

SEX-RATIO PRIMAIRE ET SEX-RATIO OPERATIONNELLE CHEZ LA FOURMI D'ARGENTINE

Serge ARON & Luc PASSERA

*Centre de Recherche en Biologie du Comportement (URA CNRS 664)
Université Paul-Sabatier, F - 31062 Toulouse Cedex (France)*

Résumé: L'analyse de l'évolution de la sex-ratio primaire (rapport oeufs haploïdes:oeufs diploïdes à la ponte) et de la sex-ratio opérationnelle (rapport nymphes mâles:nymphes femelles) en fonction du cycle biologique annuel chez *I. humilis* indique que les reines pondent de manière différentielle au cours du temps. Alors que la sex-ratio primaire est proche de 1:1 à la sortie d'hivernation, elle chute rapidement pour atteindre 1:2 à 1:3 au printemps et en été. Des résultats obtenus en laboratoire confirment l'influence déterminante exercée par la température sur la sex-ratio primaire. Cette dernière semble par contre ne pas dépendre de l'âge des reines (jeunes et fraîchement fécondées, ou âgées de plusieurs mois). La sex-ratio opérationnelle présente une évolution similaire à la sex-ratio primaire quoiqu'elle soit sensiblement décalée dans le temps. La période d'élevage des nymphes mâles couvre largement celle des nymphes royales, et des nymphes mâles sont présentes en dehors de la période de reproduction. Cependant, alors que des oeufs haploïdes sont pondus pendant toute l'année (nous ne possédons aucune information relative à la sex-ratio primaire en automne), les nymphes mâles disparaissent en été. Ceci traduit clairement un contrôle de la sex-ratio opérationnelle par les ouvrières. Nous pouvons nous attendre à ce que la sex-ratio à l'état adulte chez *I. humilis* soit le produit d'un double contrôle établi à la ponte et à l'état larvaire, respectivement en fonction des saisons et de la composition des sociétés.

Mots-clés: *Iridomyrmex*, fourmi d'Argentine, sex-ratio.

Abstract: Primary and operational sex-ratios in the Argentine ant

Analysis of the evolution of both primary sex-ratio (ratio haploid eggs:diploid eggs laid by queens) and operational sex-ratio (ratio male pupae:female pupae) show that the production of both sexes varies according to the annual biological cycle in the Argentine ant. Whereas the primary sex-ratio is close to 1:1 at the end of winter, it rapidly decreases to 1:2 or 1:3 in spring and summer. Laboratory experiments confirm that temperature greatly influences the primary sex-ratio. The latter seems however independent of the queens'age (young, recently fertilized queens, or queens aged several months). The operational sex-ratio varies during the year similarly as the primary ratio, but is delayed in time. Male pupae are produced during a longer period than queen pupae, and they are present even after the mating period. Nevertheless, whereas haploid eggs are laid all along the year (no information about sex-ratio in autumn are yet available), field experiments indicate that male pupae are completely lacking in summer. This clearly shows that the operational sex-ratio is under control of workers. It leads us to hypothesize that the control of sex-ratio in the Argentine ant is exerted both during egg-laying and larval growth, respectively according to the seasons and the social structure of the colonies.

Key words: *Iridomyrmex*, Argentine ant, sex-ratio.

INTRODUCTION

L'haplodiploïdie constitue un facteur fondamental ayant favorisé l'évolution du comportement social chez les hyménoptères (HAMILTON, 1964; 1967; WILSON, 1975; TRIVERS et HARE, 1976; mais voir également ALEXANDER et SHERMAN, 1977; Anderson, 1984). Un tel mécanisme de détermination sexuelle, par lequel les femelles sont diploïdes et issues d'oeufs fertilisés, et les mâles sont haploïdes et issus d'oeufs non fécondés (par parthénogenèse arrhénotoque), entraîne des asymétries quant aux parentés génétiques entre les membres de la colonie. Conformément à la théorie de la sélection de parentèle (*kin selection*), de telles asymétries auraient conduit les ouvrières à favoriser la descendance de leurs parents aux dépens de leur propre descendance afin de maximiser leur succès reproductif (*inclusive fitness*). Paradoxalement, de telles asymétries et la recherche d'un meilleur succès reproductif génèrent également des conflits d'intérêt entre reines et ouvrières d'une même société quant à l'origine et à la sex-ratio de la descendance sexuée (TRIVERS et HARE, 1976; PAMILO, 1991). Ces conflits s'expriment en termes de production et d'investissement à accorder à chacun des deux sexes mâles et femelles, et se manifestent lors de deux épisodes particuliers du cycle: celui qui conduit à l'élevage des individus reproducteurs jusqu'à une sex-ratio avantageuse, et celui qui conduit à élever au sein du sexe femelle tel ou tel des deux phénotypes reines et ouvrières. Afin de maximiser leur succès reproductif, les reines tendraient à monopoliser la production des deux sexes, et à en favoriser une proportion identique. Les ouvrières, pour leur part, peuvent maximiser leur succès reproductif soit en assurant la production du couvain mâle (par remplacement du couvain mâle issu des reines par leur propre ponte), soit en biaisant le rapport des sexes produit par les reines vers le sexe femelle, en éliminant les mâles à diverses étapes de leur ontogenèse. Chez certaines espèces de fourmis, les ouvrières ne pondent cependant pas d'oeufs reproducteurs. Elles ne peuvent donc influencer la sex-ratio que par le strict contrôle du couvain produit par les reines. Ce contrôle est possible dans la mesure où les ouvrières soignent et nourrissent le couvain, ce qui leur permet d'influencer non-seulement le rapport des sexes mâles:femelles par destruction de l'un ou l'autre sexe, mais également le rapport des castes reines:ouvrières au sein de la descendance diploïde. La part des ouvrières dans le contrôle de la croissance de la colonie, et donc dans l'établissement d'une sex-ratio déterminée, est évaluée avec d'autant plus de précision que l'on peut estimer la proportion de chacun des deux sexes produits par la (ou les) reine(s). En d'autres termes, quoique les ouvrières aient la possibilité de favoriser la proportion d'un sexe par rapport à l'autre, leur "marge de manoeuvre" reste directement dépendante du couvain initialement pondu par les reines. De manière surprenante, en dépit de son importance théorique et de ses conséquences sur le plan biologique, la proportion d'oeufs haploïdes (mâles) et d'oeufs diploïdes (femelles) produits par les reines n'a à ce jour jamais été étudiée d'un point de vue expérimental chez les insectes sociaux.

Le travail proposé s'inscrit dans une étude globale consacrée aux stratégies de la reproduction chez la fourmi d'Argentine *Iridomyrmex humilis* (Mayr) (KELLER, 1988; PASSERA et coll., 1988a, b; VARGO et PASSERA, 1991, 1992; KELLER et PASSERA, 1992; PASSERA et KELLER, 1992; BACH et coll., ce volume). Il a pour objectif de clarifier certains des mécanismes biologiques et comportementaux impliqués dans l'établissement de la sex-ratio chez cette espèce, ceci par une analyse de l'évolution de la sex-ratio primaire (rapport oeufs haploïdes:oeufs diploïdes à la ponte) et de la sex-ratio opérationnelle (rapport nymphes mâles:nymphes femelles) en fonction du cycle biologique annuel. La fourmi d'Argentine semble être un matériel intéressant pour une telle étude. Cette espèce constitue des sociétés unicoloniales extrêmement peuplées de plusieurs millions d'individus, polygynes, et polycaliques. L'accouplement est intranidal; seuls les mâles essaient, assurant la fertilisation des femelles dans des nids adjacents (MARKIN, 1970; PASSERA et KELLER, 1990). De telles caractéristiques biologiques conduisent à un coefficient de parenté entre reines et ouvrières d'un même nid proche de zéro (KAUFMANN et coll., 1992). Les ouvrières ne produisent pas d'oeufs

reproducteurs, les oeufs haploïdes sont donc exclusivement pondus par les reines. Par ailleurs, KELLER et coll. (1989b) ont montré l'existence d'un "régicide" au cours duquel plus de 90% des reines sont éliminées au début de la période de reproduction (mai-juin), et remplacées par de jeunes femelles. Les reines d' *I. humilis* ont donc une durée de vie relativement brève, de l'ordre de 1 an. Il est dès lors aisé de suivre l'évolution de la sex-ratio primaire en fonction de l'âge des reines chez cette espèce.

MATERIEL ET METHODES

Sex-ratio primaire (rapport oeufs haploïdes:oeufs diploïdes à la ponte)

Trois à cinq colonies de ponte, chacune constituée de 25 reines et 600 ouvrières, sont réalisées à partir d'individus fraîchement prélevés en nature (Port-Leucate, France) à différentes périodes de l'année. Nous sommes assurés que toutes les reines récoltées dans nos échantillons sont fécondées: les reines vierges sont généralement tuées ou gardent leurs ailes tant qu'elles ne sont pas fécondées (KELLER et PASSERA, 1992). Les colonies de ponte sont nourries *ad libitum* d'une solution de saccharose (0,5 M), ainsi que d'un complexe alimentaire (KELLER et coll., 1989a) et de grillons tous les deux jours. La méthode utilisée repose sur la technique de *squash* d'oeufs (GABE, 1968; VAN DIJKEN, 1991). Des oeufs d'âge déterminé (environ 96 heures à 25°C) sont isolés dans une goutte de solution d'orcéine acéto-lactique (L.A.O. 2%) assurant la coloration des chromosomes. Les préparations sont alors écrasées sous forte pression afin d'obtenir une monocouche cellulaire. Après 24 heures, elles sont observées à fort grossissement en microscopie optique à immersion d'huile, et les chromosomes sont comptés afin d'établir le rapport des oeufs haploïdes et diploïdes à la ponte ($n=8$ chez les mâles, $2n=16$ chez les femelles - CROZIER, 1968). Dans tous les cas, la détermination du sexe d'un oeuf repose sur l'observation de plusieurs noyaux d'une même préparation.

Afin de cerner l'influence de la température sur la sex-ratio primaire, des colonies de ponte (25 reines matures et 600 ouvrières) sont constituées à partir d'un stock contenant un pool de 150 reines élevées en laboratoire depuis plusieurs mois. La proportion d'oeufs haploïdes et diploïdes pondus par les reines est observée après que les colonies aient été successivement maintenues plus de 3 semaines à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $18 \pm 2^\circ\text{C}$, $12 \pm 2^\circ\text{C}$, et retour à $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Sex-ratio opérationnelle (rapport mâles:femelles à l'état nymphal)

Simultanément à notre analyse relative à la sex-ratio primaire, nous avons tenté de suivre l'évolution de la sex-ratio opérationnelle au cours du cycle annuel de l'espèce. Pour chaque période étudiée, 10 échantillons de couvain et d'ouvrières sont récoltés au hasard à partir d'une vingtaine de nids répartis sur une aire de plusieurs hectares, et appartenant à une même population. De chaque échantillon, nous avons isolé 10 sous-échantillons d'environ 100 nymphes afin de mesurer la proportion d'entre-elles appartenant aux castes ouvrières, mâles et femelles. Néanmoins, en période de faible production nymphale, la proportion de chaque caste fut calculée sur l'ensemble de l'échantillon récolté.

RESULTATS

Sex-ratio primaire

Les résultats présentés à la figure 1.a montrent l'existence d'une modification de la sex-ratio primaire en fonction de la saison. Alors que les reines semblent pondre une proportion identique d'oeufs de chaque sexe à la sortie de l'hiver (47% mâles, 53% femelles), le nombre d'oeufs haploïdes produit décroît au cours du temps, et la sex-ratio au printemps atteint un rapport proche de 1:2 (haploïdes:diploïdes). Elle semble alors se

stabiliser en faveur du sexe femelle (la proportion d'oeufs haploïdes oscillant autour de 30%) pour ne présenter que de très légères modifications au printemps et en été, lorsque les reines sont en pleine saison de ponte. Nous ne possédons encore aucune information quant à l'évolution de la sex-ratio en automne et à l'entrée en hibernation (octobre - novembre).

Lors des premières observations de terrain, réalisées à la date du 7 mai 1992, nous avons trouvé de grandes quantités de couvain à l'état d'oeufs et de larves de premiers stades, mais un nombre très limité de pré-nymphes et de nymphes ($n=149$; figure 2.b). Par ailleurs, lors de cette récolte nous n'avons observé que très peu de reines. Il est probable qu'à cette époque de l'année la production du couvain sexué n'est que fraîchement initiée, et que le régicide annuel a déjà eu lieu. Les oeufs seraient alors pondus par des reines ayant échappé au régicide, et âgées d'au moins 1 an. A l'inverse, en juin les nymphes femelles sont rares; seules subsistent encore quelques femelles ailées. La production des reines est sans doute terminée et il est donc très probable que les reines désaillées récoltées sur le terrain sont jeunes et fraîchement fécondées. Compte tenu que seules 10% des reines âgées échappent au régicide, on peut estimer que les oeufs pondus proviennent en grande majorité de jeunes reines fraîchement fécondées. En d'autres termes, il est probable que les oeufs pondus avant juin sont issus de reines âgées de plusieurs mois, alors qu'ils sont ensuite le produit de jeunes femelles. Par conséquent, la stabilité du nombre d'oeufs haploïdes et diploïdes produits dès le mois d'avril suggère que la sex-ratio primaire ne varie pas en fonction de l'âge des reines chez *I. humilis*.

Les expériences réalisées en laboratoire confirment les résultats obtenus à partir d'animaux prélevés sur le terrain à différentes périodes de l'année (figure 1.b). Lorsque des reines élevées en laboratoire depuis plusieurs mois sont successivement maintenues à une température de 25°C et de 18°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) pendant 3 semaines, elles produisent une sex-ratio primaire qui varie entre 1:2 et 1:3 (haploïdes:diploïdes). La sex-ratio apparaît cependant fort différente après que ces mêmes reines aient été soumises à une période d'hibernation artificielle à $12 \pm 2^\circ\text{C}$. Dans cette situation, les reines pondent une plus grande proportion d'oeufs haploïdes, et la sex-ratio atteint des valeurs de 1 mâle pour 0.7 femelle. Ce rapport chute et retrouve sa valeur initiale lorsque les reines sont replacées à 25°C pendant 3 semaines. Il est intéressant de constater qu'à sa sortie d'hibernation, la colonie contient encore 144 reines sur les 150 femelles initiales. Les reines semblent donc relativement bien supporter de basses températures en laboratoire. De plus, il apparaît une phase de latence: il s'écoule environ 7 jours après la sortie d'hibernation avant le dépôt des premiers oeufs.

Ces résultats mettent clairement en évidence que chez la fourmi d'Argentine la sex-ratio primaire à la sortie d'hibernation est proche de 1:1, et que la température joue un rôle déterminant sur l'obtention d'un tel rapport. La sex-ratio primaire tend ensuite à se stabiliser à un rapport de 1 oeuf haploïde pour 2-3 oeufs diploïdes au printemps et en été. Des oeufs haploïdes sont donc pondus pendant une grande partie de l'année par les reines.

Sex-ratio opérationnelle

Parmi les premières nymphes apparaissant sur le terrain début mai (figure 2.a), on observe une sex-ratio de 1 mâle pour 1,6 femelles (reines + ouvrières). Ce rapport tend à s'accroître au cours du temps pour atteindre début juin une valeur proche de 1:1,2, les mâles représentant alors une proportion de 45% des nymphes produites. Bien que des nymphes mâles soient présentes jusqu'en juillet, le rapport des deux sexes est rapidement biaisé en faveur du sexe femelle. Cette chute du rapport mâles:femelles présente plusieurs origines: primo, elle correspond à la décroissance du nombre d'oeufs haploïdes pondus par les reines après la sortie d'hibernation (figure 1.a); secundo, bien que des oeufs haploïdes sont pondus pendant toute l'année, il apparaît une interruption de l'élevage des nymphes mâles, lesquelles sont de plus en plus rares sur le terrain (comparer figure 1.a et 2.a, par exemple à la date du 14 juillet); tertio, il semble qu'après la période de

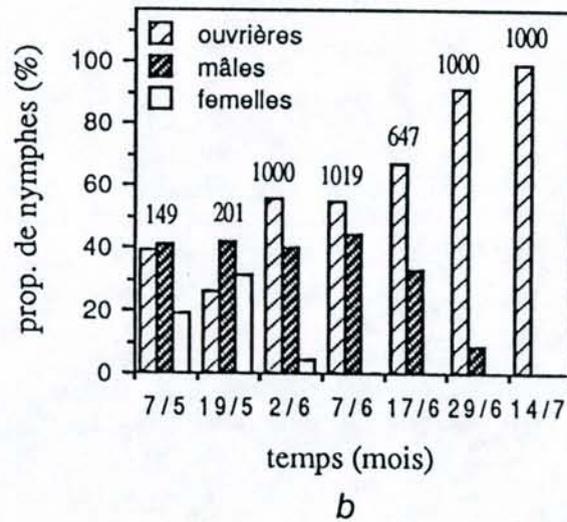
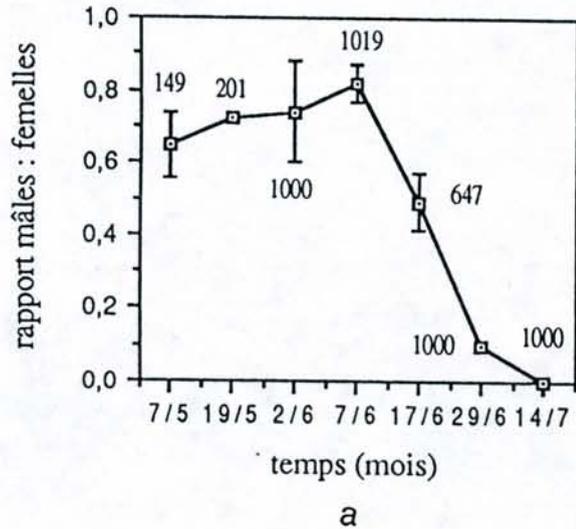
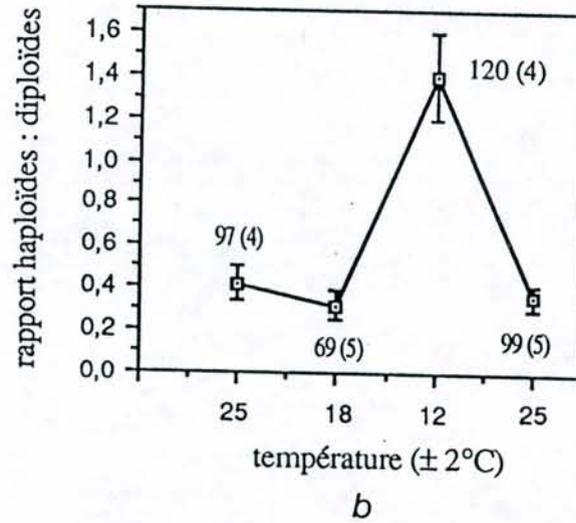
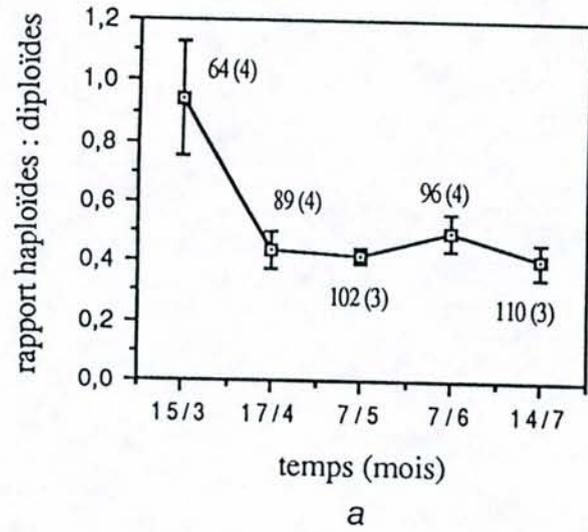


Figure 1. Sex-ratio primaire (rapport oeufs haploïdes:oeufs diploïdes). **1.a.** Evolution annuelle ($x \pm e.s.$) de la sex-ratio calculée à partir d'oeufs issus de reines récoltées sur le terrain. **1.b.** Variation de la sex-ratio ($x \pm e.s.$) en fonction de la température (voir méthodes). Le nombre total d'oeufs observés et le nombre de colonies dont ils sont issus (entre parenthèses) sont indiqués dans chaque condition.

Primary sex-ratio (haploid eggs:diploid eggs). **1.a.** Annual evolution ($x \pm e.s.$) of the sex-ratio reported for eggs produced by freshly collected queens. **1.b.** Evolution of the sex-ratio in function of the temperature at which colonies are reared (see methods). The total number of eggs and the number of colonies from which they are collected (brackets) are reported for each condition.

Figure 2. Sex-ratio opérationnelle (rapport nymphes mâles:nymphes femelles). **2.a.** Evolution annuelle ($x \pm e.s.$) de la sex-ratio calculée à partir de nymphes récoltées sur le terrain. **2.b.** Evolution annuelle de la proportion de nymphes de chaque caste. Le nombre total de nymphes observées est indiqué pour chaque période de l'année.

Operational sex-ratio (male pupae:female pupae). **2.a.** Annual evolution ($x \pm e.s.$) of the sex ratio reported for pupae collected in the field. **2.b.** Annual evolution of the proportion of pupae of each caste. The total number of pupae is reported for each period of the year.

reproduction l'élevage des nymphes sexuées soit progressivement remplacé par l'élevage massif de nymphes ouvrières (figure 2.b).

Par ailleurs, comme l'indique la figure 2.b, l'élevage de nymphes royales est limité dans le temps, et se concentre principalement en mai. Non seulement il débute plus tard, mais se termine également plus tôt que l'élevage des nymphes mâles. La production des nymphes n'est donc pas synchrone dans les deux sexes.

DISCUSSION

Le contrôle de la sex-ratio primaire par les reines d'*Iridomyrmex humilis* présente deux caractéristiques intéressantes. D'une part, les reines pondent des oeufs haploïdes pendant toute l'année, ceci indépendamment de la période de reproduction. D'autre part, les reines pondent de manière différentielle au cours du temps. La ponte est proche de 1:1 à la sortie d'hibernation; comme l'indiquent les expériences réalisées en laboratoire, la température semble être un facteur déterminant influençant une telle sex-ratio primaire. Ce processus est intéressant dans la mesure où cette ponte de sortie d'hibernation qui est le fait des vieilles reines est à l'origine d'une partie des futurs sexués. Après la période des accouplements, la proportion d'oeufs haploïdes pondus par les jeunes reines décroît et conduit à une asymétrie entre les sexes stable pendant une grande partie de la période de reproduction; la ponte est alors biaisée en faveur du sexe femelle selon un rapport de l'ordre de 1:2 à 1:3 (oeufs haploïdes:oeufs diploïdes). La stabilité de ce rapport au printemps et en été indique que la sex-ratio primaire varie peu - ou pas - en fonction de l'âge des reines (fraîchement fécondées, ou âgées de plusieurs mois), lequel n'est à considérer que sur 1 an compte tenu du "régicide" exercé par les ouvrières (KELLER et coll., 1989a). Afin de compléter notre étude relative à la sex-ratio primaire, divers moments clefs du cycle annuel restent encore à analyser, parmi lesquels la ponte en automne et lors de la phase d'entrée en hibernation.

Nos résultats montrent que l'élevage de nymphes royales chez la fourmi d'Argentine est relativement limité dans le temps, et est concentré au mois de mai, alors que la présence des nymphes mâles couvre une période beaucoup plus importante. De plus, les nymphes mâles sont présentes en plus grand nombre pendant toute la période de production de nymphes royales. La sex-ratio nymphale est manifestement biaisée en faveur du sexe mâle à l'échelle de la population. Ceci correspond aux résultats rapportés par MARKIN (1970) sur la même espèce, et obtenus à partir d'un rapport de poids entre chaque caste. Nos résultats sont également en accord avec les prédictions théoriques de TRIVERS et HARE (1976), PAMILO (1990, 1991) et PAMILO et ROSENGREN (1983), selon lesquelles chez les espèces de fourmis constituant des sociétés polydomiques très peuplées, se multipliant par bourgeonnement et recrutant leurs propres filles en tant que reproductrices, comme c'est le cas chez la fourmi d'Argentine, on doit s'attendre à ce que la sex-ratio et la proportion des ressources investies soient toutes deux biaisées en faveur du sexe mâle. Il est intéressant de constater que des nymphes mâles sont encore élevées pendant une période relativement longue en dehors de la période d'accouplement (la production de nymphes royales étant interrompue), ce qui doit représenter une perte importante quant à l'investissement énergétique nécessaire à leur élevage. Nous ne possédons actuellement aucune interprétation cohérente justifiant un tel phénomène.

La comparaison de la sex-ratio primaire et de la sex-ratio opérationnelle est le reflet de la contribution des ouvrières dans l'établissement de la structure des sociétés: une différence importante traduit une forte manipulation du couvain par les ouvrières (pour autant, bien sûr, que tous les oeufs pondus aient la même viabilité (VARGO et ROSS, 1989). Chez *I. humilis*, alors que des oeufs haploïdes sont pondus pendant toute l'année (au moins jusqu'en automne), les nymphes mâles disparaissent au début de l'été. Ceci traduit un contrôle de la sex-ratio opérationnelle par les ouvrières, lesquelles éliminent les mâles à divers stades de leur ontogenèse que nous ne connaissons pas précisément. Un phénomène comparable dans ses effets est également observé à l'égard du couvain sexué

femelle, lequel est détruit à l'état larvaire en présence de reines matures alors que les larves et les nymphes mâles sont dans le même temps épargnées (VARGO et PASSERA, 1991; BACH et coll., 1993). La capacité qu'ont les ouvrières d'*I. humilis* de discriminer entre le sexe, la caste et l'âge des larves a des implications importantes dans le conflit d'intérêt qui les oppose aux reines, dans la mesure où elle leur permet d'échapper aux conséquences de la théorie de la "déception sexuelle" (NONACS et CARLIN, 1990), et peuvent biaiser très tôt la sex-ratio à leur avantage. Nous ne possédons actuellement aucune information relative au temps moyen nécessaire au développement de chaque caste, et ne pouvons donc établir la proportion d'individus élevés à partir des oeufs pondus par les reines. En d'autres termes, nous ne connaissons pas la proportion d'oeufs haploïdes et d'oeufs diploïdes qui atteignent le stade nymphal et, parmi le sexe femelle, la proportion d'oeufs à devenir royal. Par conséquent, nous ne sommes pas en mesure de quantifier avec précision la contribution des ouvrières dans l'établissement de la sex-ratio finale. Néanmoins, l'ensemble des résultats obtenus à ce jour sur les stratégies reproductrices chez la fourmi d'Argentine suggèrent fortement que la sex-ratio à l'état adulte chez cette espèce est le produit d'un double contrôle établi à la ponte et à l'état larvaire, respectivement en fonction des saisons et de la composition des sociétés.

Quoique très préliminaire, ce travail soulève un certain nombre de questions concernant les mécanismes biologiques impliqués dans l'établissement de la sex-ratio primaire, ceux réglant l'élaboration de la sex-ratio opérationnelle et leurs conséquences d'un point de vue évolutif. Par exemple comment varie la sex-ratio primaire à l'échelle individuelle? La ponte est-elle un processus markovien, et si oui, de quel ordre? Ou encore, quels sont les mécanismes physiologiques responsable de la fertilisation ou de la non fertilisation des oeufs? Autant de questions auxquelles il conviendra de répondre afin de cerner au mieux les différents paramètres à l'origine de la sex-ratio chez la fourmi d'Argentine, et chez les hyménoptères sociaux en général.

REFERENCES

- ALEXANDER, R.D. and P.W. SHERMAN, 1977. Local mate competition and parental investment in social insects. *Science*. 196: 494-500.
- ANDERSON, M., 1984. The evolution of eusociality. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 15: 165-189.
- BACH, D., L. PASSERA and S. ARON, 1993. Le rôle des reines dans l'agression du couvain sexué par les ouvrières de la fourmi d'Argentine *Iridomyrmex humilis*. *Actes Coll. Insectes Sociaux*. 8 (in press).
- CROZIER, R.H., 1968. Cytotaxonomic studies on some Australian Dolichoderine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Caryologia*. 21: 241-259.
- VAN DIJKEN, M.J., 1991. A cytological method to determine primary sex ratio in the solitary parasitoid *Epidinocarsis lopezi*. *Entomol. exp. appl.* 60: 301-304.
- GABE, M., 1968. *Techniques Histologiques*. Masson, Paris, 1113 pp.
- HAMILTON, W. D., 1964. The genetical evolution of social behavior. I & II. *J. Theor. Biol.* 7: 1-52.
- HAMILTON, W.D., 1967. Extraordinary sex ratios. *Science*. 156: 477-488.
- KAUFMANN, B., J.J. BOOMSMA, L. PASSERA and K.N. PETERSEN, 1992. Relatedness and inbreeding in a French population of the unicolonial ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Ins. Soc.* 39: 195-213.
- KELLER, L., 1988. Evolutionary implications of polygyny in the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae): an experimental study. *Anim. Behav.* 36: 159-165.
- KELLER, L., D. CHERIX, and P. ULLOA-CHACON, 1989 a. Description of a new artificial diet for rearing ant colonies as *Iridomyrmex humilis*, *Monomorium pharaonis* and *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae). *Ins. Soc.* 36: 348-352.

- KELLER, L. and L. PASSERA, 1988. Energy investment in gynes of the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr) in relation to the mode of colony founding in ants (Hymenoptera : Formicidae). *Int. J. Invert. Repr.* 13: 31-38.
- KELLER, L. and L. PASSERA, 1992. Mating system, optimal number of matings, and sperm transfer in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 31: 359-366.
- KELLER, L., L. PASSERA, and J.P. SUZZONI, 1989 b. Queen execution in the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis*. *Physiol. Entomol.* 14: 157-163.
- MARKIN, G.P., 1970. The seasonal life cycle of the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Hymenoptera : Formicidae), in southern California. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1238-1242.
- NONACS, P. and N.F. CARLIN, 1990. When can ants discriminate the sex of brood? A new aspect of queen-worker conflict. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 9670-9673.
- PAMILO, P., 1990. Sex allocation and queen-worker conflict in polygynous ants. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 27: 31-36.
- PAMILO, P., 1991. Evolution of colony characteristics in social insects. 1. Sex allocation. *Am. Nat.* 137: 83-107.
- PAMILO, P. and R. ROSENGREN, 1983. Sex ratio strategies in *Formica* ants. *Oikos.* 40: 23-45.
- PASSERA, L. and L. KELLER, 1990. Loss of mating flight and shift in the pattern of carbohydrate storage in sexuals of ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Comp. Physiol. B.* 160: 207-211.
- PASSERA, L. and L. KELLER, 1992. The period of sexual maturation and the age at mating in *Iridomyrmex humilis*, an ant with intranidal mating. *J. Zool.* 228: 141-153.
- PASSERA, L., L. KELLER, and J.P. SUZZONI, 1988 a. Control of brood male production in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Ins. Soc.* 35: 19-33.
- PASSERA, L., L. KELLER, and J.P. SUZZONI, 1988 b. Queen replacement in dequeened colonies of the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Psyche.* 99: 59-66.
- TRIVERS, R. L. and H. HARE, 1976. Haplodiploidy and the evolution of the social insects. *Science.* 191: 249-263.
- VARGO, E.L. and K.G. ROSS, 1989. Differential viability of eggs laid by queens in polygyne colonies of the fire ant, *Solenopsis invicta*. *J. Insect Physiol.* 35: 587-593.
- VARGO, E.L. and L. PASSERA, 1991. Pheromonal and behavioral queen control over the production of gynes in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 28: 161-169.
- VARGO, E.L. and L. PASSERA, 1992. Gyne development in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis*: role of overwintering and queen control. *Physiol. Entomol.* 17: 193-201.
- WILSON, E.O., 1975. *Sociobiology. The New Synthesis*. Belknap Press of Harvard, University Press, Cambridge, 697 pp.