersion because the colony is separated in distinct physical units called calies. An additional division occurs in species both polydomous and monogynous with colonies containing two distinct types of calies : one containing queen and workers (primary caly, hereafter), and one or several calies containing only workers (secondary calies, hereafter). Direct interactions between the queen and workers in secondary calies of these colonies are therefore rare or absent, which could lead to worker reproduction.

The structure of reproductive conflict according to this spatial organisation has seldom been investigated. Studies on such species have suggested that workers rear more female sexuals in secondary calies (Ito et al., 1988 ; Snyder & Herbers, 1991 ; Banschbach & Herbers, 1996 ; Cerdá et al., 2002) but none to our knowledge have shown the occurrence of physiological or behavioural changes indicating worker reproduction in these secondary calies. If workers reproduce, an additional conflict may occur between individual workers since they are more related to their own sons than to their nephews. Regulation of worker reproduction is also common since selfish reproduction by all workers would inevitably lead to a “tragedy of the commons” (Wenseleers et al., 2004). Therefore, in such cases, a hierarchy with dominants and subordinates workers typically sets up with only the former actively reproducing (Heinze et al., 1997 ; Heinze et al., 1999 ; Trunzer et al., 1999 ; Heinze et al., 2002).

The kinetic of such conflict is likely to be comparable to the one described in workers-workers conflict from others species : an increase in dominance interactions between workers followed by a decrease leading to hierarchy stabilization. (Heinze et al., 1994 ; Heinze et al., 1997 ; Heinze & Oberstadt, 1999 ; Gobin et al., 2001 ; Heinze et al., 2002 ; Gobin & Ito, 2003).

P. goeldii is a neotropical arboricolous species, mainly investigated for its capacity to initiate ant-plant structure called ant-garden (Orivel et al., 1998 ; Orivel, 2000). Mature colonies of *P. goeldii* usually occupy several ant gardens dispersed over several square meters, a structure adaptively advantageous in coping with the microclimatic instability of pioneer areas by providing colonies with easily accessible nests (Denis et al., accepted).

We studied how polydomy influences worker reproduction and social hierarchy in *P. goeldii*. We first checked out workers’ ovary development in primary and secondary calies

of nests in the field. Then, we designed experiments to investigate the physiological and behavioural changes in workers colonizing a new secondary nest. Following this we focused on queen pheromone transmission : does the queen signal need direct queen-worker contacts to be effective in *P. goeldii*? Additional data on worker behaviour and physiology after queen loss provide a point of comparison for all these experiments.

4.3. Materials and methods

Field study

We thoroughly searched 6 non-contiguous forest areas (range 22-124 m²) for *P. goeldii* nests in Petit Saut, French Guyana, in October 2002. We found a total of 44 nests which were grouped by colony after conducting dyadic encounters (Denis et al., accepted). 20 % of the workers were frozen for dissections in 9 primary and 9 secondary colonies.

Laboratory study

Colonies

14 other *Pachycondyla goeldii* colonies were collected in September 2002 near the dam of Petit Saut, French Guiana (grouping nests by colony). We found a queen in 12 polydomous colonies ; 2 colonies were considered as orphaned (i.e. no associated primary nest could be found during collection). Colonies were installed in plaster nests (19 x 26 x 3.5 cm), reared at 28 ± 2 °C with 80 ± 2 % relative humidity and fed twice weekly with diluted honey, *Drosophila* and crickets.

Dissections

Dissections allowed us to classify ovaries as “developed” or “non-developed” depending on the presence of at least one oocyte in ovaries. An ant with at least one oocyte of 1 mm or more (the minimal length of a viable egg is 1 mm ; Denis, own data) was furthermore considered as “fertile”.

We also designed an ovarian index for each ant as the total length of all chorionated basal oocytes (i.e. reproductive eggs, see (Dietemann & Peeters, 2000), to provide us with a continuous variable for correlation with agonistic behaviours.

Behavioural analysis

We monitored the occurrences of three easily discernable agonistic behaviours through all experiments : (i) biting, (ii) asymmetrical antennal boxing and (iii) symmetrical antennal boxing.

Antennal boxing is a well documented ritualized behaviour representative of dominance relationships (e.g., Ito & Higashi, 1991 ; Heinze et al., 1996 ; Cuvillier Hot et al., 2004a), during which a worker makes a rapid lunge of its vibrating antennae and intensely pummels the head of a target individual. The assailed worker can submit itself or not. In the first case, it adopts a submissive posture by lying down with its antennae pressed flat over its head. This behaviour was called asymmetrical antennal boxing (AA ; one dominates, one is dominated). In the second case, the recipient worker does not display any submissive posture but rather performs, in turn, a similar antennal boxing behaviour. This was called a symmetrical antennal boxing (SA ; no obvious dominant). SA thus have no clear dominance outcome, and could reflect the lack of stabilized dominance relationships between the two protagonists ; we assume that they could also have other social significance, such as regulation of division of labour.

We designed an index of hierarchy set-up within groups of workers based on antennal boxing behaviours. This hierarchy state index (HSI) was defined as the ratio of the number of asymmetrical antennal boxing to the total number of antennal boxing behaviours performed by the n workers of a given group :

The rationale here is to normalise the number of AA in quantitatively and qualitatively distinct groups. Both the group size and the characteristics of individuals (e.g., impeded or not, see experiment 3) could indeed impact the total number of antennal boxing behaviours in a complex, non-linear way. HSI represents the proportion of accepted dominance interactions within ritualized antennal interactions between workers. It ranges from 0 to 1, 0 meaning that no submissive response could be observed and 1 that all ritualized antennation resulted in submission. Due to hierarchy formation dynamics, HSI should be low in absence of hierarchy but also in a stabilised one where dominance interactions are rare or inexistent. On the contrary, HSI should increase before levelling off during hierarchy formation.

Statistics

Comparisons between groups were performed using the exact permutation test with strata (Good, 2000). We applied Bonferonni correction to determine p values in post hoc tests when necessary. Comparisons within groups were performed using the exact chi-square test. Last we calculated the Pearson's r exact test using Monte Carlo procedure for correlations. All statistical tests were calculated using StatXact-3 version 3.1 (Cytel Software Corporation).

Experiments

Behavioural and physiological responses to queen loss

Firstly, we checked that agonistic interactions take place between workers after queen loss. Six colonies (containing 213 to 446 workers and 263 to 551 brood items) were divided each in two equal parts except for the presence of the queen in one of the calies. Each colony was observed for one hour just before division (day 0, control) and on day 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 and 12 following division. 20 workers were randomly collected in each group (orphaned and

queenright) one month after colony orphaning for two of those colonies to assess ovarian development.

Secondly, we investigated the link between AA and ovarian development in stabilized orphaned colonies. For this purpose, the two orphaned colonies collected in the field were divided 6 months later into six experimental groups of forty workers each. Workers were individually labelled using enamel paint. We observed each group one hour daily for one month, afterwards all workers were frozen pending dissection.

Workers' behaviour and physiology in secondary calies of queenright colonies

We designed an experiment in two phases to investigate how agonistic interactions could take place in newly-colonized secondary calies when polydomous colonies develop. In a first step (colonization phase) ants were offered the opportunity to colonize a new caly, and observation took place without further manipulation. In a second step (impeding phase) part of those workers were impeded either in the primary or secondary caly of colonies.

Colonization phase

Six queenright colonies (containing 226 to 419 workers and 267 to 459 brood items) were installed into six plaster nests connected to a foraging container. Three days later an extra empty nest was connected to each foraging container. Rapidly, ants moved into these new nests, occasionally bringing brood. The empty nests were considered as colonized when they contained more than 50 workers and 10 brood items. Both nests were observed one hour daily from this moment on day 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 and 12. We hereafter refer to newly colonized nests as secondary calies, and to former nests as primary ones. Queens never left the primary calies.

To estimate the rate of workers commuting between calies, we individually labelled 32 workers in each caly on day 1 for two colonies. Marked workers location was then monitored twice daily for five successive days.

Impeding experiment

On day 13, a total of 50% of the workers were randomly selected and individually marked in each of the six colonies. We glued a piece of plastic string (0.5 mm in diameter, 10 mm long) on the alitrunk of half of those (impeded workers, hereafter). All workers and brood were then equally distributed between the primary and secondary calies, so that each nest contained 50% of the colony workers (25% non-marked, 12.5% marked and 12.5% marked and impeded) and brood. Impeded workers could not move from their original caly of installation (see (Tsuji et al., 1999)).

We therefore obtained three distinct groups within marked workers : those stuck in primary and secondary calies, and those free to commute. We recorded their agonistic behaviours one hour daily for five days. Free workers that had always been observed in the same caly were discarded since we could not assume that they functionally differed from impeded workers.

At last one month after the end of the experiment (day 50) 20 marked workers were randomly picked up from each caly in two colonies and frozen for dissection.

4.4. Results

Field study

The mean number of calies per colony was 2.4 ± 0.88 (\pm standard error ; $n = 44$). The percentage of workers with developed ovaries was higher in secondary calies than in primary ones (Fig. 1A). Moreover, potentially fertile workers could be found only in secondary calies (Fig. 1B).

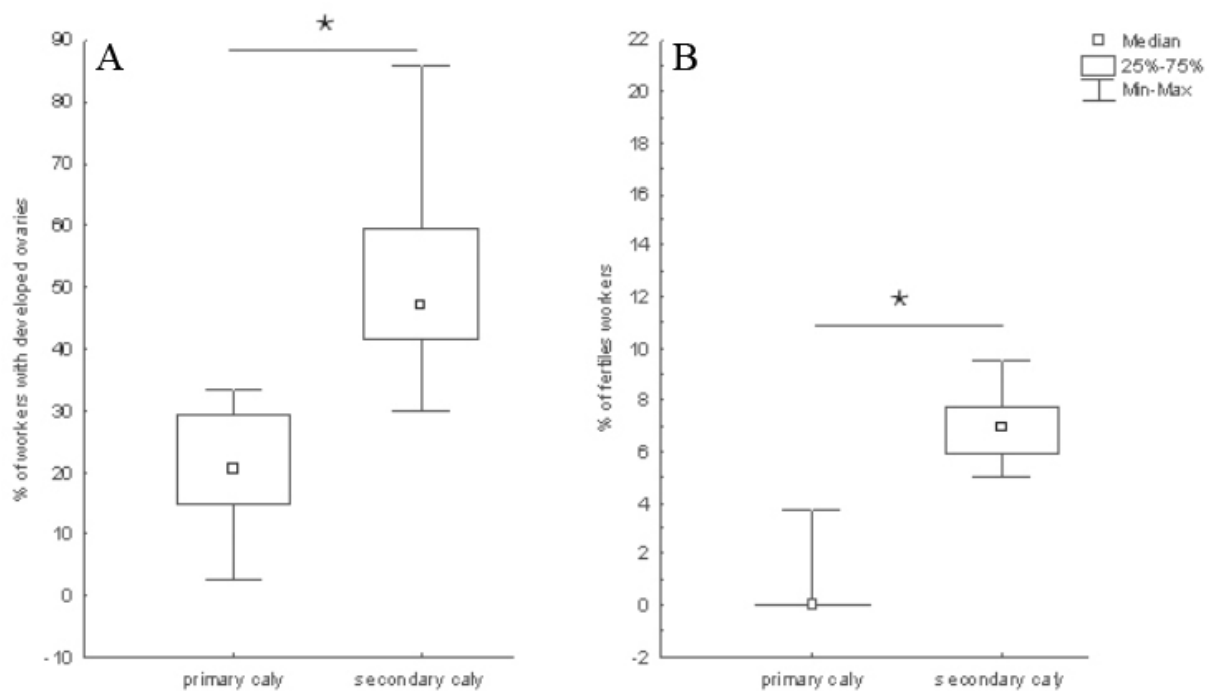


Figure MS#3-1 : **A.** Percentage of workers with developed ovaries in primary and secondary calies ($n = 9$ for both). **B.** Percentage of potentially fertile workers (showing at least one oocyte 1 mm long or more) in primary and secondary calies ($n = 9$ for both). Exact permutation test with strata between primary, secondary and isolated calies ; * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.001$

Laboratory study

Behavioural and physiological responses to queen loss

Pachycondyla goeldii workers displayed agonistic behaviours in response to queen loss. Queenright and queenless groups differed for all three behaviours from the first or second day on (Fig. 2).

Agonistic behaviours were rare in queenright colonies, except for a base level of SA. Bites never occurred in this group. On the contrary, we noted a drastic increase of agonistic behaviours in orphaned nests : we observed biting behaviours during the four days following orphaning and AA showed a persistent fourfold increase compared to queenright levels. As a consequence, SA nearly disappeared after queen loss. HSI significantly differed between queenless and queenright nests from the second day after separation (Fig. 3), reflecting hierarchy development in orphaned groups.

We found more workers with developed ovaries in queenless groups (65 and 70%) than in queenright groups (respectively 10 and 15 % ; $P < 0.001$ for both colonies) one month after queen loss. More finely, we found that 40 and 50 % of the orphaned workers were potentially fertile while none were in queenright groups ($P < 0.01$ for both colonies).

As expected, the HSI observed in colonies at least 6 months after queen loss was low and similar to HSI in queenright colonies. We observed developed ovaries in 57 ± 10 % of the workers (mean \pm standard error), 25 ± 13 % of them being potentially fertile. The percentage of given AA (ratio of given AA over the sum) during the observation period was significantly correlated with ovarian development (Figure 4).

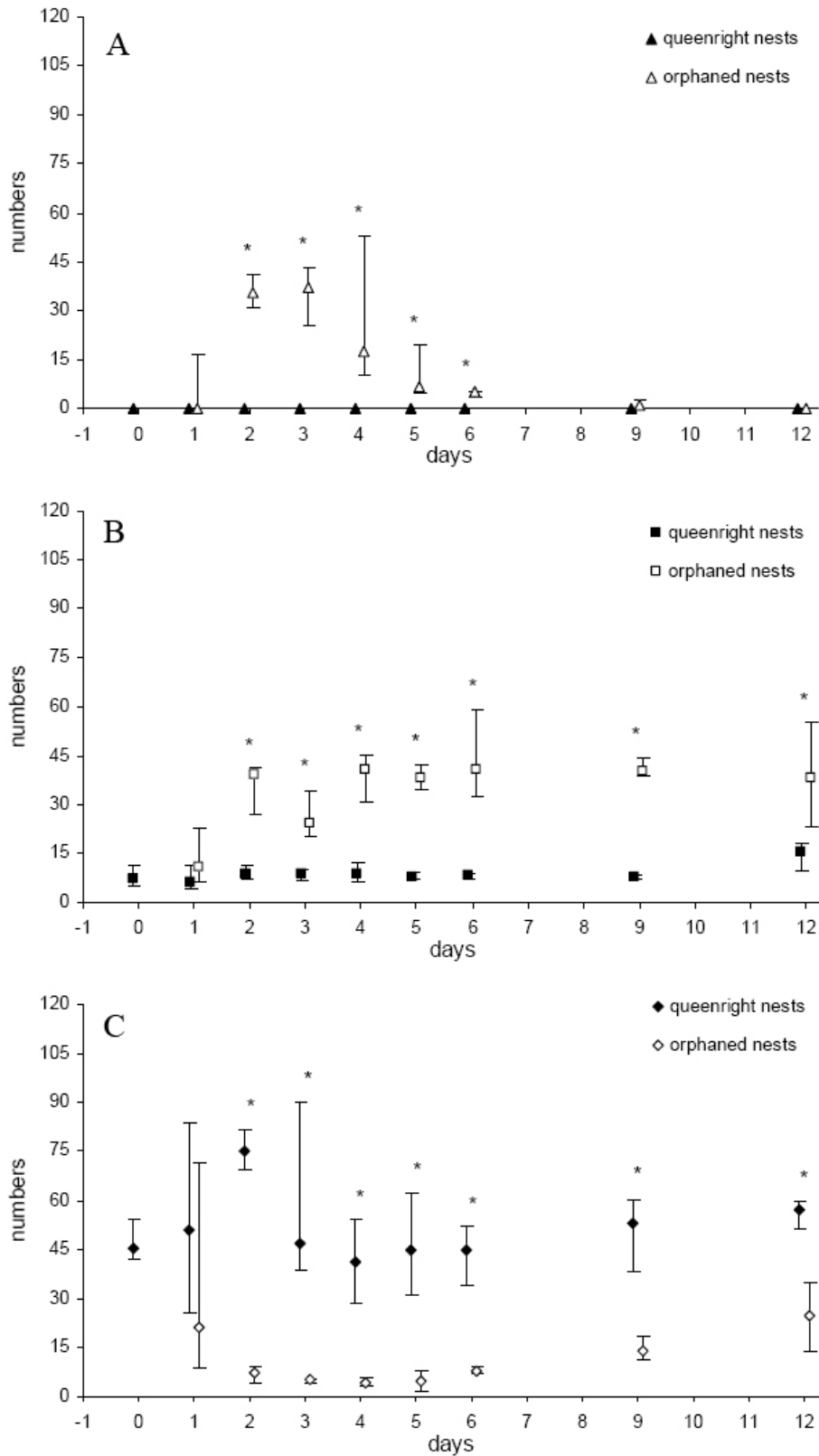


Figure MS#3-2 : Evolution of the occurrence of agonistic behaviours in queenright and orphaned nests (respectively closed and open symbols ; n = 6 for both groups). Separation occurs between days 0 and 1. **A.** Bites. **B.** Asymmetrical antennal boxing. **C.** Symmetrical antennal boxing.

Symbols represent medians, whiskers represent the first and third quartiles. Exact permutation test with strata between queenright and orphaned nests ; * : P<0.05.

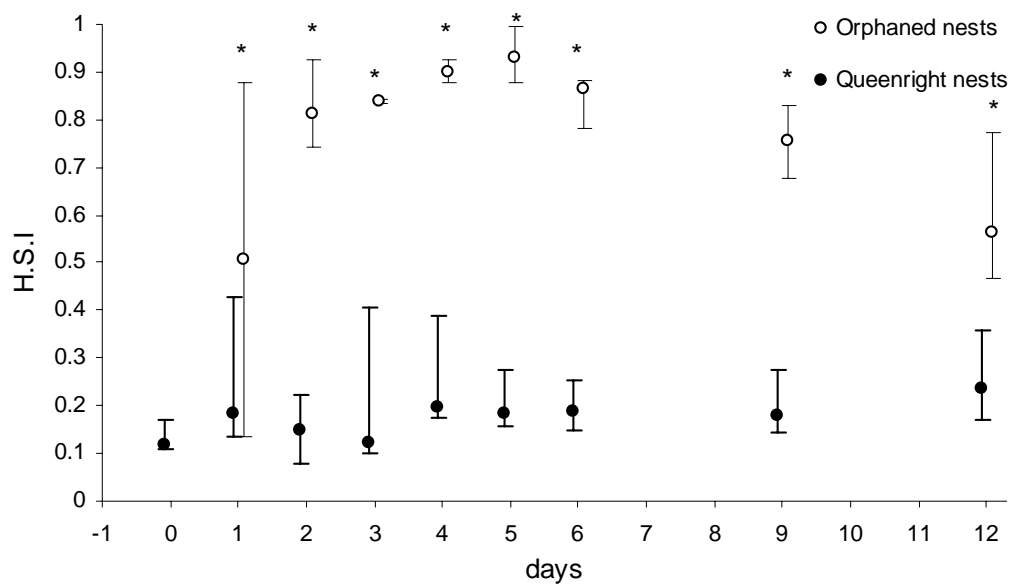


Figure MS#3-3 : Evolution of the hierarchy state index (H.S.I.) in queenright and orphaned nests (respectively closed and open symbols ; n = 6 for both groups). Separation occurs between days 0 and 1.

639 recorded behaviours in the queenright nests on day 0, {411, 487, 443, 387, 270, 282, 314, 338} and {404, 200, 147, 208, 209, 274, 301, 326} recorded behaviours in respectively queenright and queenless nests on days {1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12}.

Symbols represent medians, whiskers represent the first and third quartiles. Exact permutation test with strata between queenright and orphaned nests ; * : P<0.05.

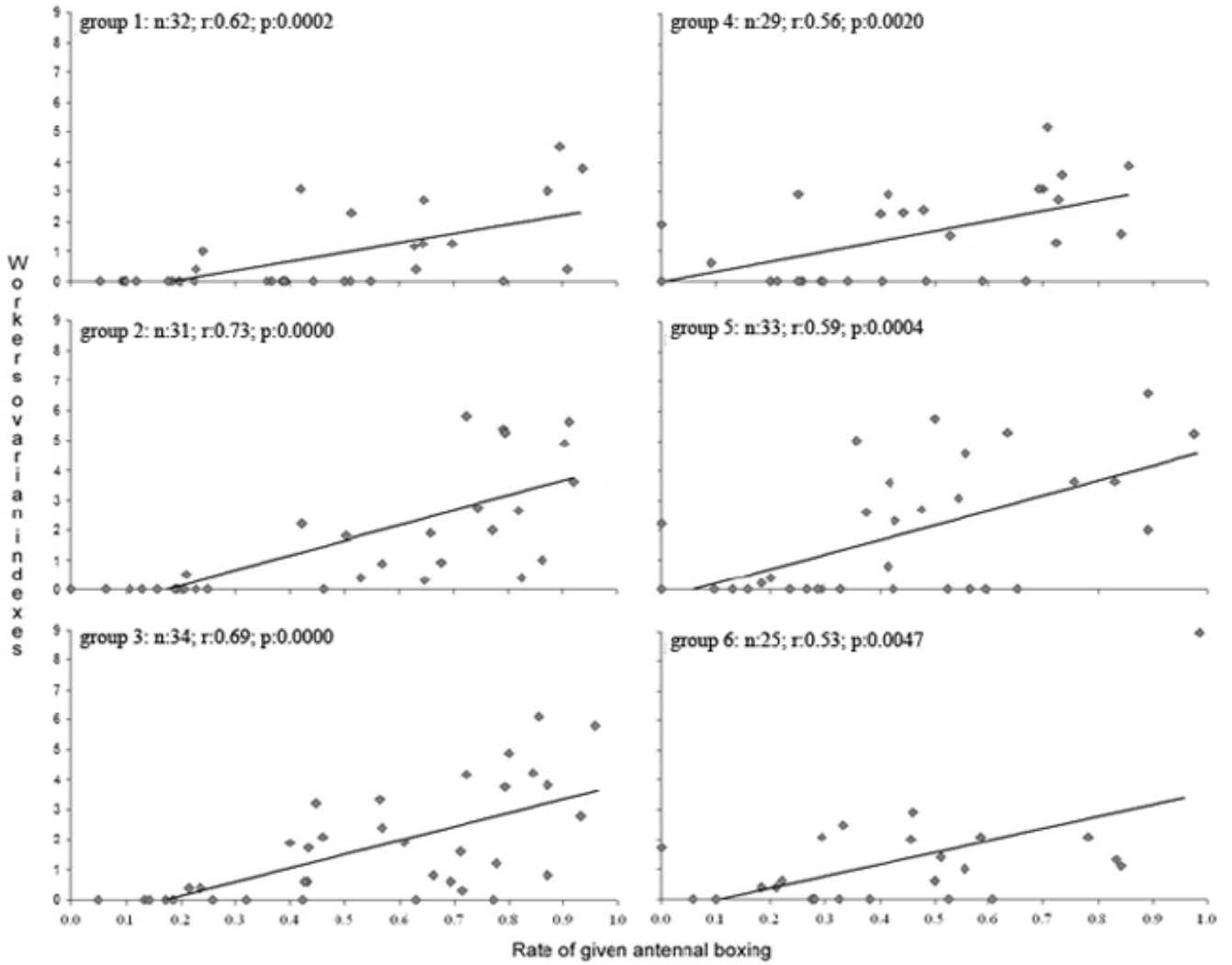


Figure MS#3-4 : Correlation between the given/received asymmetrical antennal boxing rate and ovarian development of each ant for 6 orphaned groups of workers. Pearson's r exact test using Monte Carlo procedure.

Worker behaviour and physiology in secondary calies of queenright colonies

Colonization experiment

No biting behaviour could be observed in this experiment, neither in secondary nor primary calies. Nevertheless, the significant increase of the AA (counterbalanced by a decrease of the SA) reflects the rise in agonistic interactions in secondary calies (Fig. 5A, 5B). The proportion of asymmetrical relationships is significantly higher in secondary than in primary calies, both remaining relatively stable for the whole observation period (Fig. 5C). We therefore conclude that hierarchies develop in secondary calies.

We could verify that our experimental (primary and secondary) calies were functionally connected since 73 % of the marked workers ($n = 128$) were seen at least once in each caly. Nevertheless a majority of workers (60.84%) showed a preference for one caly or the other, where they were observed in more than 80% of the observations.

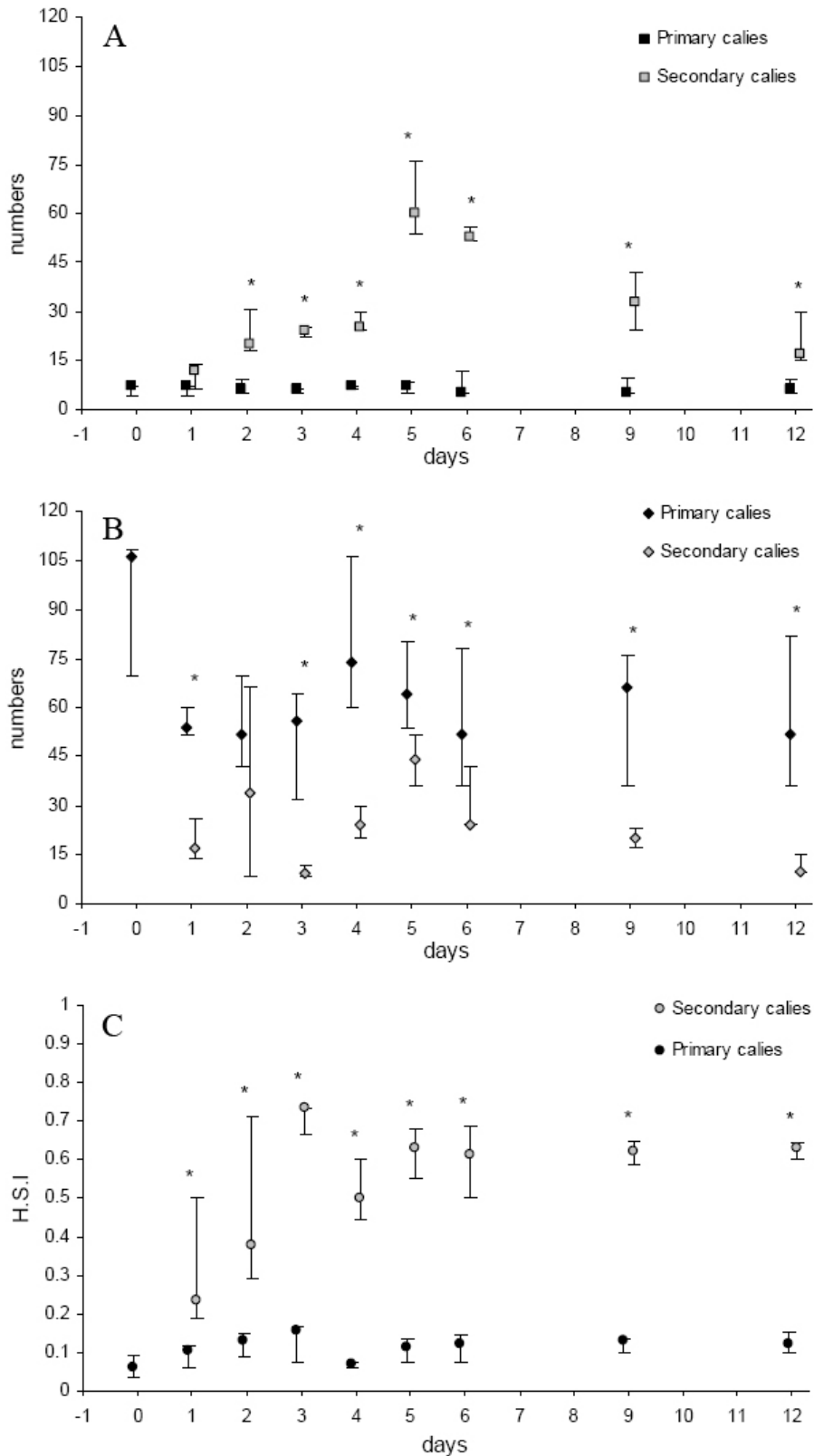


Figure MS#3-5 : Evolution of the occurrence of agonistic behaviours in primary and secondary calies (respectively closed and shaded symbols ; n = 6 for both groups). Empty nest is considered as colonized from day 1. **A.** Asymmetrical antennal boxing. **B.** Symmetrical antennal boxing. **C.** Hierarchy state index (H.S.I.). 552 recorded behaviours in primary calies on day 0, {374, 392, 314, 480, 400, 426, 360, 350} and {173, 337, 196, 284, 519, 410, 277, 169} recorded behaviours in respectively primary and secondary calies on days {1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12}. Symbols represent medians, whiskers represent the first and third quartiles. Exact permutation test with strata between queenright and orphaned nests ; * : P < 0.05.

Impeding experiment

Workers from the three functional groups (impeded in secondary or primary calies, and commuting workers) did not perform the same number of AA. Using HSI, we found that workers impeded in secondary calies showed much more dominance interactions than both workers impeded in primary calies and commuting workers (Fig. 6). *Pachycondyla goeldii* workers, if physically separated from their queen, therefore develop a hierarchy even when functionally linked to the primary caly. 99 of the 203 marked free workers had indeed been observed in both calies during the time of this experiment. Those commuting workers showed a HSI similar to the one of primary caly workers, indicating that they did not engage in dominance relationships.

We could not detect any significant difference in the physiological status of workers in primary and secondary calies of the two studied colonies (respectively 10 vs. 10 % and 10 vs. 15 % of workers displayed developed ovaries). No potentially fertile worker could be found, neither in primary nor secondary calies.

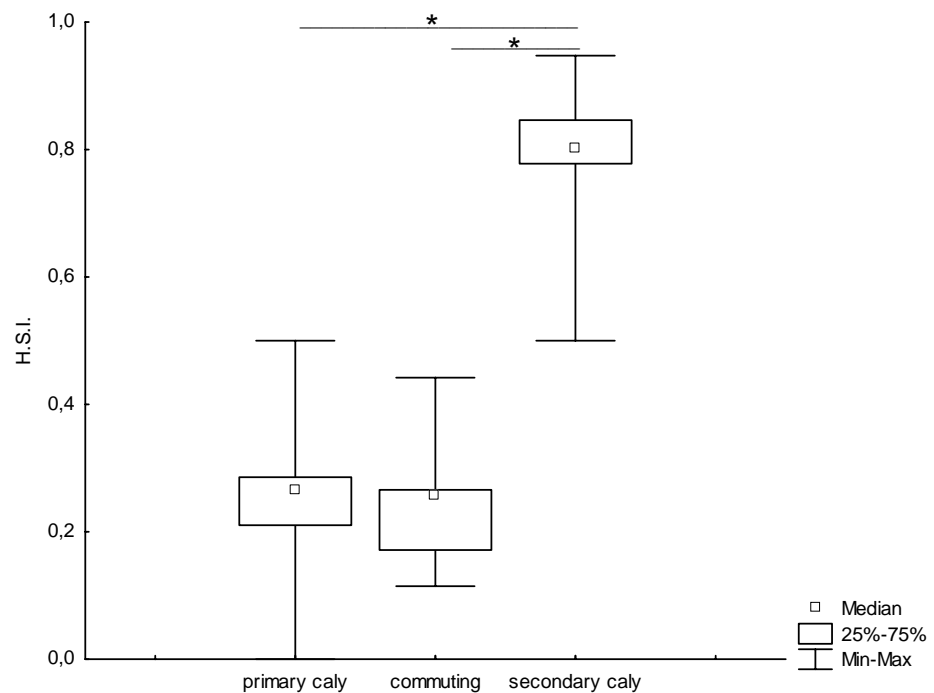


Figure MS#3- 6 : Hierarchy state index (H.S.I.) for impeded workers in primary and secondary calies, and for commuting workers (respectively 111, 142 and 1331 recorded behaviours). Exact permutation test with strata after Bonferroni correction ; * : $P < 0.05$

4.5. Discussion

Our experimental and field data strongly support the hypothesis of worker reproduction, regulated by dominance hierarchy, in secondary calies of *P. goeldii* polydomous societies. Our field data show, for the first time to our knowledge, a higher proportion of workers with developed ovaries in secondary calies than in primary calies (where workers are in physical contact with the queen) of a polydomous ant society. Moreover, only in secondary calies were workers potentially fertile (between 5 and 10%), which is fully consistent with the hypothesis of worker reproduction in these calies (Heinze et al., 1994). The fairly low proportion of potential laying workers suggests the establishment of a reproductive hierarchy in response to queen isolation. The behavioural data from the laboratory experiments confirm that agonistic interactions increase between workers during caly development. This increase was transient, consistent with a hierarchy being set-up and then stabilizing (Heinze et al., 1992 ; Heinze et al., 1994 ; Heinze et al., 1997 ; Heinze et al., 2002 ; Gobin et al., 2003 ; Gobin & Ito, 2003).

There are notable differences between our field data, our experimental data on secondary calies and those on orphaned colonies. The first difference is physiological. In the experimental colonies, we found no differences in ovary development between primary and secondary calies. This contrasts strongly with both field data and orphaning experiments. As workers in natural secondary calies had activated ovaries, the reason for this difference is probably the laboratory set-up itself as it only partly recreates natural situation. In the experiments, brood and worker exchange was extensive (73% of marked ants commuted between calies) whereas contacts would be limited in the field, where distance between calies is much larger and connection more hazardous. It is a well-known phenomenon that queen signals can be indirectly spread through the colony by workers that acquire them during queen

grooming, and then transfer it on others (Seeley, 1979 ; Naumann et al., 1991 ; Naumann et al., 1992 ; Passera et al., 1995). Queen-laid eggs can also be labelled by such pheromones, thus informing workers of the presence of a fertile reproductive and thereby regulating worker reproduction (D'Etterre et al., 2004a ; Endler et al., 2004 ; Endler et al., 2006). Our third experiment strongly suggests a queen signal relayed by indirect cues. In this experiment some workers of secondary calies were prevented from commuting to primary caly, and therefore completely lacked direct contact with the queen. They nevertheless significantly differed from orphaned workers for ovarian development, proving that they perceived the presence of the queen even if the queen signal was attenuated (they also behaviourally differed from workers in primary caly). In natural conditions reduced exchanges between calies probably limit the effect of such signals, leading to worker reproduction.

The absence of ovarian development in experimental secondary calies contrasts strongly with the establishment of a hierarchy between workers. This suggests a difference, at least quantitative, between mechanisms triggering hierarchy set-up and those inducing ovary developments. When secondary calies are created, it pays for workers to become dominant first, even if ovary development is slightly delayed. Indeed, conflict between workers means that dominant workers are the only few that succeed in activating their ovaries, and perhaps even reproduce (Miller & Ratnieks, 2001).

The second noticeable difference is behavioural. Contrary to orphaned colonies, no biting was observed in secondary calies. A possible explanation for this could be the lack of ovarian development in secondary calies. However, in orphaned calies, biting was observed only two days after colony set-up, much too quickly for physiological changes to take place. Behaviour alteration can occur very quickly despite physiological changes being slower. For example in *D. quadriceps*, aggression immediately increases after alpha removal, even if the

physiological changes associated take months to happen (Monnin & Peeters, 1999). Similarly in *P. obscuricornis* aggression occurs 2 days after queen removal and 19 days before worker egg laying (Gobin et al., 2003). We therefore assume that behavioural differences between experimental secondary calies and queenless colonies are genuine and reside in the intermediate status of the former. As formerly mentioned, workers in secondary calies are informed of the queen presence both by worker and brood exchange. Exposed to a weak (but not null) queen signal, workers display a ritualised agonistic behaviour, avoiding potentially harmful bites and thus setting up a hierarchy at a low cost. This is fully consistent with the intensity of the conflict at stake and its associated costs. It is of primary importance for a worker to start reproducing immediately after queen loss, whatever the cost, mainly because of the short life expectancy of orphaned colonies. The timescale for worker reproduction in secondary calies is much longer, allowing a more peaceful strategy for hierarchy set-up.

A major conclusion of our study is that workers in *P. goeldii* colonies integrate a variety of signals that affect both their behaviour and physiology, leading to clear differences in the functioning of primary, secondary and orphaned calies. Worker reproduction in secondary calies, as reported here for the first time, could not be explained by relatedness-based conflicts, since workers in primary and secondary calies would not be expected to behave differently on that ground. In contrast, the cost involved in the conflict over male production sheds light on our findings. The cost of selfish reproduction on colony productivity decreases when colony size increases (Michener, 1964 ; Oster & Wilson, 1978 ; Bourke & Ratnieks, 1999). In Ponerinae species like *P. goeldii* where queen fecundity is low (Peeters, 1997), worker reproduction could be adaptive when the worker force exceeds what is needed for successfully rearing all the queen-laid brood. The potential cost of reproduction is nevertheless greater in queenright than in orphaned colonies, as the decrease in productivity affects both female and male production in the former (Wenseleers et al., 2004). This may

explain the higher proportion of fertile workers in orphaned calies compared with natural secondary ones. This could also explain the escalation of conflict from ritualized to overt in orphaned colonies. Caly development is a good indicator of colony size and therefore could be used by workers to trigger reproduction. In large insect societies, the amount of queen signal available to each individual regularly decreases as colony enlarges (dilution effect, (Naumann et al., 1993 ; Watmough et al., 1998). Colonising new calies during colony development could accentuate this dilution effect in the small Ponerine societies. The proximate cause for setting up a hierarchy, and eventually developing ovaries, would then be the decrease in queen signal intensity in secondary calies. Taken together, our results make *P. goeldii* an excellent model to study proximate mechanisms not only of conflict over male production but also of other conflicts like sex allocation and caste conflicts.

Acknowledgments

We wish to thank Dr R. Blatrix and two anonymous referees for constructive comments on an earlier version of this paper. The experiments were conducted in accordance with the current laws of France to the best of the authors' knowledge.



CHAPITRE III : LES SIGNAUX CHIMIQUES

1. Introduction

1.1. De l'indice au signal

Chaque fourmi peut être définie par ses congénères de façon individuelle ou comme faisant partie de l'ensemble plus vaste qu'est la colonie. Ainsi les fourmis développent des caractéristiques individuelles ainsi que des caractéristiques communes aux autres membres de la colonie. Chacune de ces caractéristiques dévoilerait aux individus capables de les interpréter certaines informations sur l'individu considéré. Ces indices ('*cues*' dans la littérature anglophone) sont définis au sens large comme "*a feature of the world, animate or inanimate, that can be used by an animal as a guide to future action*" (Hasson, 1994). Certains de ces indices peuvent servir de base à un système de communication lorsqu'ils sont bénéfiques aussi bien au receveur qu'à l'émetteur ; ils deviennent alors des signaux. Un signal est généralement défini comme "*an action or structure which increases the fitness of an individual by altering the behaviour of other organisms*" (Dawkin & Krebs, 1978 ; Krebs & Dawkin, 1984 ; Hasson, 1994 ; Maynard Smith & Harper, 1995). Chez les fourmis, de nombreux signaux interviennent dans le fonctionnement de la colonie, ils sont pour la grande majorité de nature chimique (Karlson & Butenandt, 1959 ; Hölldobler & Wilson, 1990).

1.2. Des signaux multiples

Ainsi l'intégration sociale des comportements individuels est liée à la présence ou à l'absence de composés chimiques capables de véhiculer des informations relatives au statut et à l'histoire de l'individu. Il nous a semblé que ces signaux pouvaient être divisés en plusieurs groupes en fonction de leur rôle dans la société. (i) Ceux qui interviennent dans les conflits

inter-coloniaux : comme dans de nombreuses autres espèces de fourmis, les ouvrières de *P. goeldii* se montrent agressives envers les ouvrières d'autres colonies, caractéristique nécessitant l'existence de mécanismes de reconnaissance entre membres d'une même colonie (Vander Meer & Morel, 1998 ; Lenoir et al., 1999 ; Ozaki et al., 2005). De tels mécanismes semblent difficiles à mettre en œuvre puisqu'ils nécessitent la mise en place de caractéristiques communes au sein d'un ensemble d'individus relativement différents génétiquement. (ii) Les signaux chimiques intervenant dans les conflits intra-coloniaux, par exemple le développement d'une hiérarchie entre les ouvrières, nécessitent le développement de signaux caractéristiques du statut hiérarchique et/ou de la fertilité des individus prenant part à cette hiérarchie (Monnin et al., 1998 ; Peeters et al., 1999 ; Liebig et al., 2000 ; Dietemann et al., 2003). Enfin (iii) ceux intervenant dans le fonctionnement colonial. Ils correspondent à tous les composés chimiques susceptibles de transmettre une information nécessaire au bon fonctionnement de la colonie : les phéromones d'alarme, de piste, etc. (Karlson & Butenandt, 1959 ; Hölldobler & Wilson, 1990).

Nous avons tenté d'identifier quelques-uns des signaux intervenant au sein des colonies de *P. goeldii*. Nous nous sommes de plus attachés à étudier le rôle de ces signaux en fonction du contexte social dans lequel ils sont émis.

2. Les signaux chimiques et leurs fonctions chez *P. goeldii*

Récapitulatif des manuscrits 4 et 5

Au cours de ces deux études nous avons tenté d'isoler certains des signaux chimiques développés au sein des colonies. Nous nous sommes ainsi intéressés à deux types de signaux, ceux intervenant dans : (i) la discrimination inter-coloniale et (ii) la discrimination intra-coloniale. Si les signaux chimiques intervenant dans la discrimination inter-coloniale doivent être communs aux membres de la colonie, ceux qui interviennent dans la discrimination intra-coloniale doivent eux révéler les particularités individuelles des membres de la colonie. Ces derniers devraient intervenir dans les mécanismes de reconnaissance des rangs hiérarchiques, ainsi que dans les phénomènes d'oophagie observés au sein des colonies. L'oophagie elle aussi pourrait être liée au niveau hiérarchique des pondeuses.

2.1. Description de 3 types de signaux chimiques chez *P. goeldii*

L'odeur coloniale est reconnue comme étant la principale information utilisée par les ouvrières pour définir l'appartenance d'une autre ouvrière à la colonie (Vander Meer & Morel, 1998 ; Lenoir et al., 1999 ; Ozaki et al., 2005). La fermeture coloniale présentée par les ouvrières de *P. goeldii* nécessite donc la mise en place d'une odeur coloniale commune à toutes. La théorie de la gestalt explique de quelle façon des individus génétiquement différents peuvent développer une odeur commune semblable (Crozier & Dix, 1979 ; Crozier, 1987). En mélangeant ses odeurs individuelles aux odeurs recueillies sur ses congénères, chaque ouvrière peut finalement développer une odeur commune (Carlin & Hölldobler, 1986, 1987 ; Stuart, 1988 ; Crosland, 1989 ; Tsuji, 1990 ; Dahbi & Lenoir, 1998). La glande post-

pharyngienne PPG semble être l'organe de mélange de ces odeurs chez les fourmis (Lucas et al., 2004).

Au sein de cette odeur commune, chaque ouvrière de *P. goeldii* doit être capable de développer une odeur particulière liée à son rang hiérarchique (Monnin et al., 1998 ; Peeters et al., 1999 ; Liebig et al., 2000 ; Dietemann et al., 2003), ceci principalement dans les colonies orphelines ou dans les calies secondaires où elles sont amenées à pondre (voir chapitre 2). Dans la majorité des espèces répertoriées dans la littérature, une petite quantité de composés chimiques semble indiquer la fertilité des ouvrières ou des reines : *Dinoponera quadriceps* (Monnin et al., 1998 ; Peeters et al., 1999), *Harpegnathos saltator* (Liebig et al., 2000), *Myrmecia gulosa* (Dietemann et al., 2003), et *Pachycondyla inversa* (Heinze et al., 2002). Ces informations chimiques individuelles sont généralement utilisées au sein des conflits inter-individuels pour la reproduction. L'ultime résultat de ces conflits se traduit donc par des pontes différentielles des individus.

Le statut hiérarchique de l'individu pondreur pourrait aussi avoir une influence sur le devenir de l'œuf. Ainsi certaines études ont montré que la provenance de l'œuf (reine ou ouvrière) pouvait être identifiée via les composés chimiques présents à la surface des œufs (Ratnieks, 1995 ; Monnin & Peeters, 1997 ; Liebig et al., 2000 ; D'Ettorre et al., 2004a ; Endler et al., 2004 ; Endler et al., 2006). Chez *P. goeldii*, des observations de cannibalisme des œufs entre ouvrières orphelines sembleraient indiquer la mise en place d'informations chimiques de ce type sur les œufs d'ouvrières.

2.2. L'intégration multiple de signaux

Comment développer une odeur à la fois commune (l'odeur coloniale) et individuelle (odeur du statut hiérarchique) chez une fourmi ? Au cours de notre étude sur *P. goeldii*

(Manuscrit #4) aucun hydrocarbure cuticulaire particulier n'a pu être directement lié au statut hiérarchique ou à la fertilité des individus. Nous avons alors vérifié si une odeur complexe était capable d'indiquer le niveau de fertilité des ouvrières. Les analyses statistiques ont mis en évidence un complexe de 11 molécules capables d'indiquer le statut ovarien des ouvrières orphelines dans trois colonies différentes. Nous nous sommes rendus compte que ce complexe d'odeurs était aussi capable d'indiquer la provenance coloniale des individus étudiés. La proportion des 11 molécules isolées par analyse statistique est semblable à celle présente dans la PPG. Ce résultat laisse présager qu'elles pourraient intervenir dans le flux chimique permettant la mise en place du visa odorant de la colonie. Ces molécules sont donc à la fois de bonnes candidates à l'élaboration de l'odeur coloniale (commune) et de l'odeur de fertilité (individuelle). Une faible variation des proportions de ces molécules pourrait ainsi indiquer un niveau de fertilité lorsqu'une variation plus conséquente indiquerait la présence d'intrus.

Un tel co-fonctionnement des informations chimiques ne doit pas être considéré comme un cas particulier. L'utilisation multiple d'un même signal semble se retrouver dans d'autres domaines chez *P. goeldii*. Nos études (Manuscrit #5) ont montré que le cannibalisme des œufs ne semblait pas être lié à la position hiérarchique de l'ouvrière pondreuse par rapport à l'ouvrière cannibale. Les informations chimiques présentes à la surface des œufs de *P. goeldii* semblent indiquer non pas le statut hiérarchique de la pondreuse mais l'âge de l'œuf en question. Grâce à ce mécanisme, une ouvrière pourrait définir l'appartenance de l'œuf en considérant comme étrangers tous les œufs jeunes qu'elle ne viendrait pas de pondre. L'ensemble des membres de la colonie tenterait alors de détruire cet œuf. Ceci aurait pour conséquence de limiter une trop forte production de couvain, qui pourrait autrement mener à une diminution de la productivité coloniale (Cole, 1986 ; Frank, 1996 ; Johnson, 1998 ; Nonacs, 1992 ; Wenseleers et al., 2004). Ce mécanisme pourrait avoir un intérêt beaucoup plus large dans la gestion de la colonie. Dans des conditions de diète, les œufs peuvent

permettre de nourrir les larves (voir référence dans Crespi, 1992). Par exemple, chez *Pachycondyla apicalis* les fondatrices sont monogynes ce qui exclut toute compétition a priori, pourtant du cannibalisme d'œufs a été observé (Fresneau, 1994). Durant ces périodes critiques, manger des œufs âgés, pour lesquels beaucoup d'énergie a déjà été investie, pourrait avoir des conséquences fatales pour la colonie en réduisant drastiquement le taux de renouvellement des larves. On aurait alors ici un second exemple de l'utilisation d'une même information de deux façons différentes en fonction du contexte.

3. Manuscrit #4 :

**How an ant manages to display individual and colonial signals using the same
channel**

Journal Of Chemical Ecology: accepted

Damien Denis, Rumsaïs Blatrix, Dominique Fresneau

*Laboratoire d’Ethologie Expérimentale et Comparée, CNRS UMR 7153,
Université Paris 13, 99 avenue J.-B. Clément, 93430 Villetaneuse, France*

Key Words : *Pachycondyla*, ants, Cuticular hydrocarbons, Colonial odor, Ovarian status, Fertility signalling.

3.1. Summary

Cuticular hydrocarbons are used by some ants to discriminate nestmates from non-nestmates. Every member of the colony bears the same pattern of cuticular hydrocarbons because they are continuously exchanged among nestmates. The postpharyngeal gland stores the blend of hydrocarbons and is involved in the distribution of this common mixture. However, some individuals might have to display individual information on the cuticle, such as a chemical signal of fertility that must not be mixed within the common pool. We investigated how this paradox is solved in the ant *Pachycondyla goeldii* by analyzing the nature and localization of colonial and fertility signals. Workers in a queenless condition showed a dominance hierarchy that was correlated to ovarian development. Hydrocarbons from the cuticle and the postpharyngeal gland analyzed by GC and identified by GC-MS showed a clear discrimination among colonies, supporting the involvement of the postpharyngeal gland in the colonial identity signal. We identified and selected 11 cuticular hydrocarbons that permitted us to discriminate ovarian development classes and could thus function as a fertility signal. They allowed very clear colony discrimination as well, which suggests that the two signals (the individual signal of fertility and the common signal of colony identity) can be conveyed by the same hydrocarbons. However, these hydrocarbons in the postpharyngeal gland did not discriminate among ovarian developmental classes, suggesting that the portion of variation in the cuticular hydrocarbons constituting the fertility signal is superimposed on the signal of colony identity.

Key Words : *Pachycondyla*, ants, cuticular hydrocarbons, colonial odor, ovarian status, fertility signalling.

3.2. Introduction

In colonies of most social insect species, individual workers are able to discriminate between nestmates and non-nestmates. They are usually aggressive against non-nestmates, especially in the vicinity of the nest. Thus, they limit their altruistic behavior to members of their colony and protect it against intruders. According to the Gestalt theory, each colony has a unique odor that is a blend of all individually produced odors (Crozier & Dix, 1979 ; Crozier, 1987), which allows for nestmate discrimination. In ants this model implies the existence of a Gestalt organ where chemicals involved in nestmate discrimination are mixed before being displayed by the individual (Carlin & Hölldobler, 1986, 1987 ; Stuart, 1988 ; Crosland, 1989 ; Tsuji, 1990 ; Dahbi & Lenoir, 1998). This organ should contain chemicals from all colony members in order to develop a colonial odor.

In different social insects, it has been demonstrated that cuticular hydrocarbons are involved in the nestmate discrimination process (Bonavita-Cougourdan et al., 1987 ; Lahav et al., 1999 ; Thomas et al., 1999 ; Wagner et al., 2000). In ants, cuticular hydrocarbons are synthesized in tissues from the abdomen (epidermis, fat body, oenocytes) (Soroker & Hefetz, 2000) and are likely transported by high density lipophorin (an internal hydrocarbon carrier) through the hemolymph to the postpharyngeal gland (PPG) (Lucas et al., 2004). Hydrocarbons are exchanged between the PPG and the cuticle during self-grooming, and between nestmates during trophallaxis, allo-grooming, and physical contact. This mutual redistribution of hydrocarbons between all colony members might allow the formation of a colonial odor (Lenoir et al., 1999 ; Soroker et al., 2003 ; Lucas et al., 2004). Thus, the PPG is considered as the Gestalt organ (e.g., Soroker et al., 1994 ; Lahav et al., 1999). Indeed, most of the hydrocarbons present on the cuticle are also present in this gland (Bagnères & Morgan, 1991 ; do Nascimento et al., 1993 ; Lucas et al., 2004). In *Pachycondyla* ants, newly

synthesized hydrocarbons are chiefly transported from the hemolymph to the basitarsal brushes of the front legs (Hefetz et al., 2001). These are licked during self-grooming and cuticular hydrocarbons are transferred to the PPG. PPG hydrocarbons are then dispatched on the other parts of the same individual's cuticle or on its nestmates' cuticle during grooming (Meskali et al., 1995). Since *Pachycondyla* ants do not perform trophallaxis, hydrocarbons are exchanged between nestmates only during body contact and allo-grooming.

All members of a colony have to bear a common odor, the colonial odor, but some members may have to display individual chemical signals on their cuticle that should not be mixed in the common pool. For example, such signals are compounds yielding information about fertility, dominance status, or caste, in different social insects. Recent studies suggest that cuticular hydrocarbons are involved in fertility signalling in ants. In queenright ants, the queen displays the fertility signal (Liebig et al., 2000 ; Heinze et al., 2002). When several queens co-occur in the same colony, the cuticular hydrocarbons provide information on the degree of fecundity and workers are able to discriminate between queens of different fecundity (Hannonen et al., 2002). In some species, the queen caste does not exist and workers (called gamergates) can mate and reproduce (Peeters, 1991). The gamergate, often only one per colony, can be considered as a functional queen and has been shown to bear a fertility signal (Monnin et al., 1998 ; Liebig et al., 2000 ; Cuvillier Hot et al., 2004a). However, in queenless species, unmated egg-layers tend to develop a fertility signal (Cuvillier-Hot et al., 2001 ; Cuvillier Hot et al., 2004b). In *Harpegnathos saltator*, where both queens and gamergates do occur, the fertility signal is the same in both castes (Liebig et al., 2000). In many queenright species, the workers have retained the ability to lay unfertilized eggs that produce males. In these species, the loss of the queen is usually followed by a burst of worker reproduction. Moreover, workers compete to access reproduction, and form a dominance hierarchy (reviewed in (Cuvillier Hot et al., 2004a). Once the hierarchy is

established, dominant workers may display a chemical signal of fertility and/or dominance to limit costly competitive interactions. Similarity between the fertility signal of queens and fertile workers has been shown (Heinze et al., 2002). Such de-queened systems are especially good models to study fertility signalling because morphological caste will not influence the signals studied. Some results suggested that the hydrocarbons involved in colony and fertility signalling belong to different classes (Dietemann et al., 2003).

The neotropical ant *Pachycondyla goeldii* (Forel) is an arboreal species that lives in ant gardens. Workers are very aggressive to members of other colonies indicating substantial society closure (Denis et al., accepted). As in many poneromorphs, *P. goeldii* workers have retained the ability to lay unfertilized eggs that develop into males in the absence of the queen. This provides an opportunity to study the consequences of orphaning on reproductive conflict. The aim of our study is to investigate how ants manage to display at the same time a colonial signal that must be homogenized among nestmates and an individual signal of fertility that should not be transferred to nestmates. We first verify whether workers in orphaned groups display dominance hierarchy and whether it is related to reproductive activity. We then check whether the cuticular and PPG hydrocarbon profiles are consistent with the Gestalt model. Then we attempt to identify a fertility signal on the cuticle and see how this signal is combined with the colonial odor.

3.3. *Materials and methods*

Collection and Rearing of Colonies

Three entire queenright colonies of *P. goeldii* were collected in September 2002 near the dam of “Petit Saut,” French Guiana (colony A, B, and C : 160, 225, and 198 workers, respectively). Mature colonies of this species usually contain about 200 workers. They were maintained in the laboratory in artificial nests made of plaster connected to an outside arena. Colonies were kept at $28 \pm 2^\circ\text{C}$ and $80 \pm 2\%$ RH. They were fed twice a week with crickets and diluted honey. Worker behavior was investigated in eight de-queened groups of 16 workers each (without brood). Three, two, and three de-queened groups were formed out of queenright colonies A, B, and C, respectively.

Behavioral and Physiological Observations

Ants were individually marked with dots of enamel paint on their gaster. In order to characterize dominance hierarchies, each de-queened group was observed at a rate of 10 hr per week for several weeks, until more than 200 antennal boxing behaviors were observed (approximately 80 hr of observation). Antennal boxing is a ritualized behavior characteristic of dominance relationships between ants (e.g., Ito & Higashi, 1991 ; Heinze et al., 1996 ; Cuvillier Hot et al., 2004a), during which a dominant worker makes a rapid lunge for a subordinate worker and aggressively pummels its head with the vibrating antenna. The frequency of antennal boxing varies considerably between groups, but is the most conspicuous and frequent dominance interaction in many ant species, and particularly in *P. goeldii*. It is then the only quantifiable behavioral expression of dominance available to the

observer. We recorded all antennal boxing behaviors (the only type of aggression observed), and workers were ranked according to the proportion of workers they dominated.

At the end of the period of behavioral observation we dissected all surviving workers (102 ants). We noted the number of developing ovarioles for each individual. An ovariole was considered as developed if it contained at least one oocyte > 0.5 mm. Pearson's correlation coefficient (see below) was computed between worker rank and the number of developing ovarioles for each of the eight de-queened groups. Individuals were assigned to three ovarian developmental classes : (1) undeveloped ovaries (no developing ovarioles) ; (2) moderately developed ovaries (between one and four developing ovarioles) ; (3) fully developed ovaries (more than five developing ovarioles). Workers of *P. goeldii* normally have eight ovarioles.

Extraction and Analysis of Hydrocarbons from the Cuticle and PPG

Hydrocarbons extraction was performed on the two highest, the two lowest, and the two middle ranking workers in each group from colonies A and C, and three workers of each rank class in each group from colony B, giving a total of 54 individuals with 18 of each rank class. For each individual, the thorax and PPG were each soaked in 50 μ l of pentane with 1.5 μ g of *n*-nonadecane as an internal standard. Thoraces were removed after 10 min and PPG were left in the tube. The relative proportions of cuticular hydrocarbons in ants can differ between body parts (Bonavita-Cougourdan et al., 1993). We chose the thorax instead of other body parts to characterize the individual odor because previous observations revealed that antennal boxing was elicited when the antennae of the focal individual touched the head or the thorax, but never the abdomen, of another ant. Furthermore, we needed the head to extract the PPG. Moreover, the abdomen is rich in chemical-producing glands that could have contaminated extracts of individual odor. Five μ l of each sample were analyzed by gas chromatography

with flame ionization detection (GC-FID) on a Varian 3900 (Varian, Palo Alto, CA, USA) instrument equipped with a split/splitless injector and a DB-5 fused silica capillary column (30 m x 0.32 mm, 0.25 μm film thickness J&W scientific column, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) with helium as carrier gas at a flow rate of 28.57 cm/s. The temperature was kept at 100°C for 5 min with the split valve closed for the same time. Then the temperature was raised at 3°C/min to 300°C and then held constant for 10 min. In pilot tests we could not detect more compounds when the temperature was raised to 320°C instead of 300°C. The injector port was kept at 200°C, and the FID was kept at 320°C. Peak areas were computed with Varian system control (version 6.20). Identification of hydrocarbons was performed on 30 workers from three orphaned colonies by GC/MS (VGM250Q) using a DB-5 fused silica capillary column (30 m x 0.32 mm, 0.25 μm film thickness J&W scientific column, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) The temperature program was 120°C to 270°C at 5°C/min with a hold at 270°C for 30 min, and then heated to 295°C at 20°C/min with helium as the carrier gas at a flow rate of 28.57 cm/s, the injector port was kept at 200°C. The mass spectrometer detector was a Fisons MD 800 (Foremost Equipment, Rochester, NY, USA) operated at 70 eV. The eluting hydrocarbons were identified by their fragmentation pattern.

Data Analysis

Compounds that were not present in all three colonies were excluded from the data analysis. Four of the remaining compounds that were present on the cuticle but absent from the PPG were excluded from the analysis : two of them were volatile (*n*-pentadecane and *x*-pentadecene) and two occurred irregularly (they were displayed by a few individuals and were not related to colony or ovarian development, suggesting they were contaminants). Peak areas were transformed according to $Z = \ln[A_p/g(A_p)]$, where Z is the standardized peak area, A_p is

the peak area and $g(A_p)$ is the geometric mean of all peak areas in the respective individual (Aitchison, 1986), in order to correct for the high dependence of this type of data. However, the compounds were still too redundant to allow a discriminant analysis (DA) to be performed. We computed the correlation matrix and removed the compound that had the highest mean coefficient of correlation (x,y-tricosadiene ; mean coefficient of correlation \pm s.d. : 0.49 ± 0.2). This compound also had the highest number of significant correlations (17 out of the 19 coefficients of correlation computed). Thus, a total of 19 peaks were retained for the analysis.

Statistical analyses were performed using Statistica 6 software (Statsoft France 2003, Maisons-Alfort, Val-de-Marne, France), standard DAs were performed on the standardized peak areas of hydrocarbons from cuticle and PPG to determine whether variation in hydrocarbons allows discrimination among individuals according to their colony of origin and ovarian development. For each compound we computed the Pearson's correlation coefficient between standardized peak areas from cuticle and PPG profiles. A stepwise DA was performed on cuticular profiles in order to identify which combination of compounds allowed the best discrimination among ovarian development classes : at each step the least discriminating compound was removed and a new DA was performed until only one compound remained. Thus we obtained 18 DA models. Potential for discrimination was evaluated by the percentage of correct classifications under each model, and then, by their *P*-value. Thus, the best model was selected. We then compared the values of the Pearson's correlation coefficient (see above) between the compounds included in and excluded from the model, using a Mann-Whitney test. A new DA was performed with the compounds included in the model to see whether these compounds allowed us to discriminate colonies. Another DA was performed with these compounds in the PPG to test whether they allowed us to discriminate between ovarian classes in this gland. Finally, four Principal Component

Analyses were computed with the cuticular compounds from the model : one with workers from all colonies to check whether these compounds differentiated colonies, and one with workers from each of the three colonies to test whether they differentiated ovarian development.

3.4. Results

Behavior and Ovarian Development

Each group displayed agonistic behaviors (mean \pm s.e. : 237.62 \pm 14.11 over 35-68 d) and showed a significant correlation between ovarian development and rank (Figure 1). High ranking individuals had more developed ovarioles.

Hydrocarbon Analysis

The hydrocarbons identified from the three colonies ranged from C₁₅ to C₂₉ in chain length and were *n*-alkanes, alkenes, and alkadienes (Table 1). Cuticular and PPG hydrocarbon profiles of *P. goeldii* lacked methyl branched alkanes. Among the hydrocarbons, the relative quantities of linear *n*-alkanes showed less correlation between the cuticle and PPG (Table 2). Moreover, for each colony, we found that each linear *n*-alkane that we identified was present in a higher proportion on the cuticle than in the PPG (Table 1). Chemical analysis of the thoraces revealed that the hydrocarbon phenotypes of the colonies were qualitatively similar : 82.75% (*N*=29) of the hydrocarbons detected were present in all three colonies. Only five compounds did not occur in all three colonies. x-Tetracosene, y-pentacosene, y-heptacosene, and x-nonacosene were detected only in colony B, whereas x-hexacosene was detected in colonies B and C. Those compounds may have been present in the other colonies, but our analysis did not allow detection. For each colony, the cumulative relative proportion of these five hydrocarbons was small (mean % over workers \pm s.d. : 0.00 \pm 0.00, 4.52 \pm 2.99, and 0.56 \pm 0.46 for colony A, B, and C, respectively). Two compounds were very abundant on

thoracic cuticle : *n*-tricosane and *x*-pentacosene represented more than 40% of total hydrocarbon.

The qualitative hydrocarbon content of the PPG was very similar among colonies : 90.90% ($N=22$) of the compounds were present in all three colonies. γ -Heptacosene and *x*-nonacosene occurred only in PPG from colony B but represented only 0.50 ± 0.62 % (mean \pm s.d.) of the amount of hydrocarbons. All compounds from the PPG were also detected on the cuticle. The two most abundant hydrocarbons from the cuticle, *n*-tricosane and *x*-pentacosene, were also the most abundant in the PPG (they also represented more than 40% of the total).

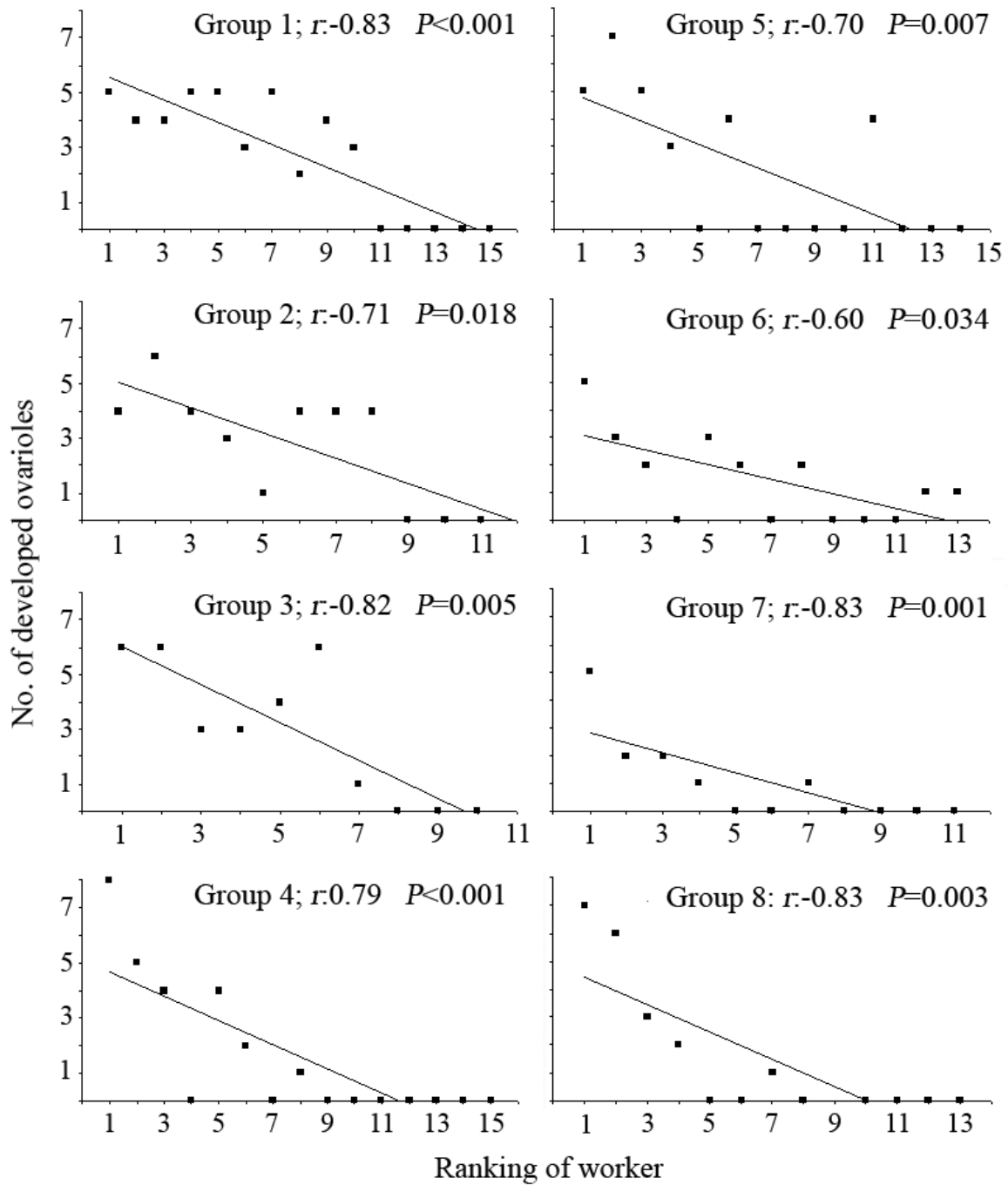


Figure MS#4-1 : Correlation between rank of worker and number of developed ovarioles in workers from each of eight queenless groups of *Pachycondyla goeldii*.

Hydrocarbon	Thoracic hydrocarbons			PPG hydrocarbons		
	Colony A	Colony B	Colony C	Colony A	Colony B	Colony C
x-pentadecene	5.85±4.60	6.83±6.30	3.33±2.36	-	-	-
n-pentadecane	1.85±1.22	1.69±1.72	0.86±0.60	-	-	-
n-heneicosane	10.06±3.27	2.93±1.74	9.46±4.64	5.87±1.80	2.91±1.91	5.89±2.45
n-docosane	1.81±0.35	0.69±0.20	1.57±0.22	1.13±0.33	0.68±0.35	0.85±0.21
x,y-tricosadiene	4.02±3.38	0.48±0.73	2.23±1.57	4.34±4.47	0.84±0.63	2.71±2.23
x-tricosene	16.86±9.27	3.84±4.86	16.21±10.74	29.13±18.53	6.44±4.58	36.11±18.76
y-tricosene	0.38±0.12	0.62±0.30	1.91±0.85	0.31±0.24	1.06±0.39	3.00±2.16
z-tricosene	0.03±0.06	7.44±3.41	0.03±0.04	0.01±0.03	5.63±3.52	0.17±0.06
n-tricosane	28.57±6.30	13.46±4.60	30.46±4.43	17.99±10.85	11.8±8.08	11.83±3.83
11-methyltricosane	2.19±2.55	tr	0.12±0.08	-	-	-
x,y-tetracosadiene	0.55±0.16	0.79±0.29	1.07±0.59	0.94±0.49	1.48±0.64	2.00±1.43
x-tetracosene	-	0.05±0.06	-	-	-	-
n-tetracosane	0.29±0.12	0.34±0.11	0.51±0.17	0.15±0.12	0.21±0.19	0.14±0.07
x,y-pentacosadiene	5.40±2.90	6.52±3.00	2.61±1.81	7.79±7.37	2.24±3.36	1.60±1.70
x-pentacosene	13.68±6.54	35.67±13.25	13.29±9.86	26.36±13.09	60.94±20.64	32.85±23.87
y-pentacosene	-	2.12±1.31	-	-	-	-
n-pentacosane	3.28±1.18	4.63±1.82	7.13±2.46	1.60±1.40	2.17±2.30	1.36±0.77
hexacosadiene	1.51±2.11	0.01±0.02	0.03±0.05	1.95±2.23	0.01±0.02	0.02±0.03
x-hexacosene	-	0.25±0.14	0.56±0.46	-	-	-
n-hexacosane	0.11±0.15	0.23±0.12	0.34±0.13	0.06±0.07	0.07±0.09	0.04±0.02
x,y-heptacosadiene	0.08±0.12	0.02±0.03	0.01±0.02	0.09±0.16	0.02±0.02	0.02±0.02
x-heptacosene	0.02±0.07	0.41±0.22	0.16±0.17	0.02±0.04	tr	0.01±0.02
y-heptacosene	0.09±0.40	1.48±1.07	-	-	0.41±0.55	-
n-heptacosane	1.53±0.71	3.07±2.39	3.81±1.16	0.66±0.77	0.78±0.87	0.49±0.31
3methylheptacosane	0.08±0.16	tr	0.02±0.02	-	-	-
n-octacosane	0.17±0.18	0.50±0.36	0.38±0.14	0.09±0.10	0.14±0.08	0.07±0.10
x,y-nonacosadiene	0.03±0.06	0.37±0.25	0.28±0.11	0.10±0.12	0.31±0.27	0.05±0.05
x-nonacosene	-	0.61±0.69	-	-	0.09±0.16	-
n-nonacosane	1.57±0.51	4.93±4.06	3.63±1.69	1.42±1.72	1.78±2.22	0.80±0.64

Table MS#4-1 : Percentages of thoracic and postpharyngeal gland (PPG) hydrocarbons from workers of colonies A, B, and C. Mean values ± s.d. ; N=18 for each colony ; "-" : compound absent from the colony ; "tr" : trace (< 0.01% of total hydrocarbons). The prefaces x, y, and z indicate different and undetermined positions of the double bond.

Discriminant Analysis

DAs were performed on all compounds of cuticular and PPG hydrocarbon profiles (19 variables, Figure 2, Table 2). They showed a clear discrimination among colonies on cuticular (Figure 3A ; $F_{(38,66)}=83$, $P<0.001$; 100% of all the individuals are correctly classified) and PPG profiles (Figure 3B ; $F_{(38,66)}=4$, $P<0.001$; 91% of all the individuals are correctly classified). However, DAs on all variables did not allow us to discriminate among classes of ovarian development (cuticle : $F_{(38,66)}=1.5$, $P=0.063$; PPG : $F_{(38,66)}=1$, $P>0.05$), indicating that the fertility signal is likely encoded in only a subset of compounds. Thirteen compounds out of 19 were significantly correlated between cuticle and PPG (Table 2).

To identify the substances with the highest discriminatory power, we conducted a stepwise DA on cuticular profiles. Out of the 18 models, the one containing 11 compounds was the best for discriminating among the classes of ovarian development (Table 3). The 11 compounds retained in the model have correlation coefficients between cuticle and PPG that are significantly greater than the eight compounds excluded from the model (Table 2, $U=20$, $P=0.047$), suggesting that these 11 compounds are also involved in the colony identity signal. Standard DA on cuticular profiles of these 11 compounds allowed us to discriminate among classes of ovarian development ($F_{(22,82)}=2.9$, $P<0.001$; 78% of all the individuals are correctly classified). The three classes of ovarian development were significantly segregated [Figure 4 ; 1 : undeveloped ovaries, 2 : moderately developed ovaries, 3 : fully developed ovaries ; Mahalanobis distances, 1-3=7.2, $F_{(11,42)}=4.2$, $P<0.001$; 1-2=3, $F_{(11,42)}=2.3$, $P=0.03$; 2-3=5.1, $F_{(11,42)}=2.6$, $P=0.01$]. Moreover, this DA model correctly classified 92% of the individuals with undeveloped ovaries, 59% of the individuals with moderately developed ovaries, and 75% of the individuals with fully developed ovaries. The "moderately developed ovaries" class is intermediate between the two others, and this explains this class's relatively low

percentage of correct classification. The standard DA on the 11 compounds allowed us to discriminate among colonies as well ($F_{(22,88)}=88$, $P<0.001$; 100% of all the individuals are correctly classified). However, the standard DA on the 11 compounds in the PPG did not allow us to discriminate among classes of ovarian development ($F_{(22,82)}=1.2$, $P>0.05$).

Hydrocarbon	Pearson's correlation coefficient	P-value
<u>x,y-hexacosadiene</u>	0.98	$P<0.001$
<u>z-tricosene</u>	0.91	$P<0.001$
<u>n-heneicosane</u>	0.88	$P<0.001$
<u>x-tricosene</u>	0.85	$P<0.001$
y-tricosene	0.81	$P<0.001$
<u>x,y-tetracosadiene</u>	0.81	$P<0.001$
<u>x-pentacosene</u>	0.80	$P<0.001$
n-docosane	0.60	$P<0.001$
<u>x,y-heptacosadiene</u>	0.53	$P=0.004$
x,y-nonacosadiene	0.42	$P=0.008$
<u>n-tricosane</u>	0.36	$P=0.005$
n-nonacosane	0.29	$P=0.044$
<u>n-heptacosane</u>	0.27	$P=0.036$
<u>n-pentacosane</u>	0.23	$P>0.05$
n-hexacosane	0.23	$P>0.05$
<u>x,y-pentacosadiene</u>	0.21	$P>0.05$
n-octacosane	0.12	$P>0.05$
n-tetracosane	-0.04	$P>0.05$
x-heptacosene	-0.1	$P>0.05$

Table MS#4-2 : correlations between cuticular and postphryngeal gland (PPG) hydrocarbons from 54 workers of *Pachycondyla goeldii*. Underlined hydrocarbons represent compounds that when included in the model allowed the best discrimination among ovarian development classes

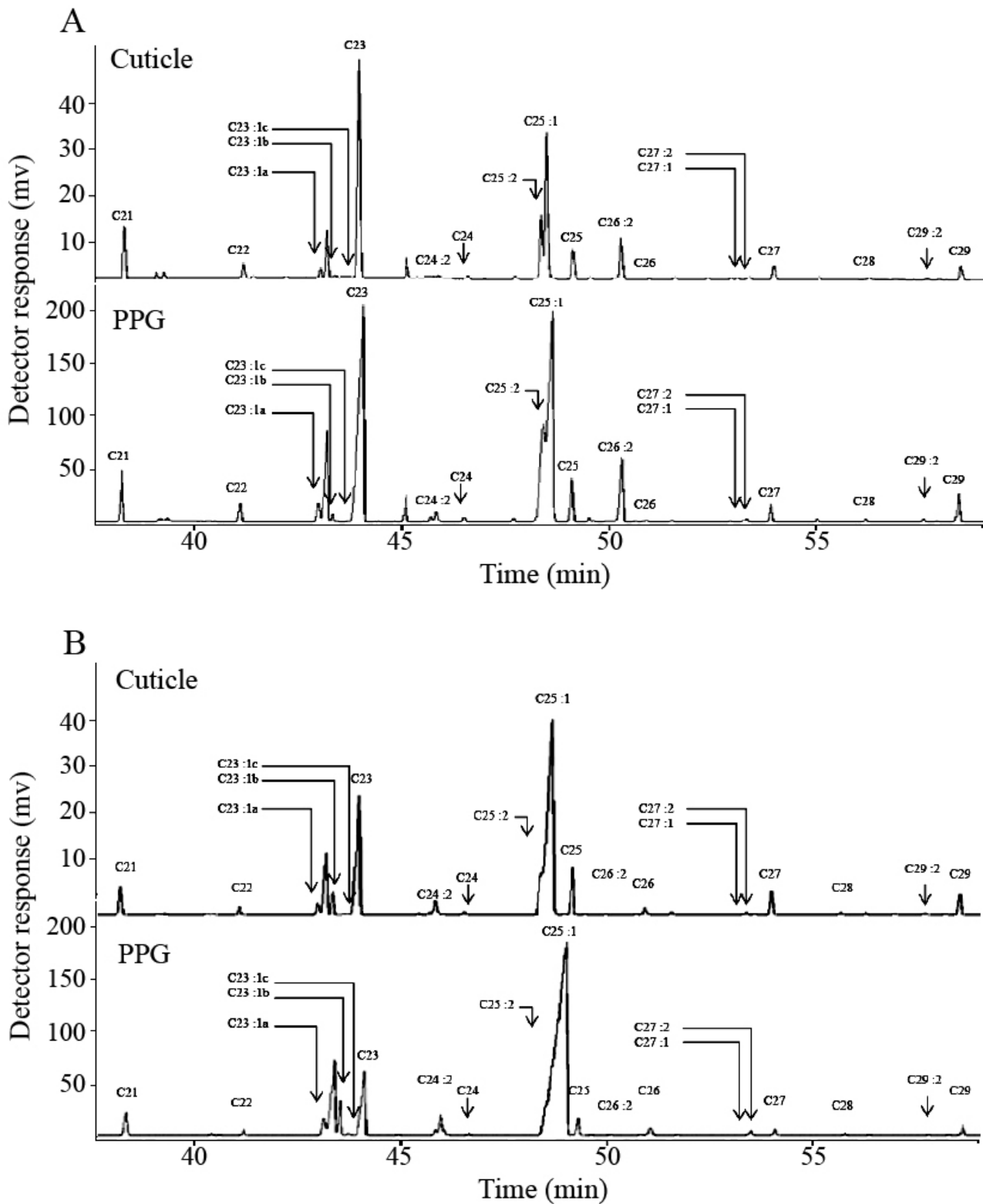


Figure MS#4-2: Chromatograms of cuticular and PPG hydrocarbons extracted from a worker of *Pachycondyla goeldii* with fully developed (A) and undeveloped ovaries (B). C21= *n*-heneicosane ; C22= *n*-docosane ; C23 :1a=*x*-tricosene ; C23 :1b=*y*-tricosene ; C23 :1c=*z*-tricosene ; C23= *n*-tricosane ; C24 :2=*x,y*-tetracosadiene ; C24=*n*-tetracosane ; C25 :2=*x,y*-pentacosadiene ; C25 :1a=*x*-pentacosene ; C25= *n*-pentacosane ; C26 :2=*x,y*-hexacosadiene ; C26= *n*-hexacosane ; C27 :1=*x*-heptacosene ; C27 :2=*x,y*-heptacosadiene ; C27= *n*-heptacosane ; C28= *n*-octacosane ; C29 :2=*x,y*-nonacosadiene ; C29= *n*-nonacosane. The prefixes *x*, *y*, and *z* indicate different and undetermined positions of the double bond.

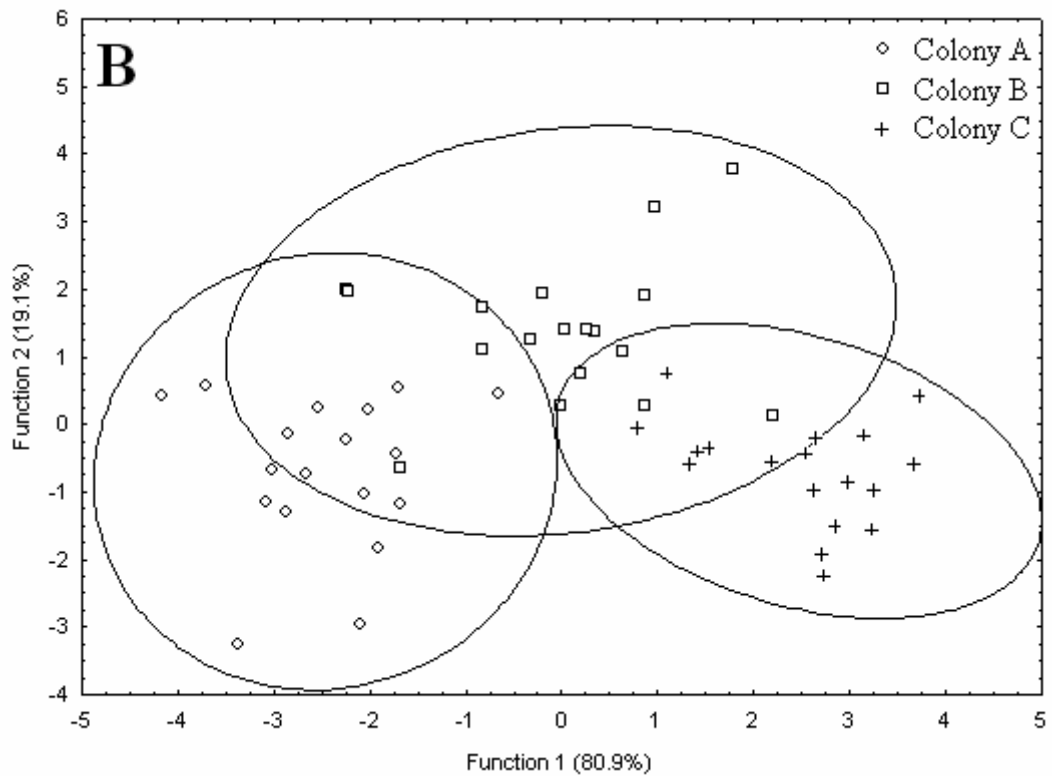
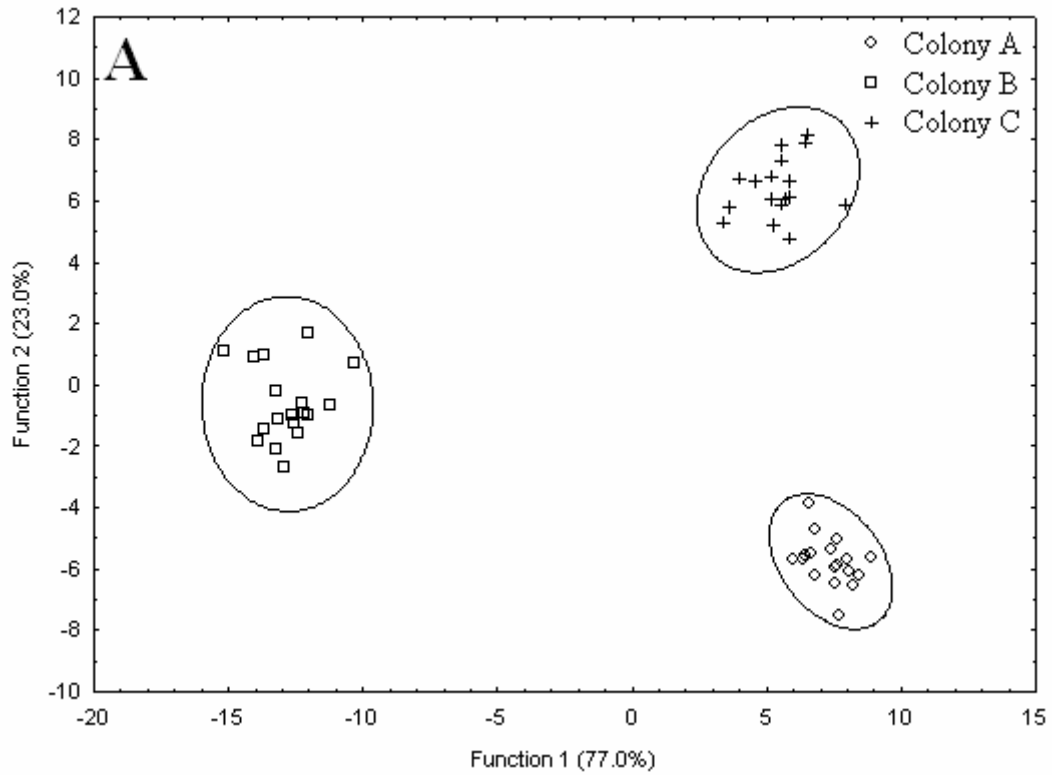


Figure MS#4-3 : Discriminant analysis of 54 workers of *Pachycondyla goeldii* based on the eleven cuticular hydrocarbons retained in the best discriminant model of the stepwise discriminant analysis, showing discrimination among three classes of ovarian development. Ellipses represent 95% confidence limits. The percentages of variance explained by each of the two discriminant functions are provided parenthetically on the axis labels.

Step	Hydrocarbons removed	Nb of Hc excluded from the model	Nb of Hc included in the model	Correct classification (%)	P-value
1	none	0	19	75.92	$P>0.05$
2	x-heptacosene	1	18	75.92	$P=0.03$
3	x,y-nonacosadiene	2	17	77.77	$P=0.02$
4	n-tetracosane	3	16	75.92	$P=0.01$
5	n-docosane	4	15	77.77	$P=0.004$
6	y-tricosene	5	14	77.77	$P=0.002$
7	n-hexacosane	6	13	77.77	$P=0.001$
8	n-nonacosane	7	12	77.77	$P<0.001$
9	n-octacosane	8	11	77.77	$P<0.001$
10	x,y-pentacosadiene	9	10	75.92	$P<0.001$
11	n-tricosane	10	9	74.07	$P<0.001$
12	n-heneicosane	11	8	72.22	$P<0.001$
13	x,y-tetracosadiene	12	7	72.22	$P<0.001$
14	n-heptacosane	13	6	70.37	$P<0.001$
15	x-tricosene	14	5	68.51	$P<0.001$
16	z-tricosene	15	4	66.66	$P<0.001$
17	x,y-heptacosadiene	16	3	57.40	$P=0.003$
18	x-pentacosene	17	2	48.14	$P=0.003$
19	n-pentacosane	18	1	53.70	$P>0.05$
20	x,y-hexacosadiene	19	0	-	-

Table MS#4-3 : stepwise discriminant analysis of cuticular hydrocarbon profiles from 54 workers of *Pachycondyla goeldii* classified into three categories of ovarian development. The ninth step (bold font) showed both the best percentage of correct classification and the most significant P-value ($P=0.00023$).

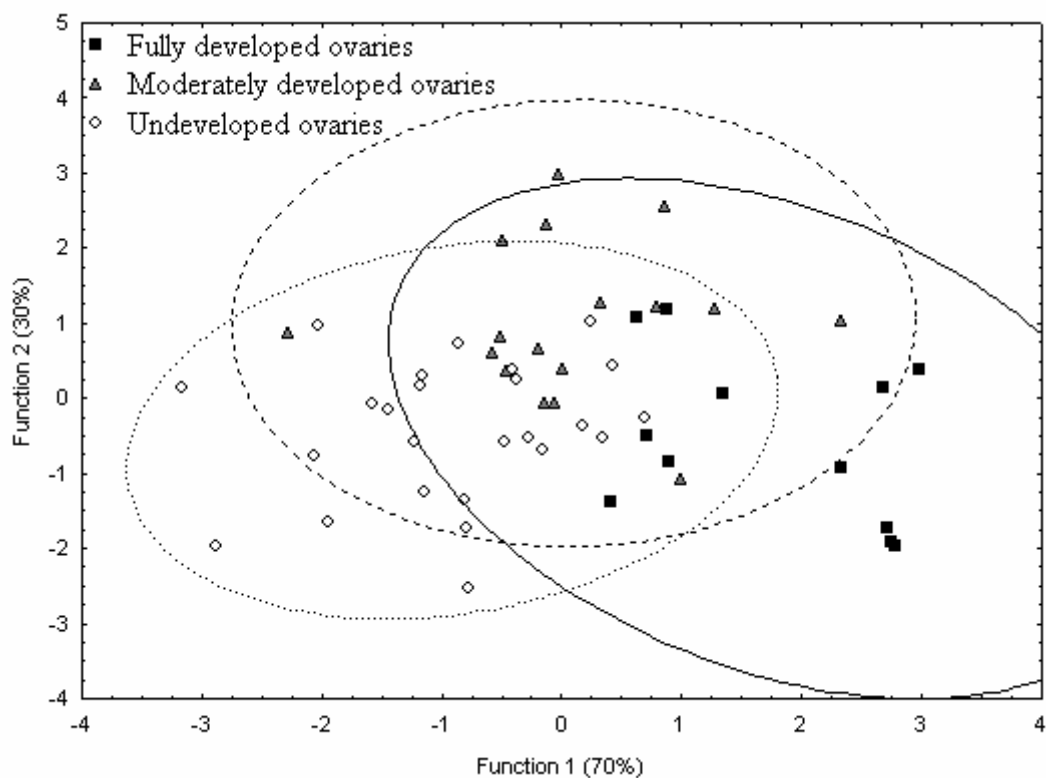


Figure MS#4-4 : Discriminant analysis of 54 workers of *Pachycondyla goeldii* based on the eleven cuticular hydrocarbons retained in the best discriminant model of the stepwise discriminant analysis, showing discrimination among three classes of ovarian development. Ellipses represent 95% confidence limits. The percentages of variance explained by each of the two discriminant functions are provided parenthetically on the axis labels.

Principal Component Analyses

A PCA on the 11 cuticular hydrocarbons of workers from all colonies showed a clear distinction among the three colonies (Figure 5A). The first two factors explained a high proportion of the variance (60.29%). Factor 1 differentiated colonies A and C from colony B and factor 2 colonies A and B from colony C. PCAs on each colony illustrated the differentiation between workers with fully developed and undeveloped ovaries despite the low number of workers (18) in each analysis. Workers with moderately developed ovaries were less clearly segregated and largely overlapped the undeveloped ovaries class. The fully developed and undeveloped ovaries classes were separated along the axis of the first factor alone for colonies A and B (Figure 5B and 5C, respectively) and the second factor alone for colony C (Figure 5D). For each PCA, the first two factors explained more than 65% of the variance.

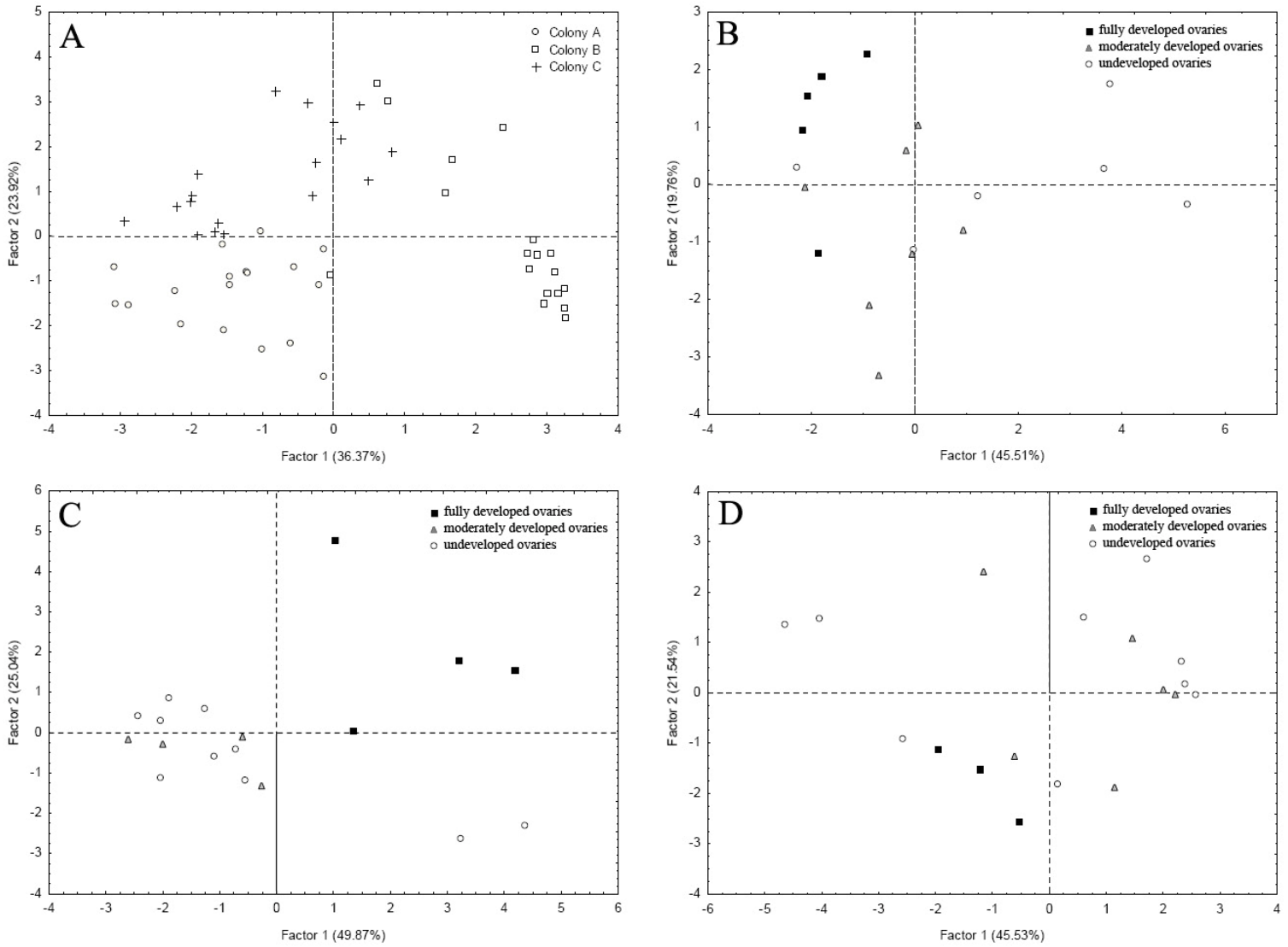


Figure MS#4-5 : Principal component analysis of *Pachycondyla goeldii* workers based on the eleven cuticular hydrocarbons retained in the best discriminant model of the stepwise discriminant analysis. (A) 54 workers from three colonies ; (B), (C), and (D) 18 workers each from colonies A, B, and C, respectively, by classes of ovarian development. The percentages of variance explained by each of the two factors are provided parenthetically on the axis labels.

3.5. Discussion

In the ant *P. goeldii*, the patterns of cuticular and PPG hydrocarbons vary strongly between colonies and many compounds are correlated between the cuticle and the PPG. However, ovarian development of workers from queenless groups could be best discriminated on the basis of 11 cuticular hydrocarbons. These compounds still allow a clear discrimination between colonies. Moreover these compounds are among the most correlated between cuticle and PPG. Thus, workers bear two signals - colonial identity and reproductive state - on their cuticle. A striking result is that these two signals can potentially be conveyed by the same set of compounds. Although these insights may lead to a new understanding of ant communication, our results remain purely correlational at this point. Indeed, we still need to prove that the ants actually perceive and react to these signals.

Numerous studies have suggested the importance of hydrocarbons in nestmate recognition (Vander Meer & Morel, 1998 ; Lenoir et al., 1999 ; Ozaki et al., 2005). They have shown that workers from the same colony present a similar hydrocarbon pattern on their cuticle, which is considered to be a colonial signature (Bonavita-Cougourdan et al., 1987 ; Vander Meer & Morel, 1998). According to the Gestalt theory (Crozier & Dix, 1979) nestmates blend their hydrocarbons to form a common colonial odor. The hydrocarbons involved in nestmate discrimination appear to be mixed in the PPG (Meskali et al., 1995 ; Lenoir et al., 1999 ; Soroker et al., 2003 ; Lucas et al., 2004), consequently the hydrocarbon content of the PPG should more or less match the cuticular profile. In our focal species we observed that two-thirds of the compounds have relative proportions that are significantly correlated between PPG and cuticle. Moreover, colonies could be clearly discriminated on the basis of all hydrocarbons from both cuticle and PPG, providing arguments in favor of the

Gestalt model of nestmate discrimination in *P. goeldii*. However, one-third of the compounds were not correlated between PPG and cuticle. A very probable reason is that they are involved in preventing desiccation, the primary function of the cuticular hydrocarbons in insects. The higher the melting point of a hydrocarbon, the better its capacity to prevent water loss. At a given chain length, linear *n*-alkanes are then better candidates for this function than alkenes (Hadley, 1994). Indeed, we observed in our study that linear *n*-alkanes tended to have a low correlation between PPG and cuticle. A surprising result was the absence of methyl branched alkanes in the *P. goeldii* profiles. This class of hydrocarbons is common on the cuticle of other ants, and we do not know why they do not occur in our focal species.

In addition to conveying information about colonial identity, the cuticular hydrocarbons of queenless *P. goeldii* workers bear another signal : 11 compounds allow discrimination of ovarian development classes, suggesting a chemical signal of fertility that could allow subordinates to recognize breeders. Several recent studies have shown that fertility signals in social Hymenoptera can be conveyed by cuticular hydrocarbons. However, the quality and quantities of compounds potentially involved vary across species. In some species, the signal can be composed of very few compounds. This is the case in the ants *Dinoponera quadriceps* (Monnin et al., 1998 ; Peeters et al., 1999), *Harpegnathos saltator* (Liebig et al., 2000), *Myrmecia gulosa* (Dietemann et al., 2003), and *Pachycondyla inversa* (Heinze et al., 2002). In contrast, in the ants *Diacamma ceylonense* (Cuvillier-Hot et al., 2001), *Streblognathus peetersi* (Cuvillier Hot et al., 2004a), and *Formica fusca* (Hannonen et al., 2002), the signal resulted in the variation of multiple hydrocarbons. In *Pachycondyla goeldii* we showed that the optimal signal would be constituted of 11 compounds. Thus, even within the same genus, species could display very different signals. Moreover, our data suggest that this signal has a different nature in *P. goeldii* than in the other species studied to date. We could not identify a single or a few compounds that were simply more abundant on individuals with more

developed ovaries, but we identified a group of compounds (11) whose relative proportions were characteristic of the degree of ovarian development. The fertility signal could thus be potentially more complex than previously thought. These studies, including ours, draw some correlation between cuticular hydrocarbons and fertility. However, we do not know, except in a few cases (Dietemann et al., 2003 ; D'Ettorre et al., 2004b), whether the ants perceive these compounds, and, assuming they do, whether they use the entire signal. Future investigations should address these possibilities.

Cuticular hydrocarbons are known to vary according to colony, reproductive status, age, and caste (Hölldobler & Wilson, 1990 ; Peeters et al., 1999 ; Kaib et al., 2000 ; Cuvillier-Hot et al., 2001). Thus, the same channel can convey various types of information. But it is unknown whether the same chemicals are involved in the different signals. As the cuticle bears many compounds, we might expect the different signals to be conveyed by different hydrocarbons. However we found that the 11 cuticular hydrocarbons responsible for the best discrimination among ovarian development classes also yielded a very clear discrimination among colonies and had significantly higher correlation coefficients between cuticle and PPG than the other hydrocarbons. This suggests that these compounds are among the most important for colonial identity. Our interpretation is that the two signals, colony identity and reproductive status, can potentially be conveyed by the same 11 compounds. Moreover, in addition to a sharp difference between colonies, there is a fine-tuned variation accounting for ovarian development. Two facts explain the high correlation between the relative proportions of compounds in the PPG and in the cuticle : the PPG is involved in the formation of the colony identity signal displayed on the cuticle, and this signal is very different between colonies. Variations in cuticular hydrocarbons related to fertility are much weaker. Thus, even if they do not occur in the PPG these variations have very little influence on the correlation between PPG and cuticle.

If indeed colony identity and fertility signals are conveyed through the same compounds, the workers face the problem that one of these signals must be shared between nestmates and the other must remain individual. Body contacts and nestmates grooming (and trophallaxis in some species) lead to the homogenization of the cuticular and PPG hydrocarbons within the colony (Soroker et al., 1994 ; Soroker et al., 1998). The presumed function of the PPG is to store a blend of hydrocarbons from all the nestmates that can be more easily spread on the cuticle. To remain individual-specific, the fertility signal must not be involved in this circulation scheme. Therefore, the PPG should not contain this signal. Indeed, our analysis of the PPG showed that the 11 compounds that allow for discrimination of reproductive status on the cuticle do not do so in the PPG. In contrast, Dietemann et al. (Dietemann et al., 2003) showed that workers of the ant *Myrmecia gulosa* discriminate between the PPG hydrocarbons of reproductive and non-reproductive workers. Their results suggest that the fertility signal follows the same pathway as the colony identity signal, i.e., through the PPG. The two signals should then be made of different compounds. Thus the model we propose in *P. goeldii* is not general, and more information is needed in other species to draw broader conclusions. How is the fertility signal of *P. goeldii* prevented from being in the PPG? Our results suggest that the hydrocarbons are mainly transferred from the PPG to the cuticle and not in the opposite direction. How does the fertility signal persist after the spread of compounds from the PPG then? The fine-tuned variation responsible for the discrimination between ovarian development classes seems to be superimposed on the colony identity signal on the cuticle. The hydrocarbons displayed on the cuticle would result from two different regulating pathways, one responsible for the colonial identity signal involving the PPG, and another responsible for the fertility signal ; perhaps involving the gaster.

One way the hydrocarbon pathways of the colony identity and the fertility signal could be kept separate is by lipophorin, the internal hydrocarbon carrier. This molecule is known to

bind hydrocarbons relatively unselectively, but the unloading mechanism might depend on body tissue and on the hydrocarbon transported, and thus provides target tissue specificity (Schal et al., 1998 ; Schal et al., 2001). We suggest that the unloading of the compounds that are involved in colony identity and the fertility signal could be slightly different between the PPG and the cuticle. Thus, because of differences in biosynthesis, the relative proportions of these compounds would be roughly similar between PPG and cuticle, accounting for the colony identity signal, but the slightly different unloading specificity close to the cuticle would account for the fertility signal, only present on the cuticle. The frequent hydrocarbon exchanges between PPG and cuticle and between nestmates would dilute the fertility signal, which would therefore have to be updated continuously. This could be achieved through the tissue-specific loading/unloading mechanism of hydrocarbons on the lipophorin. A strongly marked difference between PPG and cuticle in the unloading mechanism of certain hydrocarbons could explain the fact that some of them have relative proportions that are not correlated between these two body sites. Hydrocarbons whose function is to prevent desiccation would thus be only displayed on the cuticle.

Our results suggest that there is a functional relationship between the PPG and the cuticular hydrocarbons involved in the colonial odor but that the fertility signal remains independent of the PPG. Each ant can display two signals at the same time and with the same compounds, a rough signal of colony identity that is common to all nestmates, and a fine-tuned individual signal of fertility. However, it remains to be seen whether the fine-tuned variation that allowed us to discriminate between classes of ovarian development is perceived as a fertility signal by ants.

Acknowledgments

We are most grateful to Pr. A. Hefetz for identification of hydrocarbons by GC/MS and to Jeremy Bono for correcting the English text. The experiments were conducted in accordance with the current laws of France to the best of the authors' knowledge.

4. Manuscrit #5 :

**Le cannibalisme des œufs chez *Pachycondyla goeldii* :
résultat du conflit entre ouvrières ou mécanisme de régulation ?**

En préparation

4.1. Résumé

A la perte de leur reine, les ouvrières de la fourmi *Pachycondyla goeldii* s'affrontent en combats ritualisés afin d'établir une hiérarchie structurant leur reproduction. Dans ces sociétés, des comportements de cannibalisme d'œufs par des ouvrières ont été observés. L'objet de cette étude est de déterminer les mécanismes menant à la destruction des œufs afin d'établir leur fonction adaptative. Ces comportements pourraient être la conséquence des conflits entre ouvrières ; cependant ils pourraient aussi permettre de réguler la population de couvain afin d'optimiser la productivité du groupe. L'étude fine de sociétés orphelines de *P. goeldii* n'a pas pu mettre en évidence un lien entre le rang hiérarchique des individus et la destruction des œufs. Le principal facteur déterminant la décision de destruction des œufs est apparu être l'âge de l'œuf : les œufs fraîchement pondus font l'objet d'une destruction bien plus conséquente que les œufs plus âgés. Durant les observations, tous les œufs détruits l'ont été en moins de 23 minutes après leur ponte. De plus dans des expériences d'introduction d'œufs, les œufs de 5 heures étaient significativement moins cannibalisés que les œufs venant juste d'être pondus. L'analyse chimique de la surface des œufs montre la présence d'un composé particulier à la surface des œufs fraîchement pondus. De tels résultats semblent indiquer que l'émergence du comportement de cannibalisme des œufs chez *P. goeldii* serait liée à des phénomènes de régulation du couvain.

4.2. Introduction

Dans les sociétés animales, chaque individu tente de maximiser sa *fitness* en optimisant sa reproduction au sein du groupe. Généralement, dans ces groupes, des interactions agonistiques mènent à la formation de hiérarchies dans lesquelles les individus de haut rang gagnent un accès privilégié à la reproduction (Keller & Reeve, 1994). Parallèlement à cela, les individus de haut rang peuvent aussi monopoliser indirectement la production de couvain en détruisant celui des compétiteurs. Dans certaines espèces, seul un nombre limité d'individus de la société possède la capacité de se reproduire. Les comportements agonistiques s'établissent alors généralement entre ces individus.

Par exemple, chez les hyménoptères sociaux, une petite partie de la colonie a la capacité de se reproduire. Effectivement les sociétés d'insectes sont généralement composées de deux castes de femelles différentes : la caste des reines qui possèdent la capacité d'être fécondées et sont spécialisées dans la reproduction; puis la caste ouvrière dans laquelle les membres ont une fertilité réduite et se consacrent à la majorité des tâches nécessaires à la maintenance de la colonie (Wilson, 1971 ; Hölldobler & Wilson, 1990).

Ainsi, chez de nombreuses espèces polygynes, les reines développent des hiérarchies à l'intérieur desquelles leur rang est lié à leur développement ovarien. Dans un tel contexte, il arrive que certaines des reines dominantes dévorent les œufs de reines subalternes (Wilson, 1974 ; Bourke, 1991 ; Heinze et al., 1992 ; Medeiros et al., 1992).

Ces comportements agonistiques ne sont pas réservés à la caste des reines puisque, dans de nombreuses espèces de fourmis, les ouvrières ont gardé la capacité de se reproduire. Ces ouvrières possèdent des ovaires fonctionnels qui leur permettent de pondre des œufs haploïdes (Ito & Ohkawara, 1994 ; Peeters, 1997). Cependant la reproduction des ouvrières ne se

développe généralement qu'après la mort de la reine. La mise en place de hiérarchies entre ouvrières pour la production de mâles est alors régulièrement observée. Tout comme pour la hiérarchie entre reines, les ouvrières développent leurs ovaires en adéquation avec leur rang (Ito & Higashi, 1991 ; Heinze et al., 1996 ; Heinze et al., 1997). Là encore, des comportements de cannibalisme des œufs provenant d'ouvrières subordonnées par des ouvrières dominantes ont été observés (van Walsum et al., 1998 ; Gobin & Ito, 2003).

Ainsi, dans ces deux cas, le cannibalisme des œufs est considéré comme le résultat de la compétition pour l'optimisation la production de couvain. Produire une trop grande quantité de couvain en comparaison du nombre d'ouvrières pourrait mener à un abaissement de la productivité de la colonie (Cole, 1986 ; Nonacs, 1992 ; Frank, 1996 ; Johnson, 1998 ; Wenseleers et al., 2004). En développant leur propre couvain tout en limitant la quantité de couvain compétiteur, les individus maximisent à la fois la productivité de la colonie et leur *fitness*.

Aucune étude n'a clairement mis en évidence les mécanismes permettant la discrimination des œufs. La plupart des études portant sur la discrimination des œufs ont montré des différences chimiques quantitatives et qualitatives entre les œufs provenant d'individus fécondés et non fécondés (Ratnieks, 1995 ; Monnin & Peeters, 1997 ; Liebig et al., 2000 ; D'Ettorre et al., 2004a ; Endler et al., 2004 ; Endler et al., 2006). La présence de composés chimiques sur la surface de l'œuf lié au statut hiérarchique de l'individu pondeur pourrait être utilisée par l'ouvrière afin de discriminer entre ses propres œufs et ceux des autres ouvrières. Cependant un tel signal a rarement été détecté (Monnin & Peeters, 1997) et rien n'indique que les individus utilisent cette information. Enfin, ce fonctionnement ne peut expliquer que la cannibalisation arrive le plus souvent dans un court laps de temps après la ponte.

Nous avons tenté de comprendre les mécanismes entrant en jeu dans les comportements de cannibalisation des œufs chez la fourmi neotropicale *P. goeldii*. Comme la majorité des ponerines, les ouvrières de *P. goeldii* possèdent des ovaires fonctionnels leur permettant de pondre des œufs haploïdes (Ito & Ohkawara, 1994 ; Peeters, 1997). Le but de cette étude est (i) de définir si le rang hiérarchique des ouvrières est lié au comportement de cannibalisme des œufs, (ii) de vérifier l'importance de l'âge de l'œuf dans les comportements de cannibalisme, (iii) d'identifier la présence de composés chimiques à la surface de l'œuf menant à des comportements de cannibalisme dans ces sociétés orphelines.

4.3. Matériels et méthodes

Colonies étudiées, conditions d'élevage et comportements observés

Trois colonies de *Pachycondyla goeldii* ont été récoltées en septembre 2002 près du barrage de "Petit Saut" en Guyane Française. Chacune des colonies était composée d'une reine et d'approximativement 300 ouvrières. Elles ont été installées dans des nids de plâtre puis ont été maintenues à 28 ± 2 °C et 80 ± 2 % d'humidité dans l'attente d'expérimentations. Elles ont été alimentées avec du miel dilué, des drosophiles aptères et des crickets, avant et pendant les expériences.

Pontes, cannibalisme des œufs et hiérarchie

Afin de déterminer les rangs hiérarchiques des ouvrières et de définir leurs liens avec la quantité d'œufs pondus et sur leur cannibalisation, nous avons constitué huit groupes expérimentaux de seize ouvrières (trois groupes par colonie pour deux colonies et deux groupes provenant de la dernière colonie). Chaque ouvrière a été marquée sur l'abdomen avec deux points de peinture de couleur.

Deux mois après avoir été 'orpheliné', chaque groupe a été observé jusqu'à obtenir un total de plus de 200 comportements de boxe antennaire. Le boxe antennaire est un comportement ritualisé représentatif du rapport de dominance entre deux ouvrières pendant lequel une ouvrière dominante frappe la tête d'une subalterne à l'aide de ses antennes (Ito & Higashi, 1991 ; Heinze et al., 1996 ; Cuvillier Hot et al., 2004a). Nous définissons ainsi le rang de chaque ouvrière en considérant la direction des boxes antennaires effectués.

Durant cette période, chaque oviposition a été enregistrée sur bande vidéo. Nous avons pu alors suivre le devenir des œufs pendant six heures afin de vérifier s'ils étaient cannibalisés ou intégrés dans une pile d'œufs.

Rapport entre l'âge de l'œuf et sa destruction

Afin de vérifier si l'âge des œufs est un facteur utilisé par les ouvrières pour choisir entre leur destruction et leur sauvegarde, nous avons constitué six nouveaux groupes expérimentaux de quarante ouvrières chacun (deux par colonie). Nous avons maintenu les groupes dans ces conditions pendant trois mois ce qui a permis aux ouvrières de développer leurs ovaires et de pondre. Nous avons ensuite enlevé tous les œufs présents dans la moitié de ces nids afin de stimuler la ponte des ouvrières. Ces trois nids ont alors été observés 15 fois par jour pendant une semaine afin de localiser des ouvrières en cours d'oviposition. Chaque ouvrière repérée a été retirée du nid une fois l'œuf apparu. Chaque pondreuse a alors été isolée dans une boîte en plastique afin d'y terminer la ponte. L'œuf frais a ensuite été prélevé à l'aide de pinces souples avant que l'ouvrière ne le saisisse afin de réduire au minimum le contact entre la pondreuse et son œuf. Chaque œuf a ensuite été isolé pendant 0, 5 ou 10 heures avant d'être introduit dans le deuxième groupe provenant de la même colonie. Les œufs ont alors été suivis jusqu'à leur destruction ou leur intégration à la pile.

Analyse chimique des œufs

Afin de déterminer si les composés présents à la surface des œufs évoluent au cours du temps, nous avons collecté 75 œufs selon le procédé décrit précédemment. Ces œufs ont été isolés pendant 0, 5 ou 10 heures. Les composés présents à leur surface ont alors été extraits

pendant 10 minutes dans 50 μl de pentane avec 1,5 μg of *n*-tétracosane comme étalon interne ; soit un total de 75 échantillons. Afin de concentrer ces composés, nous avons mélangé le contenu de cinq échantillons provenant du même nid d'origine et de la même période d'isolement, obtenant ainsi un total de 15 échantillons mélangés (cinq pour chacune des durées d'isolement). 5 μl de chaque échantillon ont alors été injectés dans le port d'une chromatographie en phase gazeuse (Varian 3900) avec injecteur *split/splitless*. Nous avons utilisé une colonne non polaire (30 m X 0.32 millimètre, épaisseur de film de 0.25 μm) avec de l'hélium en tant que gaz porteur. La température a été maintenue à 100°C pendant 5 minutes avec la valve de *split* fermée pendant cette période. La température a ensuite été élevée de 5°C/mn jusqu'à atteindre 300°C puis a été maintenue à un niveau constant pendant 10 minutes. Le port d'injection était à 200°C et le FID à 320°C. La valeur des pics a été calculée avec la version 6.20 du système de control Varian.

4.4. Résultats

Ponte, cannibalisme des œufs et hiérarchie

Comme on pouvait s’y attendre, les ouvrières de haut rang pondent la majorité des œufs de la colonie (Figure 1). Effectivement, nous avons observé une forte corrélation entre le rang et le nombre d’œufs pondus (corrélation de Spearman ; $r : -0,87$ $p < 0.0001$). D’autre part, une partie conséquente de ces œufs a été cannibalisée juste après avoir été pondus (9 sur 32 œufs pondus). Dans tous les cas, les ouvrières pondeuses ont gardé leurs œufs dans leurs mandibules après la ponte. Pendant cette période, ces ouvrières ont révélé un comportement très intéressant : chacune évitait systématiquement les contacts entre l’œuf et les autres ouvrières en présentant son abdomen aux ouvrières proches.

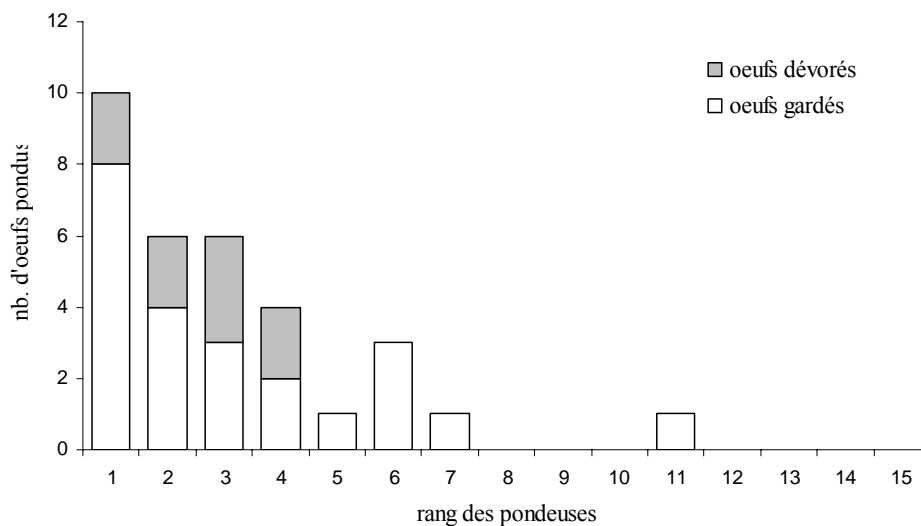


Figure MS#5-1 : Nombre d’œufs pondus, dévorés et gardés en fonction du rang hiérarchique par 22 ouvrières pondeuses de 8 groupes provenant de 3 colonies.

La majorité des œufs sauvegardés (13 sur les 14) ont été conservés entre les mandibules de la pondreuse jusqu'à être déposés dans la pile d'œufs. Chacun de ces œufs n'a donc été transporté et touché que par sa pondreuse durant les 6 heures qui ont suivi l'oviposition. D'autre part, dans tous les cas de cannibalisme, d'autres ouvrières se sont emparées des œufs dans les mandibules de la pondreuse avant d'en nourrir les larves. Finalement aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre le rang et la quantité d'œufs cannibalisés. De plus, les ouvrières qui se sont emparées de l'œuf n'avaient pas forcément un plus haut rang hiérarchique que la pondreuse (seulement 4 cas sur 9).

Rapport entre l'âge et le cannibalisme des œufs

Quand des œufs d'âges différents sont introduits dans les nids, les ouvrières détruisent préférentiellement les œufs frais (Figure 2). Les œufs ont été échangés en moyenne entre $3,76 \pm 2,39$ ouvrières avant d'être cannibalisés. Sur les 25 cas de destruction d'œufs, 9 ont été dévorés par une ouvrière et les 16 autres ont servi de nourriture aux larves. Tous les œufs dévorés ont été détruits dans les 23 minutes qui ont suivi leur introduction dans le nid.

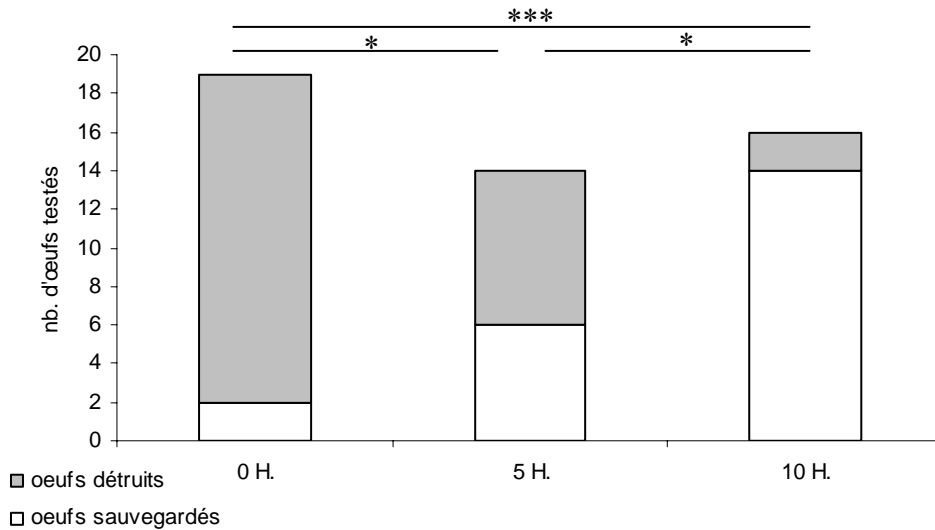


Figure MS#5-2 : Devenir d'œufs introduits dans des groupes homocoloniaux en fonction de leur âge.

Analyse chimique des œufs

Un nombre restreint de composés chimiques a été détecté sur la surface des œufs, principalement des hydrocarbures et des acides (Figure 3). Parmi ces molécules notre attention s'est portée sur le 3-methyl-pentacosane car la quantité que nous avons extraite varie avec l'âge des œufs testés, Test de Kruskal-Wallis ; $P : 0.002$ (Figure 4).

Figure MS#5-3 :
Chromatogramme des molécules extraites de la surface de cinq œufs juste après leur ponte. Le n-tétracosane correspond à l'éthalon interne.

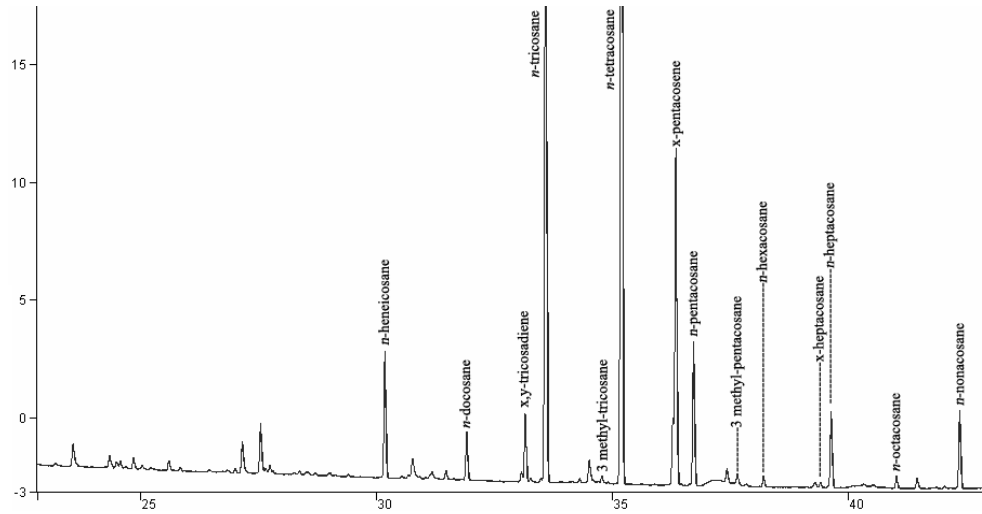
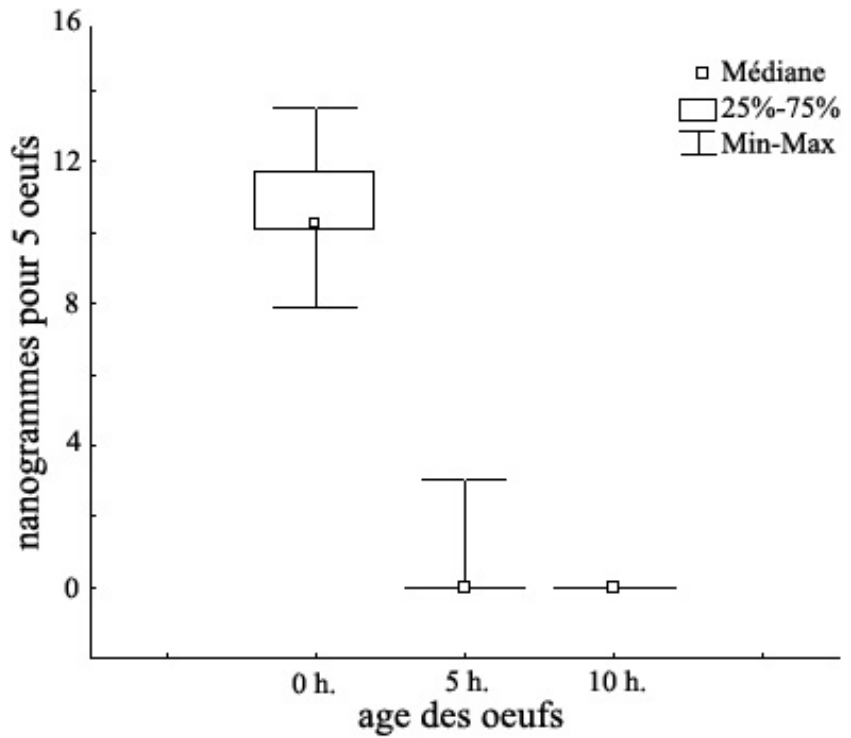


Figure MS#5-4 :
Quantité de 3-méthyl-pentacosane prélevé sur cinq œufs en fonction de l'âge des œufs extraits. Quantité calculée relativement à l'éthalon interne.



4.5. Discussion

Notre travail fournit des données originales prouvant que l'âge de l'œuf est l'un des principaux facteurs amenant au comportement de cannibalisme des œufs dans les colonies de *P. goeldii*. De plus, nous avons identifié pour la première fois une molécule qui pourrait être utilisée comme un indice de l'âge de l'œuf.

Ce mécanisme pourrait permettre d'identifier la provenance de l'œuf. West Eberhard (West-Eberhard, 1969) proposait que les femelles pouvaient éviter de manger leurs propres œufs en ne mangeant que ceux récemment pondus, et en ne le faisant que lorsqu'elles ne venaient pas de pondre. Chez *P. goeldii* comme chez de nombreuses autres espèces de fourmi, la pondreuse garde son œuf entre ses mandibules un certain temps après la ponte (Heinze et al., 1992 ; Medeiros et al., 1992 ; Monnin & Peeters, 1997 ; van Walsum et al., 1998 ; Gobin & Ito, 2003). Ainsi les ouvrières pourraient augmenter leurs *fitness* en protégeant leurs œufs des autres ouvrières pendant une période critique.

En théorie, si le statut des ouvrières leur confère un comportement de dominance, les hauts rangs devraient avoir un meilleur succès dans le comportement de protection de leurs œufs. Cependant, au cours de notre étude, aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre le rang des ponduses et la destruction des œufs. De plus, dans plusieurs cas, le statut hiérarchique des ouvrières cannibales était plus faible que celui de la pondreuse. Enfin, il est très intéressant de noter qu'une partie des ouvrières cannibales ne possédait pas d'ovaires développés. Un tel fonctionnement est incompatible avec l'hypothèse d'une cannibalisation des œufs comme simple résultat de la compétition entre individus reproducteurs pour la production de couvain. Effectivement, le seul intérêt des ouvrières non reproductrices à empêcher la ponte de nouveaux œufs est de réguler la production de couvain. Une

surproduction d'œufs au regard des ressources et du nombre d'ouvrières peut abaisser la productivité de la colonie (Hrdy & Hausfater, 1984 ; Cole, 1986 ; Nonacs, 1992 ; Frank, 1996 ; Johnson, 1998 ; Johnstone & Cant, 1999 ; Wenseleers et al., 2004). Empêcher une telle perte de productivité est primordial pour les ouvrières stériles mais négligeable pour les éventuelles pondeuses en comparaison des avantages génétiques attendus par leur reproduction directe.

De tels comportements peuvent avoir d'autres impacts sur la productivité de la colonie. L'énergie allouée au couvain est positivement corrélée à son âge. En effet, les œufs nécessitent de nombreux soins pour se développer, notamment des toilettages réguliers de leur surface par les ouvrières (Brough, 1983). Plus l'âge de l'œuf augmente, et plus l'investissement énergétique que les ouvrières lui ont consacré augmente. De plus, le temps de développement d'un œuf est incompressible ; la destruction d'un vieil œuf représente donc une perte directe d'énergie supérieure pour la colonie dans son ensemble que celle d'un œuf frais. Détruire préférentiellement des œufs jeunes peut donc se montrer décisif dans les cas de contraintes écologiques fortes qui obligent la colonie à se nourrir d'une partie de son couvain. Par exemple, lors de la phase de fondation, de nombreux cas de cannibalisation d'œufs ont été observés. Les œufs peuvent ainsi permettre de nourrir les larves dans des conditions de diète (voir référence dans Crespi, 1992). Durant ces périodes, le fait de manger des œufs âgés pour lesquels beaucoup d'énergie a déjà été investie peut avoir des conséquences fatales pour la colonie en réduisant drastiquement le taux de renouvellement des larves.

L'élément permettant aux ouvrières de déterminer l'âge de l'œuf semble donc être de nature chimique. Dans cette étude, ainsi que dans de nombreuses autres, les ouvrières mêlent leurs œufs à ceux des autres en les regroupant dans une même pile d'œufs. Grâce à un tel comportement les ouvrières pourraient dissimuler d'éventuels indices concernant l'âge des

œufs, évitant ainsi leur cannibalisation. Dans de prochaines études il pourrait être intéressant de se focaliser sur les effets du mélange des œufs dans la pile sur la reconnaissance de l'âge de l'œuf.



DISCUSSION GÉNÉRALE

Pachycondyla goeldii diffère des autres ponérines principalement du fait de sa structure sociale atypique. Nous allons maintenant tenter d'approfondir la réflexion sur les causes et les conséquences de cette structure sociale. Nous avons précédemment considéré que la polydomie de *P. goeldii* était liée aux pressions environnementales subies par cette espèce (chapitre 1). Cependant les pressions internes à la colonie pourraient, elles aussi, avoir influencé la structure sociale de ces colonies.

1. La polydomie : conséquence des conflits intra-coloniaux ou de la compétition inter-spécifique ?

L'analyse des contraintes expliquant l'émergence de la polydomie chez *P. goeldii* est avant tout une question de points de vue. La polydomie chez cette espèce peut résulter d'une adaptation aux pressions environnementales (voir chapitre 1). Cependant la pression interne à la colonie pourrait, elle aussi, avoir eu un impact sur la structure sociale de cette espèce, faisant de l'émergence de la polydomie une conséquence des conflits intra-coloniaux. Ainsi Rosengren (1983) explique que des phénomènes de fission pouvant mener à la polydomie pourraient être consécutifs aux conflits reine/reine dans les sociétés polygynes. Les ouvrières pourraient, elles aussi, utiliser les nids sans reine afin d'échapper à l'influence royale (Snyder & Herbers, 1991). Chez les abeilles, les ouvrières fertiles sont capables de se soustraire à l'influence de la reine en l'évitant physiquement (Moritz et al., 2002). Un comportement similaire des ouvrières de *P. goeldii* pourrait avoir mené à la structure sociale que nous lui connaissons aujourd'hui. La capacité des ouvrières de *P. goeldii* à initier des jardins de fourmis sans l'aide des reines a été démontrée (Orivel, 2000) ce qui laisse supposer qu'en quittant leur nid d'origine, elles pourraient établir de nouveaux nids de fait sans reine. Il ne faut pas perdre de vue que dans le cas d'un système monogyne monoandre le couvain diploïde généré par la reine est très apparenté aux ouvrières ($r : 3/4$). La *fitness* des ouvrières

pondeuses dans les calies secondaires pourrait être maximale si celles-ci influençaient le nombre de sexuées femelles formées à partir du couvain royal, et y ajoutaient aussi leur propre descendance.

L'évolution du comportement des ouvrières qui tend à maximiser leur *fitness* a toutefois des limites puisqu'elle doit rester compatible avec une *fitness* coloniale élevée. Ainsi, si l'émergence de la polydomie au sein d'une colonie de *P. goeldii* n'incluait pas une productivité au moins égale à celle des colonies monodominiques, alors cette structure coloniale resterait sans doute marginale car moins compétitive. Ces ouvrières se reproduiraient de façon plus importante au sein de colonies qui se reproduiraient moins. La sélection de certains phénotypes d'ouvrières pourrait alors influencer sur la *fitness* coloniale quand, dans le même temps, la sélection de phénotypes coloniaux pourrait influencer sur la *fitness* des ouvrières. Il s'agirait alors de rechercher un compromis optimisant à la fois la *fitness* des ouvrières et de la colonie. Si la polydomie avait un impact négatif sur la productivité coloniale, il faudrait que la *fitness* des ouvrières compense l'abaissement de la *fitness* coloniale pour que le caractère polydomique se stabilise dans la population. Cependant, un impact négatif de la polydomie semble peu probable au vu de la quantité d'espèces ayant développé cette structure et des avantages qui y sont rattachés (e.g., Brian, 1956 ; Hölldobler & Lumsden, 1980 ; Smallwood, 1982 ; McIver, 1991 ; Banschbach et al., 1997 ; Davidson, 1997 ; Holway & Case, 2000). La polydomie pourrait donc avoir émergé suite aux conflits de castes, même si les principales raisons de son maintien au fil des générations sont vraisemblablement dues aux avantages écologiques qu'elle procure.

2. Le parcours évolutif de *Pachycondyla goeldii*

Tentons alors de comprendre comment la polydomie a pu se développer chez *P. goeldii* au cours de son évolution. Retracer le parcours évolutif d'une espèce est une tâche ardue. On considère généralement l'ensemble des caractéristiques d'une espèce donnée comme le résultat de son adaptation aux différentes contraintes évolutives. Au cours de l'évolution il arrive néanmoins que certaines de ces caractéristiques favorisent à leur tour l'émergence de nouveaux caractères. Chez les fourmis la polydomie et la polygynie semblent entretenir ce type de rapports.

La polydomie est principalement considérée comme une adaptation à une distribution aléatoire des ressources nutritives. Elle permet de trouver et de rapatrier plus rapidement la nourriture en abaissant la distance nid/ressource (Hölldobler & Lumsden, 1980 ; McIver, 1991 ; Davidson, 1997 ; Holway & Case, 2000). La polygynie elle, aurait d'autres fonctions. Elle permettrait par exemple d'optimiser le rendement des colonies (Choe & Perlman, 1997), et d'accélérer ainsi développement colonial, notamment lors de phases à risques telles que la phase de fondation (Bartz & Hölldobler, 1982 ; Rissing & Pollock, 1986, 1987, 1991 ; Tschinkel, 1998). La polygynie pourrait aussi faciliter la construction de structures de nids complexes par les fondatrices, comme pour les nids d'*Oecophylla* qui nécessitent le travail simultané de plusieurs individus afin de lier entre elles les feuilles constitutives des nids (e.g. *Oecophylla longinoda*, *Oecophylla smaragdina* : Peeters & Andersen, 1989 ; Herbers, 1993).

Selon Rosengren, l'émergence de ces caractéristiques ne doit pas être dissociée. Il propose ainsi que chez les Formicinae, la polydomie ne serait qu'une conséquence de la polygynie. La polydomie serait, dans la majorité des cas, due à un éloignement géographique de reines d'une société polygyne. En maintenant des contacts entre eux, les deux nids

formeraient de fait une structure polydomique. On peut donc considérer que la pression environnementale nécessaire au passage à la polydomie est plus faible dans les sociétés polygynes que dans les sociétés monogynes. Une telle relation impliquerait que chez les fourmis, une des principales voies évolutives vers la polydomie passe par la polygynie. Ainsi les sociétés de fourmis décrites comme polydomiques dans la littérature sont généralement aussi polygynes.

Selon ce schéma évolutif, les sociétés polydomiques peuvent résulter de deux parcours différents : soit un accès à la polydomie via un passage préalable par la polygynie (parcours sans doute le plus fréquent), soit un accès direct de sociétés monogynes à la polydomie. Ce deuxième cas de figure nécessite alors que les pressions environnementales agissant sur ces espèces soient très fortes. Ces contraintes favoriseraient l'accès à la polydomie de ces sociétés et ce, malgré les contraintes liées à la monogynie. Cela semble être le cas chez *P. goeldii*, qui est une espèce toujours inféodée aux jardins de fourmis. Les contraintes environnementales que représentent les changements microclimatiques et la compétition inter-spécifique pour le site de nidification favoriseraient en effet l'abandon régulier de ses nids. Ainsi, seules les colonies polydomiques de *P. goeldii* pourraient effectuer d'éventuels déménagements. Mais qu'en est-il de certaines espèces monogynes qui ne semblent pas être soumises à de telles pressions et qui pourtant, sont elles aussi polydomiques ? Ces espèces appartenant principalement aux sous-familles des Formicinae (e.g., Curtis, 1985 ; Hasegawa, 1992 ; Mercier, 1999 ; Beugnon et al., 2001) et des Myrmicinae (e.g., Snyder & Herbers, 1991 ; Foitzik & Heinze, 1998 ; Foitzik & Herbers, 2001) développent de la polydomie malgré leur monogynie. Il est cependant peu probable que toutes ces espèces qui colonisent des habitats variés soient soumises à des pressions de sélection comparables à *P. goeldii*.

Il semble donc que, dans certains cas de figure, la monogynie ne soit pas un réel obstacle à l'émergence de la polydomie. On est alors en droit de s'interroger ; Rosengren, dans son analyse, a considéré que la polygynie facilitait la polydomie ; cependant la productivité d'une colonie fluctue avec son degré de polygynie. Peeters (2001) considère que chez les espèces sans reine la division coloniale est sans doute plus liée à la taille de la colonie qu'à son degré de polygynie. Il est effectivement moins coûteux pour une colonie prolifique d'engager une partie de ses ouvrières à la conquête d'un nouveau nid. La productivité de la colonie ne serait-elle pas un meilleur facteur à prendre en compte ? Elle pourrait expliquer à la fois les résultats de Rosengren et le fait que de nombreuses espèces monogynes aient, elles aussi, pu développer un système polydomique.

3. La polydomie, point de départ des conflits intra-coloniaux ?

Concentrons-nous maintenant sur les conséquences que pourrait induire la polydomie au sein des sociétés monogynes. Nous avons vu, principalement au cours du chapitre 2, que les calées secondaires des colonies polydomiques sont le siège d'un conflit entre ouvrières pour la production de mâles. Le développement de ce type de conflits au sein des sociétés de fourmis est associé à l'émergence de comportements qui peuvent nuire au développement de la colonie comme par exemple la ponte d'ouvrières en présence de la reine. La reproduction des ouvrières impliquerait de dédier une certaine partie des ressources de la colonie (i.e. ressources trophiques ; temps d'activité des ouvrières) à leur couvain haploïde, ce qui abaisserait la productivité de la colonie dans son ensemble (Cole, 1986 ; Nonacs, 1992 ; Frank, 1996 ; Johnson, 1998 ; Wenseleers et al., 2004). En se reproduisant dans un système monogyne monoandre, les ouvrières pourraient ralentir le développement du couvain diploïde de la reine et abaisser drastiquement leur *inclusive fitness*. Effectivement, elles entretiennent un plus fort degré de parenté avec le couvain diploïde royal ($r : \frac{3}{4}$) qu'avec leur propre

descendance ($r : \frac{1}{2}$). Ceci est encore plus important pour les ouvrières non pondueuses qui ne sont apparentées qu'à $r : \frac{3}{8}$ avec leurs neveux. Autrement dit, pour que la ponte des ouvrières ne les desserve pas, il faut que l'influence de leur ponte sur le couvain diploïde soit limitée, ce qui pourrait être le cas si les ouvrières ne produisaient des mâles qu'en quantité relativement faible afin de ne pas affecter le couvain royal.

Chez *P. goeldii* on peut imaginer un mécanisme permettant la limitation de l'influence de la reproduction d'ouvrières sur le couvain royal grâce au passage à la polydomie. Effectivement les reines de Ponerinae ont une faible fertilité (Peeters, 1997). Or, plus le ratio ouvrières/couvain royal augmente et moins une reproduction d'ouvrières n'aura d'effet négatif sur ce couvain. En ne produisant qu'une quantité limitée de couvain dans un système suffisamment robuste pour que l'effet négatif sur le couvain royal soit négligeable les ouvrières pourraient voir leur fitness maximisée. Le développement de la polydomie est sans doute lié à la taille de la colonie. Le nombre de calies constituerait donc un bon indicateur de robustesse de la colonie qui comporterait suffisamment d'ouvrières pour en allouer une certaine partie à l'élaboration de nouveaux nids.

La polydomie d'une société monogyne induit probablement un abaissement de l'intensité du signal de la reine dans les calies secondaires. Le niveau d'intensité du signal de la reine dans ces calies pourrait indiquer aux membres de cette calie la robustesse de la colonie. Plus la colonie comporte de calies, plus elle est robuste, et plus le nombre d'ouvrières soumises à un faible signal royal augmente. Les ouvrières pourraient amorcer les conflits lorsque le signal royal est suffisamment faible, la perte d'énergie et de ressources qu'impose la mise en place des conflits serait alors négligeable.

Le signal royal est principalement considéré comme une phéromone bénéfique à tous les membres de la colonie (Karlson & Butenandt, 1959 ; Hölldobler & Wilson, 1990). Un tel

fonctionnement signifierait que les ouvrières utiliseraient l'intensité du signal de la reine comme indice de robustesse de la colonie. On aurait alors un exemple d'utilisation d'une composante d'un signal (i.e. intensité du signal royal) comme indicateur dans un domaine totalement différent de celui pour lequel il a été sélectionné. Ce type de mécanisme nous amène donc à nous questionner sur la notion de signal.

4. Les hydrocarbures : indices ou signaux ?

La définition du terme signal a été longuement débattue. Nous avons ainsi proposé une définition générale dans le chapitre 3 : *“an action or structure which increases the fitness of an individual by altering the behaviour of other organisms”* (Dawkin & Krebs, 1978 ; Krebs & Dawkin, 1984 ; Hasson, 1994 ; Maynard Smith & Harper, 1995). Greenfield (2002), en voulant éviter de donner une nouvelle définition, propose dans un récent ouvrage une description plus complète : *“Signals are taken to be modifications of the physical or chemical environment induced by the signaler’s specialized behavior, and a receiver treats them as information revealing the transmitter’s identity, its physiological or behavioral state, or information that the transmitter itself had received from or about other individual or the environment. This information is perceived by, and possibly stored in, the receiver’s nervous system, and it influences the receiver to respond in a manner such that it and the signaler benefit on average”*. Maynard Smith & Harper (2003) proposent une définition synthétique du signal : *“An act or structure that alters the behaviour of another organism, which evolved because of that effect, and which is effective because the receiver’s response has also evolved”*. Quelle que soit la définition choisie, nous remarquons que l'individu émetteur doit bénéficier des effets de son signal. C'est parce qu'il augmente la *fitness* de l'émetteur qu'il sera sélectionné et sera de fait considéré comme un signal.

Reprenons l'exemple précédent dans lequel les ouvrières utiliseraient l'intensité du signal de la reine comme indice de robustesse de la colonie. On considère généralement que la reine bénéficie du signalement de sa présence de part les comportements positifs que cela déclenche chez les ouvrières (Karlson & Butenandt, 1959 ; Hölldobler & Wilson, 1990). Mais si les ouvrières utilisent la baisse d'intensité du signal de la reine comme point de départ à leur reproduction, alors traitent-elles l'intensité du signal royal comme un indice ? On peut considérer que la réponse est affirmative si l'utilisation de cette information par les ouvrières rend la *fitness* de la reine moins importante que si les ouvrières ne l'utilisaient pas.

Les auteurs s'accordent pour dire qu'une des principales voies évolutives aboutissant à la formation d'un signal (processus appelé *ritualization*) serait son évolution à partir d'un indice (e.g., Dawkin & Krebs, 1978 ; Krebs & Dawkin, 1984 ; Hasson, 1994 ; Maynard Smith & Harper, 1995 ; Maynard Smith & Harper, 2003). Ainsi, chez les fourmis, l'émergence du signal royal pourrait avoir pour origine l'évolution d'un indice de fertilité. Sélectionné au cours des générations, cet indice serait aujourd'hui considéré par les biologistes comme un signal car il aurait manifestement un intérêt évolutif pour l'émetteur.

L'utilisation opportuniste d'indices préexistants pourrait expliquer les résultats que nous avons observés sur les signaux de fertilité des ouvrières de *P. goeldii*. Contre toute attente, les mêmes composés chimiques étaient les plus aptes à nous renseigner à la fois sur le statut ovarien et sur l'appartenance à la colonie. Les ouvrières pourraient utiliser ces molécules dans les deux registres que sont l'odeur coloniale et l'odeur de fertilité. Alors, il n'y aurait pas eu l'émergence de deux signaux particuliers pour la fertilité ou pour l'appartenance coloniale, mais plutôt l'utilisation d'un de ces deux signaux préexistants dans la seconde fonction.

Il faut donc rester prudent sur les rôles qu'on impute à ces informations car ils peuvent évoluer en fonction de l'environnement social ou écologique des colonies. Prenons par exemple l'information qui permet aux ouvrières de *P. goeldii* de détruire préférentiellement les œufs fraîchement pondus plutôt que les plus âgés. Utiliser cette information peut tout à la fois être bénéfique à l'ensemble de la colonie et entrer en jeu dans les mécanismes de reconnaissance de parenté. Comme on l'a vu dans le dernier chapitre, dans des situations de diètes, reconnaître l'âge des œufs permet de définir ceux qui ont suscité le plus d'investissement. On évite ainsi de sacrifier systématiquement les œufs prêts à éclore, ce qui mènerait à la perte de la fondation. Par contre, à la mort de la reine, lorsque les ouvrières pondent, une telle information permettrait à chaque ouvrière de définir indirectement la parenté des œufs en utilisant une règle simple : "si je découvre un œuf jeune et que je ne viens pas de pondre alors cet œuf n'est pas un de mes descendants directs".

5. Conclusion

Il peut sembler que la question des choix sémantiques faits pour désigner le type d'information chimique (signal vs. indice) apporte peu au débat général sur le niveau auquel opère la sélection naturelle. Pourtant réfléchir à la manière de qualifier des informations chimiques permet de développer un autre regard sur la façon dont les entomologistes considèrent les colonies de fourmis aujourd'hui. Le terme 'signal' est sans doute le plus utilisé pour désigner les informations chimiques utilisées au sein de ces sociétés.

Implicitement, cela signifie que quelle que soit l'information utilisée, elle bénéficie à l'individu qui l'émet. La répression d'un membre de la colonie peut influencer positivement la *fitness* coloniale et donc l'*inclusive fitness* de l'individu réprimé. Qualifier les informations chimiques de 'signaux', dans le cadre de certains conflits, implique que l'on estime, comme le

proposent Bourke et Chan (1999) à propos du *conflit reine/ouvrière pour l'investissement dans la reproduction*, que l'intérêt évolutif de l'ensemble des individus de la colonie coïncide car il ne peut se concrétiser que par une production unique et commune : les sexués. Parler de signal revient alors à nier la présence de conflits internes à la société et à considérer les observations comportementales agonistiques uniquement comme des mécanismes de régulation optimisant le fonctionnement de la colonie. En effaçant de la sorte les conflits internes à la colonie, on ne considère sa structure que comme une réponse à son environnement proche et à la compétition inter-spécifique. Pour conclure, le succès du terme 'signal', largement employé dans la littérature, revient à considérer implicitement la colonie comme le principal niveau de sélection, alors même que cela est loin d'être une idée généralement admise.

L'organisation complexe des sociétés de fourmis nécessite de définir au cas par cas les effets d'une information sur la *fitness* de l'individu qui l'émet, seul ce travail permet de reconnaître les signaux parmi les indices détectés. Par exemple, dans le cadre du *conflit reine/ouvrière pour le sex ratio*, les ouvrières devraient favoriser le couvain reproducteur diploïde par rapport au couvain haploïde. Une information émise par les larves diploïdes permettant aux ouvrières de définir leur sexe serait probablement interprétée comme un signal, par contre la même information provenant de larves haploïdes ne serait vraisemblablement qu'un indice.



RÉFÉRENCES

- Andersen, A. N. 1992. Regulation of "momentary" diversity by dominant species in exceptionally rich ant communities of the Australian seasonal tropics. *American Naturalist*, **140**, 401-420.
- Andersen, A. N. & Patel, A. D. 1994. Meat ants as dominant members of Australian ant communities: an experimental test of their influence on the foraging success and forager abundance of other species. *Oecologia*, **98**, 15-24.
- Aron, S. & Passera, L. 2000. *Les sociétés animales*. Bruxelles: Editions De Boek Université.
- Bagnères, A. G. & Morgan, E. D. 1991. The postpharyngeal glands and the cuticle of Formicidae contain the same characteristics hydrocarbons. *Experientia*, **47**, 106-111.
- Banschbach, V. S. & Herbers, J. M. 1996. Complex colony structure in social insects. II. Reproduction, queen-worker conflict, and levels of selection. *Evolution*, **50**, 298-307.
- Banschbach, V. S., Levit, N. & Herbers, J. M. 1997. Nest temperatures and thermal preferences of a forest ant species: is seasonal polydomy a thermoregulatory mechanism? *Insectes Sociaux*, **44**, 109-122.
- Bartz, S. H. & Hölldobler, B. 1982. Colony founding in *Myrmecocystus mimicus* Wheeler (Hymenoptera: Formicidae) and the evolution of foundress associations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **10**, 137-147.
- Beekman, M. & Ratnieks, F. L. W. 2003. Power over reproduction in social Hymenoptera. *Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London Series B Biological Sciences*, **358**, 1741-1753.
- Benson, W. W. 1985. Amazon ant-plants. In: *Key environments. Amazonia* (Ed. by Prance, G. T. & Lovejoy, T. E.), pp. 239-266. Oxford: Pergamon Press.
- Bernard, F. 1972. Premiers resultats de denombrement de la faune par carres en Afrique du Nord. *Bulletin de la Société d'Histoire naturelle de l' Afrique du Nord*, **63**, 1-14.

- Beugnon, G., Chagné & Dejean, A. 2001. Colony structure and foraging behavior in the tropical formicine ant, *Gigantiops destructor*. *Insectes Sociaux*, **48**, 347-351.
- Bolton, B. 1994. *Identification guide to the ant genera of the world*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Bolton, B. 2003. Synopsis and classification of Formicidae. *Memoirs of the American Entomological Institute*, **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. *Journal of Entomological Science*, **22**, 1-10.
- Bourke, A. F. G. 1988. Worker reproduction in the higher eusocial Hymenoptera. *Quarterly Review of Biology*, **63**, 291-311.
- Bourke, A. F. G. 1991. Queen behaviour, reproduction and egg cannibalism in multiple-queen colonies of the ant *Leptothorax acervorum*. *Animal Behaviour*, **42**, 295-310.
- Bourke, A. F. G. & Chan, G. 1999. Queen-worker conflict over sexual production and colony maintenance in perennial social insects. *American Naturalist*, **154**, 417-426.
- Bourke, A. F. G. & Franks, N. R. 1995. *Social evolution in ants*. Princeton: Princeton University Press.
- Bourke, A. F. G. & Ratnieks, F. L. W. 1999. Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **46**, 287-297.
- Brandão, C. R. F. 1983. Sequential ethograms along colony development of *Odontomachus affinis* Guérin (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). *Insectes Sociaux*, **30**, 193-203.
- Brian, M. V. 1956. Segregation of species of the ant genus *Myrmica*. *Journal of Animal Ecology*, **25**, 319-337.
- Brian, M. V. 1965. *Social insect populations*. London: Academic Press.

- Brian, M. V. 1980. Social control over sex and caste in bees, wasps and ants. *Biological Reviews*, **55**, 379-415.
- Brian, M. V., Hibble, J. & Kelly, A. F. 1966. The dispersion of ant species in a southern English heath. *Journal of Animal Ecology*, **35**, 281-290.
- Brough, E. J. 1983. The antimicrobial activity of the mandibular gland secretion of a formicine ant, *Calomyrmex* sp. (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, **42**, 306-311.
- Cagniant, H. 1984. Influence de la reine sur l'apparition des sexués ailés et sur la ponte des ouvrières chez la fourmi *Cataglyphis cursor* (Fonscolombe) (Hyménoptères Formicidae). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, **120**, 99-102.
- Carlin, N. F. & Hölldobler, B. 1986. The kin recognition system of carpenter ants (*Camponotus* spp.). I. Hierarchical cues in small colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **19**, 123-134.
- Carlin, N. F. & Hölldobler, B. 1987. The kin recognition system of carpenter ants (*Camponotus* spp.) II. Larger colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **20**, 209-217.
- Carlson, D. M. & Gentry, J. B. 1973. Effects of shading on the migratory behavior of the Florida harvester ant, *Pogonomyrmex badius*. *Ecology*, **54**, 452-453.
- Cerdá, X., Dahbi, A. & Retana, J. 2002. Spatial patterns, temporal variability, and the role of multi-nest colonies in a monogynous Spanish desert ant. *Ecological Entomology*, **27**, 7-15.
- Cerdá, X. & Retana, J. 1998. Interference interactions and nest usurpation between two subordinate ant species. *Oecologia*, **113**, 577-583.
- Chapuisat, M., Goudet, J. & Keller, L. 1997. Microsatellites reveal high population viscosity and limited dispersal in the ant *Formica paralugubris*. *Evolution*, **51**, 475-482.

- Chapuisat, M. & Keller, L. 1999. Testing kin selection with sex allocation data in eusocial Hymenoptera. *Heredity*, **82**, 473-478.
- Choe, J. C. & Perlman, D. L. 1997. Social conflict and cooperation among founding queens in ants (Hymenoptera: Formicidae). In: *The evolution of social behavior in insects and arachnids* (Ed. by Choe, J. C. & Crespi, B. J.), pp. 392-406. Cambridge: Cambridge University Press.
- Cole, B. J. 1986. The social behavior of *Leptothorax allardycei* (Hymenoptera, Formicidae): time budgets and the evolution of worker reproduction. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **18**, 165-173.
- Colombel, P. 1971. Effet de groupe et ponte des ouvrières orphelines d'*Odontomachus haematodes* L. (Hym. form. ponerinae). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Série D Sciences Naturelles*, **272**, 2710-2712.
- Corbara, B. & Dejean, A. 1996. Arboreal nest building and ant-garden initiation by a ponerine ant. *Naturwissenschaften*, **83**, 227-230.
- Corbara, B., Dejean, A. & Orivel, J. 1999. Ant gardens, a unique epiphyte-ant association. *Année Biologique*, **38**, 73-89.
- Crespi, B. J. 1992. Cannibalism and trophic eggs in subsocial and eusocial insects. In: *Cannibalism and evolution among diverse taxa* (Ed. by Elgar, M. A. & Crespi, B. J.), pp. 176-213. Oxford: Oxford University Press.
- Crosland, M. W. J. 1989. Kin recognition in the ant *Rhytidoponera confusa*. II. Gestalt odour. *Animal Behaviour*, **37**, 920-926.
- Crozier, R. H. 1987. Genetic aspects of kin recognition: concepts, models, and synthesis. In: *Kin recognition in animals* (Ed. by Fletcher, D. J. C. & Michener, C. D.), pp. 55-73. New York: John Wiley.

- Crozier, R. H. & Dix, M. W. 1979. Analysis of two genetic models for the innate components of colony odor in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **4**, 217-224.
- Crozier, R. H. & Pamilo, P. 1996. *Evolution of social insect colonies*. Oxford: Oxford University Press.
- Curtis, B. A. 1985. Nests of the Namib Desert dune ant *Camponotus detritus* Emery. *Insectes Sociaux*, **32**, 313-320.
- Cuvillier-Hot, V., Cobb, M., Malosse, C. & Peeters, C. 2001. Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. *Journal of Insect Physiology*, **47**, 485-493.
- Cuvillier-Hot, V. 2002. Dominance et fertilité chez la fourmi sans reine *streblognathus peetersi*. Thèse de doctorat, Université François Rabelais Tours.
- Cuvillier-Hot, V., Lenoir, A., Crewe, R., Malosse, C. & Peeters, C. 2004a. Fertility signalling and reproductive skew in queenless ants. *Animal Behaviour*, **68**, 1209-1219.
- Cuvillier-Hot, V., Lenoir, A. & Peeters, C. 2004b. Reproductive monopoly enforced by sterile police workers in a queenless ant. *Behavioral Ecology*, **15**, 970-975.
- D'Ettorre, P., Heinze, J. & Ratnieks, F. L. W. 2004a. Worker policing by egg eating in the ponerine ant *Pachycondyla inversa*. *Proceedings of the Royal Society of London: Biological Sciences*, **271**, 1427-1434.
- D'Ettorre, P., Heinze, J., Schulz, C., Francke, W. & Ayasse, M. 2004b. Does she smell like a queen? Chemoreception of a cuticular hydrocarbon signal in the ant *Pachycondyla inversa*. *The Journal of Experimental Biology*, **207**, 1085-1091.
- Dahbi, A. & Lenoir, A. 1998. Nest separation and the dynamics of the Gestalt odor in the polydomous ant *Cataglyphis iberica* (Hymenoptera, Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **42**, 349-355.

- Darwin, C. 1859. *On the origin of species. (Facsimile of 1st edition, 1964)*. Cambridge, Mass: Harvard University Press.
- Davidson, D. W. 1985. An experimental study of diffuse competition in harvester ants. *American Naturalist*, **125**, 500-506.
- Davidson, D. W. 1988. Ecological studies of Neotropical ant gardens. *Ecology*, **69**, 1138-1152.
- Davidson, D. W. 1997. The role of resource imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. *Biological Journal of the Linnean Society*, **61**, 153-181.
- Davidson, D. W. & Epstein, W. W. 1988. Epiphytic associations with ants. In: *Vascular plants as epiphytes* (Ed. by Lüttge, U.), pp. 200-233. New York: Springer-Verlag.
- Davidson, D. W. & Epstein, W. W. 1989. Epiphytic associations with ants. In: *vascular plants as epiphytes*.
- Davidson, D. W. & McKey, D. 1993. The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. *Journal of Hymenoptera Research*, **2**, 13-83.
- Dawkin, R. & Krebs, J. R. 1978. Animal signals: information or manipulation. In: *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach* (Ed. By Krebs, J. R. and Davies, N. B.), pp. 282-309. Oxford: Blackwell.
- Debout, G., Provost, E., Renucci, M., Tirard, A., Schatz, B. & McKey, D. 2003. Colony structure in a plant-ant: behavioural, chemical and genetic study of polydomy in *Cataulacus mckeyi* (Myrmicinae). *Oecologia*, **137**, 195-204.
- Dejean, A., Corbara, B., Orivel, J., Snelling, R. R., Delabie, J. H. C. & Belin-Depoux, M. 2000. The importance of ant gardens in the pioneer vegetal formations of French Guiana (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, **35**, 425-439.

- Dejean, A., Corbara, B., Snelling, R. R. & Belin, M. 1997. Ant-gardens in French Guiana: Relationships between supporting tree, epiphytes and ants. *Acta Botanica Gallica*, **144**, 333-345.
- Delabie, J. C. 1990. The ant problems of cocoa farms in Brazil. In: *Applied myrmecology, a world perspective* (Ed. by Vander Meer, R. K., Jaffe, K. & Cedeno, A.), pp. 555-569. Boulder, CO.: Westview Press.
- Delabie, J. H. C., Benton, F. P. & Medeiros, M. A. d. 1991. La polydomie chez les Formicidae arboricoles dans les cacaoyeres du Bresil: optimisation de l'occupation de l'espace ou strategie defensive? *Actes des Colloques Insectes Sociaux*, **7**, 173-178.
- Delabie, J. H. C., Fresneau, D. & Pezon, A. 2000. Notes on the ecology of *Thaumatomyrmex* spp. (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) in southeast Bahia, Brazil. *Sociobiology*, **36**, 571-584.
- Denis, D., Orivel, J., Hora, R. R., Chameron, S. & Fresneau, D. accepted. First record of polydomy in a monogynous ponerine ant: a means to allow emigration between *Pachycondyla goeldii* nests. *Journal of Insect Behavior*
- Dietemann, V. & Peeters, C. 2000. Queen influence on the shift from trophic to reproductive eggs laid by workers of the ponerine ant *Pachycondyla apicalis*. *Insectes Sociaux*, **47**, 223-228.
- Dietemann, V., Peeters, C., Liebig, J., Thivet, V. & Hölldobler, B. 2003. Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and nonreproductives in the ant *Myrmecia gulosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 10341-10346.
- do Nascimento, R. R., Billen, J. & Morgan, E. D. 1993. The exocrine secretions of the jumping ant *Harpegnathos saltator*. *Comparative Biochemistry and Physiology B Comparative Biochemistry*, **104**, 505-508.
- Droual, R. 1984. Anti-predator behaviour in the ant *Pheidole desertorum*: The importance of multiple nests. *Animal Behaviour*, **32**, 1054-1058.

- Endler, A., Heinze, J. & Holldobler, B. 2006. Queen fertility, egg marking and colony size in the ant *Camponotus floridanus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **59**, 490-499.
- Endler, A., Liebig, J., Schmitt, T., Parker, J. E., Jones, G. R., Schreier, P. & Hölldobler, B. 2004. Surface hydrocarbons of queen eggs regulate worker reproduction in a social insect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 2945-2950.
- Federle, W., Maschwitz, U. & Fiala, B. 1998. The two-partner ant-plant system of *Camponotus (Colobopsis) sp. 1* and *Macaranga puncticulata* (Euphorbiaceae): natural history of the exceptional ant partner. *Insectes Sociaux*, **45**, 1-16.
- Fittkau, E. J. & Klinge, H. 1973. On biomass and trophic structure of the central Amazonian rain forest ecosystem. *Biotropica*, **5** (1), 2-14.
- Fletcher, D. J. C. & Ross, K. G. 1985. Regulation of reproduction in eusocial Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, **30**, 319-343.
- Foitzik, S. & Heinze, J. 1998. Nestsite limitation and colony take over in the ant, *Leptothorax nylanderii*. *Behavioral Ecology*, **9**, 367-375.
- Foitzik, S., Heinze, J., Oberstadt, B. & Herbers, J. M. 2002. Mate guarding and alternative reproductive tactics in the ant *Hypoponera opacior*. *Animal Behaviour*, **63**, 597-604.
- Foitzik, S. & Herbers, J. M. 2001. Colony structure of a slavemaking ant. I. Intracolony relatedness, worker reproduction, and polydomy. *Evolution*, **55**, 307-315.
- Frank, S. A. 1996. Policing and group cohesion when resources vary. *Animal Behaviour*, **52**, 1163-1169.
- Fresneau, J. 1994. Biologie et comportement social d'une fourmis ponerine néotropicale (*pachycondyla apicalis*). Thèse d'état es-sciences, Université Paris XIII.
- Gadagkar, R. 1994. Why the definition of eusociality is not helpful to understand its evolution and what should we do about it. *Oikos*, **70**, 485-488.

- Gobin, B., Billen, J. & Peeters, C. 2001. Dominance interaction regulate worker mating in the polygynous ponerine ant *Gnamptogenys menadensis*. *Ethology*, **107**, 495-508.
- Gobin, B., Heinze, J., Strätz, M. & Roces, F. 2003. The energetic cost of reproductive conflicts in the ant *Pachycondyla obscuricornis*. *Journal of Insect Physiology*, **49**, 747-752.
- Gobin, B. & Ito, F. 2003. Sumo wrestling in ants: major workers fight over male production in *Acanthomyrmex ferox*. *Naturwissenschaften*, **90**, 318-321.
- Gould, S. J. 1980. Is a new and general theory of evolution emerging? *Paleobiology*, **6**, 119-130.
- Greenfield, M. D. 2002. *Signalers and Receivers: Mechanisms and Evolution of Arthropod Communication*. Oxford University Press.
- Hadley, N. F. 1994. *Water Relations of Terrestrial Arthropods*. San Diego: Academic Press.
- Hamilton, W. D. 1964a. The genetical evolution of social behaviour. I. *Journal of Theoretical Biology*, **7**, 1-16.
- Hamilton, W. D. 1964b. The genetical evolution of social behaviour. II. *Journal of Theoretical Biology*, **7**, 17-52.
- Hamilton, W. D. 1975. Innate social aptitudes in man: an approach from evolutionary genetics. In: *Biosocial anthropology* (Ed. by Fox, R.), pp. 57-92. Malaby, London.
- Hammond, R. L. & Keller, L. 2004. Conflict over male parentage in social insects. *PLoS Biology*, **248**, 1-11.
- Hannonen, M., Sledge, M. F., Turillazzi, S. & Sundström, L. 2002. Queen reproduction, chemical signalling and worker behaviour in polygyne colonies of the ant *Formica fusca*. *Animal Behaviour*, **64**, 477-485.

- Hannonen, M. & Sundstrom, L. 2003. Worker nepotism among polygynous ants. *Nature*, **421**, 910.
- Hasegawa, E. 1992. Annual life cycle and timing of male egg production in the ant *Colobopsis nipponicus* (Wheeler). *Insectes Sociaux*, **39**, 439-446.
- Hasson, O. 1994. Cheating signals. *Journal of Theoretical Biology*, **167**, 223-238.
- Hefetz, A., Soroker, V., Dahbi, A., Malherbe, M. C. & Fresneau, D. 2001. The front basitarsal brush in *Pachycondyla apicalis* and its role in hydrocarbon circulation. *Chemoecology*, **11**, 17-24.
- Heinze, J., Hölldobler, B. & Alpert, G. 1999. Reproductive conflict and division of labor in *Eutetramorium mocquerysi*, a myrmicine ant without morphologically distinct female reproductives. *Ethology*, **105**, 701-717.
- Heinze, J., Hölldobler, B. & Peeters, C. 1994. Conflict and cooperation in ant societies dedicated to Ernst Mayr on the occasion of his 90th birthday. *Naturwissenschaften*, **81**, 489-497.
- Heinze, J., Lipski, N. & Hölldobler, B. 1992. Reproductive competition in colonies of the ant *Leptothorax gredleri*. *Ethology*, **90**, 265-278.
- Heinze, J. & Oberstadt, B. 1999. Worker age, size and social status in queenless colonies of the ant *Leptothorax gredleri*. *Animal Behaviour*, **58**, 751-759.
- Heinze, J., Puchinger, W. & Hölldobler, B. 1997. Worker reproduction and social hierarchies in *Leptothorax* ants. *Animal Behaviour*, **54**, 849-864.
- Heinze, J., Stengl, B. & Sledge, M. F. 2002. Worker rank, reproductive status and cuticular hydrocarbon signature in the ant, *Pachycondyla cf. inversa*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **52**, 59-65.

- Heinze, J., Trunzer, B., Oliveira, P. S. & Hölldobler, B. 1996. Regulation of reproduction in the neotropical ponerine ant, *Pachycondyla villosa*. *Journal of Insect Behavior*, **9**, 441-450.
- Helanterä, H. & Sundström, L. 2005. Worker reproduction in the ant *Formica fusca*. *Journal of Evolutionary Biology*, **18**, 162-171.
- Herbers, J. M. 1993. Ecological determinants of queen number in ants. In: *Queen number and sociality in insects* (Ed. by Keller, L.), pp. 262-293. Oxford: Oxford University Press.
- Herbers, J. M., DeHeer, C. J. & Foitzik, S. 2001. Conflict over sex allocation drives conflict over reproductive allocation in perennial social insect colonies. *American Naturalist*, **158**, 178-192.
- Hölldobler, B. & Lumsden, C. J. 1980. Territorial strategies in ants. *Science*, **210**, 732-739.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. 1977. The number of queens: an important trait in ant evolution. *Naturwissenschaften*, **64**, 8-15.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. 1983. The evolution of communal nest-weaving in ants. *American Scientist*, **71**, 490-499.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. 1990. *The ants*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Holway, D. & Case, T. 2000. Mechanisms of dispersed central-place foraging in polydomous colonies of the Argentine ant. *Animal Behaviour*, **59**, 433-441.
- Hrady, S. B. & Hausfater, G. 1984. Comparative and evolutionary perspectives on infanticide: introduction and overview. In: *Infanticide: Comparative and Evolutionary Perspectives* (Ed. by Hrady, S. B.), pp. 31-42. New-York: Aldine.
- Human, K. G. & Gordon, D. M. 1996. Exploitation and interference competition between the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*, and native ant species. *Oecologia*, **105**, 405-412.

- Ito, F. & Higashi, S. 1991. A linear dominance hierarchy regulating reproduction and polyethism of the queenless ant *Pachycondyla sublaevis*. *Naturwissenschaften*, **78**, 80-82.
- Ito, F., Higashi, S. & Maeta, Y. 1988. Growth and development of *Camponotus (Paramyrmamblys) kiusiuensis* Santschi colonies (Hymenoptera Formicidae). *Insectes Sociaux*, **35**, 251-261.
- Ito, F. & Ohkawara, K. 1994. Spermatheca size differentiation between queens and workers in primitive ants: relationship with reproductive structure of colonies. *Naturwissenschaften*, **81**, 138-140.
- Itow, T., Kobayashi, K., Kubota, M., Ogata, K., Imai, H. T. & Crozier, R. H. 1984. The reproductive cycle of the queenless ant *Pristomyrmex pungens*. *Insectes Sociaux*, **31**, 87-102.
- Jeanne, R. L. 1979. A latitudinal gradient in rates of ant predation. *Ecology*, **60**, 1211-1224.
- Johnson, R. A. 1998. Foundress survival and brood production in the desert seed-harvester ants *Pogonomyrmex rugosus* and *P. barbatus* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, **45**, 255-266.
- Johnstone, R. A. & Cant, M. A. 1999. Reproductive skew and indiscriminate infanticide. *Animal Behaviour*, **57**, 243-249.
- Kaib, M., Eisermann, B., Schoeters, E., Billen, J., Franke, S. & Francke, W. 2000. Task-related variation of postpharyngeal and cuticular hydrocarbon compositions in the ant *Myrmicaria eumenoides*. *Journal of Comparative Physiology A Sensory Neural and Behavioral Physiology*, **186**, 939-948.
- Kannowski, P. B. 1972. Review: N. A. Weber. Gardening ants, the attines. *Science*, **178**, 856.
- Karlson, P. & Butenandt, A. 1959. Pheromones (ectohormones) in insects. *Annual Review of Entomology*, **4**, 39-58.

- Keller, L. 1999. *Levels of selection in evolution*. Zurich: Princeton University Press.
- Keller, L. & Nonacs, P. 1993. The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal? *Animal Behaviour*, **45**, 787-794.
- Keller, L. & Reeve, H. K. 1994. Partitioning of reproduction in animal societies. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**, 98-102.
- Kleinfeldt, S. E. 1986. Ant-gardens: mutual exploitation. In: *Insects and the plant surface* (Ed. by Juniper, B. & Southwood, T. R. E.), pp. 283-294. London: Edward Arnold.
- Krebs, J. R. & Dawkin, R. 1984. Animal signals: mind-reading and manipulation. In: *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach* (Ed. by Krebs, J. R. and Davies, N. B.), pp. 282-309). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Lahav, S., Soroker, V., Hefetz, A. & Vander Meer, R. K. 1999. Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. *Naturwissenschaften*, **86**, 246-249.
- Lenoir, A., Fresneau, D., Errard, C. & Hefetz, A. 1999. Individuality and colonial identity in ants. In: *Information processing in social insects* (Ed. by Detrain, C., Deneubourg, J. L. & Pasteels, J.), pp. 219-237. Basel: Birkhauser Verlag.
- Lewontin, R. C. 1970. The unit of selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **1**, 1-18.
- Liebig, J., Peeters, C., Oldham, N. J., Markstädter, C. & Hölldobler, B. 2000. Are variations in cuticular hydrocarbons of queens and workers a reliable signal of fertility in the ant *Harpegnathos saltator*? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 4124-4131.
- Longino, J. T. 1986. Ants provide substrate for epiphytes. *Selbyana*, **9**, 100-103.
- Lucas, C., Pho, D. B., Fresneau, D. & Jallon, J. M. 2004. Hydrocarbon circulation and colonial signature in *Pachycondyla villosa*. *Journal of Insect Physiology*, **50**, 595-607.

- Lynch, J. F., Balinsky, E. C. & Vail, S. G. 1980. Foraging patterns in three sympatric forest ant species, *Prenolepis imparis*, *Paratrechina melanderi* and *Aphaenogaster rudis* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecological Entomology*, **5**, 353-371.
- Mabelis, A. A. 1979. Nest splitting by the red wood ant (*Formica polyctena* Foerster). *Netherlands Journal of Zoology*, **29**, 109-125.
- Madison, M. 1979. Additional observations on ant-gardens in Amazonas. *Selbyana*, **5**, 107-115.
- Maynard Smith, J. & Harper, D. 2003. *Animal Signals*. Oxford University Press.
- Maynard Smith, J. & Harper, D. G. C. 1995. Animal Signals: Models and Terminology. *Journal of Theoretical Biology*, **177**, 305-311.
- Mayr, E. 1997. The objects of selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 2091-2094.
- McGlynn, T. P., Carr, R. A., Carson, J. H. & Buma, J. 2004. Frequent nest relocation in the ant *Aphaenogaster araneoides*: resources, competition, and natural enemies. *Oikos*, **106**, 611-621.
- McIver, J. D. 1991. Dispersed central place foraging in Australian meat ants. *Insectes Sociaux*, **38**, 129-137.
- Medeiros, F. N. S., Lopes, L. E., Moutinho, P. R. S., Oliveira, P. S. & Hölldobler, B. 1992. Functional polygyny, agonistic interactions and reproductive dominance in the neotropical ant *Odontomachus chelifer* (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). *Ethology*, **91**, 134-146.
- Mercier, J. L. 1999. Territorialité et agressivité intra et interspécifique dans les mosaïques de fourmis arboricoles. *L'Année Biologique*, **38**, 149-168.
- Mercier, J. L. & Dejean, A. 1996. Ritualized behaviour during competition for food between two Formicinae. *Insectes Sociaux*, **43**, 17-29.

- 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. *Journal of Chemical Ecology*, **21**, 1127-1148.
- Michener, C. D. 1964. Reproductive efficiency in relation to colony size in hymenopterous societies. *Insectes Sociaux*, **11**, 317-341.
- Michener, C. D. & Brothers, D. J. 1974. Were workers of eusocial Hymenoptera initially altruistic or oppressed? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **71**, 671-674.
- Miller, D. G. & Ratnieks, F. L. W. 2001. The timing of worker reproduction and breakdown of policing behaviour in queenless honey bee (*Apis mellifera* L.) societies. *Insectes Sociaux*, **48**, 178-184.
- Moffett, M. W. 1986. Trap-jaw predation and other observations on two species of *Myrmoteras* (Hymenoptera: Formicidae). *Insectes Sociaux*, **33**, 85-99.
- Monnin, T., Malosse, C. & Peeters, C. 1998. Solid-phase microextraction and cuticular hydrocarbon differences related to reproductive activity in queenless ant *Dinoponera quadriceps*. *Journal of Chemical Ecology*, **24**, 473-490 [Erratum: Aug 1998, v. 24 (8), p. 1423.].
- Monnin, T. & Peeters, C. 1997. Cannibalism of subordinates' eggs in the monogynous queenless ant *Dinoponera quadriceps*. *Naturwissenschaften*, **84**, 499-502.
- Monnin, T. & Peeters, C. 1998. Monogyny and regulation of worker mating in the queenless ant *Dinoponera quadriceps*. *Animal Behaviour*, **55**, 299-306.
- Monnin, T. & Peeters, C. 1999. Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. *Behavioral Ecology*, **10**, 323-332.
- Moritz, R. F. A., Crewe, R. M. & Hepburn, H. R. 2002. Queen avoidance and mandibular gland secretion of honeybee workers (*Apis mellifera* L.). *Insectes Sociaux*, **49**, 86-91.

- Naumann, K., Winston, M. L. & Slessor, K. N. 1993. movement of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) queen mandibular pheromone in populous and unpopulous colonies. *Journal of insect behavior*, **6**, 211-223.
- Naumann, K., Winston, M. L., Slessor, K. N., Prestwich, G. D. & Latli, B. 1992. Intra-nest transmission of aromatic honeybee queen mandibular gland pheromone components: movement as a unit. *Canadian Entomologist*, **124**, 917-934.
- Naumann, K., Winston, M. L., Slessor, K. N., Prestwich, G. D. & Webster, F. X. 1991. Production and transmission of honey bee queen (*Apis mellifera* L.) mandibular gland pheromone. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **29**, 321-332.
- Nonacs, P. 1992. Male parentage and sexual deception in the social Hymenoptera. In: Evolution and Diversity of Sex Ratio in Insects and Mites. (Ed. by Wrench, D. L. & Ebbert, M. A.), pp. 384-401. New York: Chapman & Hall.
- Orivel, J. 2000. L'adaptation à la vie arboricole de la fourmi *Pachycondyla goeldii* (Hymenoptera: Ponerinae). Thèse de doctorat, Université Paris XIII.
- Orivel, J. & Dejean, A. 1999. Selection of epiphyte seeds by ant garden ants. *Ecoscience*, **6**, 51-55.
- Orivel, J. & Dejean, A. 2001. Comparative effect of the venoms of ants of the genus *Pachycondyla* (Hymenoptera: Ponerinae). *Toxicon*, **39**, 195-201.
- Orivel, J., Dejean, A. & Errard, C. 1998. Active role of two ponerine ants in the elaboration of ant gardens. *Biotropica*, **30**, 487-491.
- Orivel, J., Errard, C. & Dejean, A. 1996. La parabiose dans les jardins de fourmis. *Actes des Colloques Insectes Sociaux*, **10**, 11 -20.
- Orivel, J., Malherbe, M. C. & Dejean, A. 2001. Relationships between pretarsus morphology and arboreal life in ponerine ants of the genus *Pachycondyla* (Formicidae: Ponerinae). *Annals of the Entomological Society of America*, **94**, 449-456.

- Orivel, J., Souchal, A., Cerdan, P. & Dejean, A. 2000. Prey capture behavior of the arboreal ponerine ant *Pachycondyla goeldii* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, **35**, 131-140.
- Oster, G. F. & Wilson, E. O. 1978. *Caste and ecology in the social insects*. Princeton: Princeton University Press.
- 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.
- Pamilo, P. 1987. Population genetics of the *Formica rufa* group. In: *Chemistry and biology of social insects* (Ed. by Eder, J. & Rembold, H.), pp. 68-70. München: Verlag J. Peperny.
- Pamilo, P. 1991. Evolution of colony characteristics in social insects. II. Number of reproductive individuals. *American Naturalist*, **138**, 412-433.
- Passera, L. 1984. *L'organisation sociale des fourmis*. Toulouse: Privat Éditions.
- Passera, L., Aron, S. & Bach, D. 1995. Elimination of sexual brood in the Argentine ant *Linepithema humile*: queen effect and brood recognition. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **75**, 203-212.
- Peeters, C. 1991. Ergatoid queens and intercastes in ants: two distinct adult forms which look morphologically intermediate between workers and winged queens. *Insectes Sociaux*, **38**, 1-15.
- Peeters, C. 1997. Morphologically 'primitive' ants: comparative review of social characters, and the importance of queen-worker dimorphism. In: *The evolution of social behavior in insects and arachnids* (Ed. by Choe, J. C. & Crespi, B. J.), pp. 372-391. Cambridge: Cambridge University Press.
- Peeters, C. & Andersen, A. 1989. Cooperation between dealate queens during colony foundation in the green ant, *Oecophylla smaragdina*. *Psyche*, **96**, 39-44.

- Peeters, C. & Crewe, R. M. 1985. Worker reproduction in the ponerine ant *Ophthalmopone berthoudi*: an alternative form of eusocial organization. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **18**, 29-37.
- Peeters, C. & Ito, F. 2001. Colony dispersal and the evolution of queen morphology in social Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, **46**, 601-630.
- Peeters, C., Monnin, T. & Malosse, C. 1999. Cuticular hydrocarbons correlated with reproductive status in a queenless ant. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, **266**, 1323-1327.
- Pezon, A., Denis, D., Cerdan, P., Valenzuela, J. & Fresneau, D. 2005. Queen movement during colony emigration in the facultatively polygynous ant *Pachycondyla obscuricornis*. *Naturwissenschaften*, **92**, 35-39.
- Pfeiffer, M. & Linsenmair, K. E. 1998. Polydomy and the organization of foraging in a colony of the Malaysian giant ant *Camponotus gigas* (Hym. / Form.). *Oecologia*, **117**, 579-590.
- Queller, D. C. & Strassmann, J. E. 1998. Kin selection and social insects. *BioScience*, **48**, 165-75.
- Ratnieks, F. L. W. 1988. Reproductive harmony via mutual policing by workers in eusocial Hymenoptera. *American Naturalist*, **132**, 217-236.
- Ratnieks, F. L. W. 1995. Evidence for a queen-produced egg-marking pheromone and its use in worker policing in the honey bee. *Journal of Apicultural Research*, **34**, 31-37.
- Ratnieks, F. L. W., Foster, K. R. & Wenseleers, T. 2006. Conflict resolution in insect societies. *Annual Review of Entomology*, **51**, 581-608.
- Reeve, H. K. & Keller, L. 1999. Burying the units-of-selection debate and unearthing the crucial new issues. In: *Levels of Selection in Evolution* (Ed. by Keller, L.), pp.3-14. Princeton: Princeton University Press.

- Rissing, S. W. & Pollock, G. B. 1986. Social interaction among pleometrotic queens of *Veromessor pergandei* (Hymenoptera: Formicidae) during colony foundation. *Animal Behaviour*, **34**, 226-233.
- Rissing, S. W. & Pollock, G. B. 1987. Queen aggression, pleometrotic advantage and brood raiding in the ant *Veromessor pergandei* (Hymenoptera: Formicidae). *Animal Behaviour*, **35**, 975-981.
- Rissing, S. W. & Pollock, G. B. 1991. An experimental analysis of pleometrotic advantage in the desert seed-harvester ant *Messor pergandei* (Hymenoptera; Formicidae). *Insectes Sociaux*, **38**, 205-211.
- Rosengren, R. 1986. Competition and coexistence in an insular ant community - a manipulation experiment (Hymenoptera: Formicidae). *Annales Zoologici Fennici*, **23**, 297-302.
- Rosengren, R. & Pamilo, P. 1983. The evolution of polygyny and polydomy in mound-building Formica ants. *Acta Entomologica Fennica*, **42**, 65-77.
- Rosengren, R., Sundström, L. & Fortelius, W. 1993. Monogyny and polygyny in Formica ants: the results of alternative dispersal tactics. In: *Queen number and sociality in insects* (Ed. by Keller, L.), pp. 308-333. Oxford: Oxford University Press.
- Savolainen, R. & Vepsäläinen, K. 1988. A competition hierarchy among boreal ants: impact on resource partitioning and community structure. *Oikos*, **51**, 135-155.
- Schal, C., Sevala, V., Capurro, M. D. L., Snyder, T. E., Blomquist, G. J. & Bagnères, A. G. 2001. Tissue distribution and lipophorin transport of hydrocarbons and sex pheromones in the house fly, *Musca domestica*. *Journal of Insect Science*, **1**, 1-12.
- Schal, C., Sevala, V. L., Young, H. P. & Bachmann, J. A. S. 1998. Sites of synthesis and transport pathways of insect hydrocarbons: cuticle and ovary as target tissues. *American Zoologist*, **38**, 382-393.

- Seeley, T. D. 1979. Queen substance dispersal by messenger workers in honeybee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **5**, 391-415.
- Sherman, P. W., Lacey, E. A., Reeve, H. K. & Keller, L. 1994. The eusociality continuum. *Behavioral Ecology*, **6**, 102-108.
- Smallwood, J. 1982. Nest relocations in ants. *Insectes Sociaux*, **29**, 138-147.
- Snyder, L. E. & Herbers, J. M. 1991. Polydomy and sexual allocation ratios in the ant *Myrmica punctiventris*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **28**, 409-415.
- Soroker, V., Fresneau, D. & Hefetz, A. 1998. Formation of colony odor in ponerine ant *Pachycondyla apicalis*. *Journal of Chemical Ecology*, **24**, 1077-1090.
- Soroker, V. & Hefetz, A. 2000. Hydrocarbon site of synthesis and circulation in the desert ant *Cataglyphis niger*. *Journal of Insect Physiology*, **46**, 1097-1102.
- Soroker, V., Lucas, C., Simon, T., Hefetz, A., Fresneau, D. & Durand, J. L. 2003. Hydrocarbon distribution and colony odour homogenisation in *Pachycondyla apicalis*. *Insectes Sociaux*, **50**, 212-217.
- 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.
- Strassmann, J. E. 2001. The rarity of multiple mating by females in the social Hymenoptera. *Insectes sociaux*, **48**, 1-13.
- Stuart, R. J. 1988. Collective cues as a basis for nestmate recognition in polygynous leptothoracine ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **85**, 4572-4575.
- Tay, W. T. & Crozier, R. H. 2000. Nestmate interactions and egg-laying behavior in the queenless ponerine ant *Rhytidoponera sp. 12*. *Insectes Sociaux*, **47**, 133-140.

- Thomas, M. L., Parry, L. J., Allan, R. A. & Elgar, M. A. 1999. Geographic affinity, cuticular hydrocarbons and colony recognition in the Australian meat ant *Iridomyrmex purpureus*. *Naturwissenschaften*, **86**, 87-92.
- Traniello, J. F. A. & Levings, S. C. 1986. Intra and intercolony patterns of nest dispersion in the ant *Lasius neoniger*: correlations with territoriality and foraging ecology. *Oecologia*, **69**, 413-419.
- Trivers, R. L. & Hare, H. 1976. Haplodipoidy and the evolution of the social insects. *Science*, **191**, 249-263.
- Trunzer, B., Heinze, J. & Hölldobler, B. 1999. Social status and reproductive success in queenless ant colonies. *Behaviour*, **136**, 1093-1105.
- Tschinkel, W. R. 1998. An experimental study of pleometrotic colony founding in the fire ant, *Solenopsis invicta*: what is the basis for association? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **43**, 247-257.
- Tsuji, K. 1990. Kin recognition in *Pristomyrmex pungens* (Hymenoptera: Formicidae): asymmetrical change in acceptance and rejection due to odour transfer. *Animal Behaviour*, **40**, 306-312.
- Tsuji, K., Egashira, K. & Holldobler, B. 1999. Regulation of worker reproduction by direct physical contact in the ant *Diacamma sp.* *Animal Behaviour*, **58**, 1329-1329.
- Van Walsum, E., Gobin, B., Ito, F. & Billen, J. 1998. Worker reproduction in the ponerine ant *Odontomachus simillimus* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, **32**, 427-440.
- 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: Westview Press.
- Vepsäläinen, K. & Savolainen, R. 1990. The effect of interference by formicine ants on the foraging of *Myrmica*. *Journal of Animal Ecology*, **59**, 643-654.

- Verhaagh, M. 1994. *Pachycondyla luteola* (Hymenoptera, Formicidae) an inhabitant of Cecropia trees in Peru. *Andrias*, **13**, 215-224.
- Wade, M. J. 1978. A critical review of the models of group selection. *Quarterly Review of Biology*, **53**, 101-114.
- Wade, M. J. 1982. evolution of interference competition by individual, family, and group selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **79**.
- Wagner, D., Tissot, M., Cuevas, W. & Gordon, D. M. 2000. Harvester ants utilize cuticular hydrocarbons in nestmate recognition. *Journal of Chemical Ecology*, **26**, 2245-2257.
- Walín, L., Seppä, P. & Sundström, L. 2001. Reproductive allocation within a polygyne, polydomous colony of the ant *Myrmica rubra*. *Ecological Entomology*, **26**, 537-546.
- Watmough, J., Winston, M. L. & Slessor, K. N. 1998. Distinguishing the effects of dilution and restricted movement on the intra-nest transmission of honey-bee queen pheromones. *Bulletin of Mathematical Biology*, **60**, 307-327.
- Weber, N. A. 1972. The Attines: The fungus-culturing ants. *American Scientist*, **60**, 448-456.
- Wenseleers, T., Helanterä, H., Hart, A. & Ratnieks, F. L. W. 2004. Worker reproduction and policing in insect societies: an ESS analysis. *Journal of Evolutionary Biology*, **17**, 1035-1047.
- West-Eberhard, M. J. 1969. The social biology of polistine wasps. *Miscellaneous Publications. Museum of Zoology, University of Michigan*, **140**, 1-101.
- Wheeler, J. & Rissing, S. W. 1975. Natural history of *Veromessor pergandei*. I. The nest (Hymenoptera: Formicidae). *Pan-Pacific Entomologist*, **51**, 205-216.
- Wheeler, W. M. 1936. Ecological relations of ponerine and other ants to termites. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*, **71**, 159-243.

- Williams, G. C. 1966. *Adaptation and natural selection: a critique of some current evolutionary thoughts*. New Jersey: Princeton University Press.
- Wilson, D. S. 1975. A general theory of group selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **72**, 143-146.
- Wilson, D. S. 1980. *The Natural Selection of populations and Communities*. Menlo Park, CA: Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.
- Wilson, D. S. 1997a. Altruism and organism: disentangling the themes of multilevel selection theory. *The American Naturalist*, **150**, 122-134.
- Wilson, D. S. 1997b. biological communities as functionally organized units. *Ecology*, **78**, 2153–2163.
- Wilson, D. S. 1997c. Introduction: multilevel selection theory comes of age. *The American Naturalist*, **150**, S1-S4.
- Wilson, E. O. 1959. Some ecological characteristics of ants in New Guinea rain forests. *Ecology*, **40**, 437-447.
- Wilson, E. O. 1971. *The insect societies*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Wilson, E. O. 1974. Aversive behavior and competition within colonies of the ant *Leptothorax curvispinosus*. *Annals of the Entomological Society of America*, **67**, 777-780.
- Wilson, E. O. & Holldobler, B. 2005. The rise of the ants: A phylogenetic and ecological explanation. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, **102**, 7411-7414.
- Wynne-Edwards, V. C. 1962. *Animal dispersion in relation to social behaviour*. Edinburgh: Oliver and Boyd.

Wynne-Edwards, V. C. 1993. a rationale for group selection. *Journal of Theoretical Biology*, **162**, 1-22.

Yamaguchi, T. 1992. Interspecific interference for nest sites between *Leptothorax congruus* and *Monomorium intrudens*. *Insectes Sociaux*, **39**, 117-127.

Yamauchi, K., Kimura, Y., Corbara, B., Kinomura, K. & Tsuji, K. 1996. Dimorphic ergatoid males and their reproductive behavior in the ponerine ant *Hypoponera bondroiti*. *Insectes Sociaux*, **43**, 119-130.

Yamauchi, K., Oguchi, S., Nakamura, Y., Suetake, H., Kawada, N. & Kinomura, K. 2001. Mating behavior of dimorphic reproductives of the ponerine ant, *Hypoponera nubatama*. *Insectes Sociaux*, **48**, 83-87.

Résumé :

Le but de cette thèse a été de définir les causes et les conséquences de la structure monogyne polydomique de la fourmi Ponerine *Pachycondyla goeldii*. Cette étude est composée de trois chapitres :

Le premier chapitre fournit les preuves de l'existence de la polydomie (i.e. colonie composée de plusieurs nids) chez cette fourmi monogyne. À notre connaissance, *P. goeldii* est la première Ponerine connue présentant en même temps ces deux caractéristiques. Nous discutons de la rareté d'une telle structure coloniale chez les fourmis en général, et de son association plus commune avec une stratégie de reproduction polygyne que monogyne. Nos études de terrain et de laboratoire suggèrent que la polydomie est adaptativement avantageuse au regard de l'instabilité microclimatique des zones pionnières. Elle assurerait en effet la réussite de déménagements dans les différents nids de la colonie.

Dans le second chapitre, nous avons étudié l'impact de la polydomie sur l'investissement reproductif entre les nids. Nos résultats de laboratoire et de terrain montrent à la fois (i) un développement ovarien conséquent chez les ouvrières et (ii) une mise en place de hiérarchies entre ouvrières dans les calies sans reine. Nous proposons donc que les ouvrières se reproduisent dans les calies sans reine des colonies polydomiques. De plus, d'autres résultats de terrain suggèrent que les œufs de la reine se développent préférentiellement en ouvrières dans les calies avec reine et en femelles dans les calies sans reine. Nous discutons de ces résultats au regard des différents conflits existants au sein de ces colonies : le conflit ouvrière/ouvrière pour la production des mâles ; le conflit reine/ouvrière pour la production des mâles et le conflit reine/ouvrière pour l'investissement dans la reproduction.

Dans le dernier chapitre, nous étudions les mécanismes proximaux qui pourraient résulter de tels conflits. Nous montrons ainsi qu'un même complexe d'hydrocarbures cuticulaires pourrait à la fois indiquer l'appartenance coloniale et la fertilité des ouvrières. Nous avons aussi observé que les ouvrières de *P. goeldii* cannibalisent les œufs en fonction de leur âge. Ce mécanisme semble lié à la régulation du couvain ainsi qu'au conflit ouvrière/ouvrière pour la production des mâles. Il pourrait faire intervenir une molécule présente sur les œufs jeunes et qui disparaîtrait au cours de leur maturation.

Summary :

The aim of his thesis is to define the reasons for and consequences of the monogynous and polydomous structure of the ponerinae *Pachycondyla goeldii*. This study consists of three chapters.

The first chapter provides evidence of polydomy (i.e. multiple nests per colony) in this monogynous ant and discusses the rarity of such colony structure in ants. The association of polydomy with monogyny has indeed rarely been reported. To our knowledge, *P. goeldii* represents the first record of a Ponerinae exhibiting both these particular characteristics. Our field and laboratory experiments suggest that polydomy is adaptively advantageous in coping with the microclimatic instability of pioneer areas by providing colonies with easily accessible nests.

In the second chapter, we studied the differences in reproductive investment between calies. We postulate that in *P. goeldii* worker reproduction takes place in queenless calies of polydomous colonies because our laboratory and field studies show (i) a more important ovarian activation and (ii) a hierarchy set-up in these queenless calies. Moreover, other field results suggest that queen-laid eggs more frequently develop into workers in queenright nests and into gynes in queenless nest. We discuss these results with regards to worker/worker conflict over male parentage as well as queen/worker conflicts over male parentage and sexual allocation.

In the last chapter we studied the proximal mechanisms that could be involved in those conflicts, namely the chemical compounds that could convey information on the reproductive status of workers and those responsible for egg cannibalism in orphaned colonies. We therefore show that the same cuticular hydrocarbon complex can both signal colony signatures and the fertility of workers. We also observed that workers can assess the age of the eggs to choose whether to destroy them or not. This mechanism seems to be linked with brood regulation and worker/worker conflict over male parentage, it could involve a compound present on young eggs which disappears later.