



**Influence de la structure génétique, du visa colonial et de
la distance géographique sur l'agressivité intercoloniale
de la fourmi *Pheidole pallidula***



Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Master en
biologie des organismes et écologie
par
Sophie De Laet

Septembre 2010
Promoteurs : Serge Aron & Denis Fournier

Remerciements

Tout d'abord merci à Serge Aron de m'avoir confié la réalisation de ce mémoire et de m'avoir permis de travailler dans son service. Merci aussi de m'avoir donné la possibilité de partir sur le terrain et d'avoir été présent quand il le fallait.

Un tout grand merci à Denis Fournier qui m'a épaulée afin mener à bien ce projet du début à la fin en étant toujours disponible et à l'écoute. Merci pour toutes les choses que j'ai apprise grâce à lui dans les différents domaines de ce travail.

Merci à Serge Aron, Denis Fournier, Aurélie Hougron, Hugo Darras, et Pierre-André Eyer qui ont tous été présent sur le terrain, et qui m'ont permis de réaliser les près de 3000 tests comportementaux en un temps record. Merci pour leur motivation, leur bonne humeur et leur patience. Je garde de cette semaine à Cazals un excellent souvenir.

Merci également au Professeur Luc Passera (Université Paul Sabatier de Toulouse) qui nous a fait l'honneur de sa présence en nous faisant visiter tous les sites propices à la rencontre de *Pheidole pallidula* de la région.

Merci au Professeur Alain Lenoir (Université François Rabelais de Tours) pour la caractérisation des composés chimiques.

Et enfin merci à mes proches, ma mère, mon frère et particulièrement mon petit ami FX pour m'avoir soutenu pendant ce mémoire et les cinq années d'université qui ont précédé.

Résumé

La stabilité évolutive de la coopération sociale exige que les actes altruistes soient principalement orientés vers les individus apparentés. Chez les fourmis, comme chez tous les insectes sociaux, l'intégrité de la société dépend des relations privilégiées qu'entretiennent les individus du groupe, et de la capacité qu'ont ces différents individus à reconnaître les membres de leur groupe. En règle générale, la reconnaissance repose sur des odeurs génétiquement déterminées et/ou des composés chimiques dérivés de l'environnement et présents à la surface de la cuticule des individus. Ces composés constituent la signature chimique commune à la société. Ce travail porte sur l'étude de la reconnaissance coloniale chez la fourmi facultativement polygyne *Pheidole pallidula* et sur les facteurs géographiques, génétiques et chimiques qui influencent l'agressivité entre ouvrières appartenant à des nids différents.

Nos résultats montrent que 63% des interactions observées sont agressives, et que cette agressivité dépend de facteurs géographiques, génétiques et chimiques. (1) Les ouvrières issues de nids proches géographiquement (distance seuil < 4,5 m) sont moins agressives entre elles que si elles sont issues de nids plus éloignés ; cette relation est concomitante aux stratégies de dispersion des sociétés. (2) Les comportements sont plus souvent agressifs entre ouvrières de nids monogynes qu'entre ouvrières de nids polygynes. (3) L'intensité de l'agressivité est proportionnelle à la diversité génétique des nids (plus la diversité est réduite, plus l'agressivité est forte) et à la distance génétique entre les nids (plus les nids sont proches génétiquement, moins les ouvrières sont agressives). (4) Les paires de nids dont les ouvrières se sont montrées agressives ont une diversité chimique plus élevée que les paires de nids où les ouvrières se sont montrées non agressives. (5) Les distances chimiques entre les nids ne sont pas associées à l'agressivité. L'ensemble de nos résultats démontre que deux facteurs majeurs influencent l'agressivité intercoloniale chez la fourmi *P. pallidula* : d'une part, la structure sociale (monogyne ou polygyne) des sociétés et, d'autre part, les distances génétiques entre sociétés.

Mots-clés: fourmis, *Pheidole pallidula*, reconnaissance coloniale, profil chimique, hydrocarbures cuticulaires, diversité chimique, distances chimiques, microsatellites, diversité génétique, distances génétiques, structure sociale, distances géographiques.

Abstract

The evolutionary stability of social cooperation requires altruistic acts to be directed mainly towards related individuals. In ants, as in all social insects, the colony integrity depends on the privileged relationships between individuals of the social group, and on their ability to recognize group members. Generally, recognition is based on genetically determined odours and/or environmentally-derived chemical components present on the cuticle of individuals. These substances constitute the common colony odour. Here, we investigated the intraspecific colonial recognition of the facultative polygynous ant *Pheidole pallidula*, and we combined geographical, genetic and chemical analyses to study the factors influencing the aggressiveness between workers belonging to different nests.

Our results show that 63 % of the observed interactions are aggressive, and that this aggressiveness depends on geographical, genetic and chemical factors. (1) Neighbours (*i.e.* nests less than 4.5 m away) are treated less aggressively than more distant colonies; this trait is concomitant to the dispersal strategies of the societies. (2) Behavioural responses of workers belonging to monogynous nests are more often aggressive than those between workers of polygynous nests. (3) The intensity of the aggressiveness is proportional to the genetic diversity of the nests (the more reduced is the diversity, the stronger is the aggressiveness) and to the genetic distances between them (aggression is reduced between nests genetically similar). (4) Aggressive pairs of nests are more chemically diversified than non-aggressive ones. (5) The chemical distances between nests are not associated to the aggressiveness. Altogether, our results demonstrate that two major factors influence the intercolonial aggressiveness in the ant *P. pallidula*: on one hand, the breeding system (monogynous or polygynous) and, on the other hand, the genetic distances between nests.

Keywords: ants, *Pheidole pallidula*, nestmate recognition, chemical profile, cuticular hydrocarbons, chemical diversity, chemical distances, microsatellites, genetic diversity, genetic distances, breeding system, geographic distances.

Sommaire

I.	Introduction.....	1
A.	Altruisme de reproduction et sélection de parentèle	1
1.	Sélection de parentèle	1
2.	L'haplodiploïdie.....	2
B.	Reconnaissance coloniale	4
C.	Comportements agressifs	7
1.	Structure sociale et comportements agressifs.....	7
2.	Mode de dispersion, structure des populations et agressivité.....	8
3.	Relations de voisinage, « cher ennemi » et agressivité.....	9
II.	Buts du travail.....	10
III.	Matériels et méthodes	12
A.	<i>Pheidole pallidula</i>	12
1.	Biologie de l'espèce.....	12
2.	Morphologie et caractéristiques	12
B.	Echantillonnage.....	13
C.	Tests d'agressivité.....	15
D.	Analyses génétiques	15
1.	Extraction de l'ADN et génotypage	15
2.	Identification des points de récolte et regroupement en sociétés.....	17
3.	Structure sociale.....	17
4.	Diversité et distances génétiques	18
E.	Analyses chimiques	19
1.	Extraction et caractérisation des profils cuticulaires	19
2.	Diversité et distances chimiques	19
F.	Statistiques.....	20
IV.	Résultats.....	21
A.	Variations de l'agressivité en fonction des distances géographiques	21
B.	Influence des facteurs génétiques sur l'agressivité.....	23
1.	Structure sociale.....	23
2.	Diversité génétique	23
3.	Distances génétiques.....	24
C.	Influence des facteurs chimiques sur l'agressivité.....	25
1.	Diversité chimique	29
2.	Distances chimiques	29
D.	Relations entre les données géographiques, génétiques et chimiques.....	30

1. Mesures de diversité	30
2. Mesures de distances	30
V. Discussions et conclusions générales.....	33
VI. Références	42

I. Introduction

Dans le règne animal, de nombreuses espèces manifestent un comportement altruiste (Aron & Passera 2000), c'est-à-dire un comportement qui entraîne un coût pour un individu acteur mais qui confère à un autre individu récipiendaire un bénéfice. Coûts et bénéfices sont mesurés en termes de succès reproducteur, à savoir en nombre de descendants fertiles atteignant l'âge de la reproduction. Le succès écologique des Formicidae repose sur deux facteurs essentiels : d'une part, l'altruisme de reproduction qui conduit des individus à renoncer à leur propre reproduction pour contribuer à l'élevage des descendants issus de congénères ; et, d'autre part, une organisation sociale complexe basée sur l'adaptation des comportements individuels (Hölldobler & Wilson 1990; van Zweden & D'Ettorre 2010). Ainsi, les membres d'une société effectuent des tâches complémentaires qui permettront son développement. L'intégrité de la société dépend donc des relations privilégiées qu'entretiennent les individus du groupe, et de la capacité qu'ont ces différents individus à reconnaître les membres appartenant à celui-ci (Crozier & Pamilo 1996).

A. Altruisme de reproduction et sélection de parentèle

1. Sélection de parentèle

Les comportements altruistes constituent un paradoxe au regard de l'Evolution : pourquoi de tels comportements, qui tendent à diminuer le succès reproducteur des individus altruistes au profit des individus bénéficiaires, sont-ils apparus et se sont-ils maintenus au cours de l'Evolution ? La théorie de la sélection de parentèle et du succès reproductif global (Hamilton 1964), ou *kin selection theory*, est une extension de la théorie de la sélection naturelle de Darwin et est considérée comme un concept majeur dans l'explication de l'origine et de l'évolution de l'altruisme de reproduction. Elle souligne que la contribution génétique d'un individu à la génération suivante dépend de son succès reproducteur direct (*direct fitness*), mais également du succès reproducteur des individus qui lui sont apparentés (*indirect fitness*). Le degré de parenté, ou coefficient d'apparentement r , mesure la proportion de gènes variables que des individus ont en commun par hérédité. Ainsi, le nombre de gènes identiques aux siens

qu'un individu altruiste pourra transmettre indirectement dépend à la fois de ce degré de parenté r , mais aussi du coût c que subit l'individu altruiste et du bénéfice b qu'en tire le récipiendaire. Cette théorie peut être formulée comme suit : la sélection de parentèle favorise un acte altruiste si $c < b.r$.

La probabilité d'apparition du comportement social, et notamment de l'eusocialité (définie par une division du travail, une coopération entre individus et un chevauchement des générations) (Wilson 1971), sera d'autant plus grande que le degré de parenté entre individus est élevé. Cette condition permet aux individus non reproducteurs de maximiser leur succès reproductif indirect. Toutefois, il n'est pas nécessaire que le degré de parenté soit grand pour que la coopération puisse évoluer par sélection de parentèle. Une faible corrélation génétique entre partenaires, associée à des coûts faibles et/ou des bénéfices génétiques élevés, sont également favorables à l'évolution de la coopération et de l'altruisme de reproduction.

A l'heure actuelle, il semble pertinent de considérer qu'à l'origine l'évolution de l'altruisme par sélection de parentèle ait été possible principalement, sinon exclusivement, dans les systèmes sociaux familiaux au sein desquels la valeur du degré de parenté r est proche de 0,5 (Boomsma 2009). Dans ce cas, la corrélation génétique moyenne avec un descendant est égale à celle avec un frère ou une sœur, de sorte que le coût génétique associé au comportement altruiste devient pratiquement nul. Cette condition est rencontrée en situation de monogynie et de monandrie (un unique couple reproducteur). Ce ne serait qu'ensuite, lorsque la coopération est installée, que les systèmes sexuels pourraient avoir dérivé, avec plusieurs accouplements par femelle (polyandrie) ou plusieurs reproducteurs au sein des sociétés.

2. L'haplodiploïdie

Les Hyménoptères sociaux (abeilles, guêpes, fourmis, bourdons) constituent un remarquable modèle d'application de la sélection de parentèle. Les mâles se développent à partir d'œufs non fécondés : ils n'ont donc qu'un seul lot de chromosomes et sont haploïdes. Leurs gamètes sont formés par méiose mais sans réduction chromosomique, tous les spermatozoïdes sont alors identiques. A l'inverse, les femelles proviennent d'œufs fécondés : elles possèdent deux lots de chromosomes et sont diploïdes (Figure 1). Le mécanisme moléculaire impliqué repose sur le mode de déterminisme complémentaire du sexe (*complementary sex determination* ; Cook 1993;

Cook & Crozier 1995). Dans un tel système, les femelles sont hétérozygotes aux loci impliqués dans la détermination du sexe. Les mâles sont hémizygotes et haploïdes, ou ils sont homozygotes aux loci sexuels, auquel cas ils sont diploïdes.

L'haplodiploïdie a des conséquences génétiques importantes. En effet, elle est à l'origine d'asymétries génétiques au sein des sociétés : tous les individus d'une même société n'ont pas le même coefficient d'apparentement. En situation de monogynie (une unique reine reproductrice par société) et de monandrie (un seul accouplement par reine), une fille est trois fois plus apparentée à une sœur qu'à un frère, ou encore une fois et demie plus à une sœur qu'à sa propre descendance (Figure 1). Cette seconde conséquence est importante. Dans la recherche du meilleur succès reproducteur, les ouvrières seraient donc amenées à favoriser l'élevage de leurs sœurs aux dépens de leur propre descendance. Ceci expliquerait l'apparition de comportements altruistes où une majorité de femelles, les ouvrières, sacrifient leur propre reproduction au profit de l'élevage de leurs sœurs. Les conditions d'apparition de tels degrés de parenté au sein des sociétés d'Hyménoptères reposent sur une limitation maximale de la diversité génétique entre les individus : lorsqu'il n'y a qu'une seule reine (monogynie), que cette reine ne s'est accouplée qu'une seule fois (monandrie) et que les ouvrières ne se reproduisent pas.

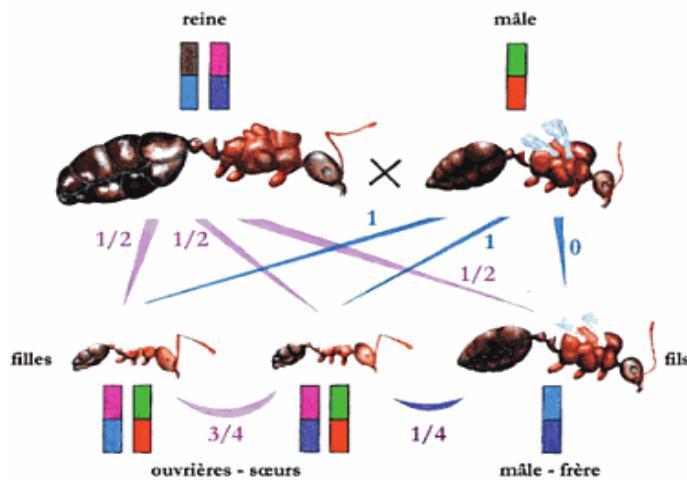


Figure 1. Système de reproduction haplodiploïde, asymétries génétiques et corrélations génétiques entre les descendants d'un couple de fourmis. Les femelles, diploïdes, possèdent $2n$ chromosomes alors que les mâles, haploïdes, possèdent n chromosomes ; chaque chromosome porte deux gènes (ici $n = 1$ et chaque chromosome porte deux gènes représentés par des rectangles de couleur différente). Les descendants femelles reçoivent la moitié du stock génétique de leur mère par le biais de l'ovule et la totalité du génome paternel par le biais du spermatozoïde ; les descendants mâles n'héritent que de la moitié du génome maternel. Des sœurs présentent alors entre elles une corrélation génétique de $\frac{3}{4}$. Cette corrélation génétique est de $\frac{1}{2}$ entre une reine et ses descendants mâles et femelles et de $\frac{1}{4}$ entre une fille et ses frères (d'après Passera & Aron 2005).

Les sociétés d'insectes sont généralement composées d'individus proches génétiquement. Cependant, plusieurs facteurs peuvent réduire le coefficient de corrélation génétique et, par conséquent, le succès reproducteur indirect des ouvrières. Par exemple, lorsque plusieurs reines reproductrices cohabitent au sein d'un même nid (polygynie), lorsque les reines s'accouplent plusieurs fois (polyandrie), lorsque les ouvrières se reproduisent ou encore lorsque plusieurs nids échangent des individus. Néanmoins, différentes hypothèses évolutives (*e.g.* augmentation de la diversité génétique) et/ou écologiques (*e.g.* faible disponibilité des sites de nidifications, augmentation de la productivité par association de reines, compétition spermatique) justifient la polygynie, la polyandrie et la réduction de corrélation génétique au sein des sociétés (Gadau & Fewell 2009). Si le bénéfice de tels phénomènes est suffisamment important, la sélection de parentèle peut néanmoins opérer. Ainsi, le degré de parenté ne doit pas être particulièrement élevé pour que la sélection de parentèle puisse exister, il suffit qu'il soit plus grand que zéro. Quoiqu'il en soit, il apparaît nécessaire que les membres d'un groupe social puissent reconnaître les individus apparentés des non-apparentés afin de favoriser les bénéfices indirects associés au comportement altruiste.

B. Reconnaissance coloniale

Au-delà de son intérêt en terme de sélection de parentèle, la capacité à reconnaître les individus d'un groupe familial est importante car elle permet de maintenir l'intégrité du groupe, d'assurer la fermeture éventuelle du nid aux intrus et, donc, de limiter le cléptoparasitisme (le vol de couvain), la préation ou le parasitisme social (Crozier & Pamilo 1996; Wilson 1971). La reconnaissance des apparentés est le processus par lequel les insectes sociaux reconnaissent des individus appartenant à leur propre famille ou à une famille étrangère, et en conséquence accordent ou non l'entrée à leur nid. Il est nécessaire de distinguer ici la reconnaissance des congénères du nid (*nestmate recognition*) de la reconnaissance de parenté (*kin recognition*). Là où la *kin recognition* est l'évaluation du degré de parenté génétique par rapport à un individu, la *nestmate recognition* est la reconnaissance binaire entre membres du groupe (Arnold *et al.* 1996; Lenoir *et al.* 1999). Reconnaissance de parenté et reconnaissance coloniale coïncident dans les sociétés monogynes et monandres puisque les ouvrières sont toutes sœurs, et dans une telle situation, il n'est pas possible de distinguer différentes lignées

familiales. A l'inverse, lorsque différentes lignées maternelles et/ou paternelles coexistent dans une même société, l'évaluation du degré de parenté pourrait constituer un avantage pour les ouvrières qui favoriseraient les individus avec lesquels elles partagent le plus de gènes. Mais une reconnaissance de parenté menant à des comportements népotiques devrait être contre-sélectionnée, la société constituant également un niveau de sélection (Boomsma *et al.* 2003; Keller 1997). Bien que l'on ne puisse exclure la possibilité que les ouvrières reconnaissent les congénères issus de différentes lignées maternelles et/ou paternelles au sein de leur société, l'existence de comportements de népotisme n'a à ce jour jamais été formellement démontrée (Holzer *et al.* 2006; Wenseleers 2007). En règle générale, les mécanismes de reconnaissance font donc référence à l'appartenance à la société (Vander Meer *et al.* 1998).

Chez les fourmis et les guêpes, les mécanismes de reconnaissance reposent au moins en partie sur des hydrocarbures présents à la surface de la cuticule (D'Ettorre & Lenoir 2009; Howard & Blomquist 2005; Vander Meer & Morel 1998 ; mais voir Franks *et al.* 1990) (**Encart n°1**) ; chez les abeilles, des acides gras et des esters semblent également jouer un rôle dans cette reconnaissance (Breed 1998 ; mais voir Châline *et al.* 2005; Dani *et al.* 2005). Chez la fourmi *Formica exsecta*, Martin *et al.* (2008) ont montré que la reconnaissance se faisait à partir d'un nombre très réduit de composés cuticulaires. Les composés chimiques cuticulaires sont déterminés par une interaction entre des facteurs génétiques et/ou des influences environnementales, tels que le type de matériaux utilisés dans la construction du nid, la nourriture ou des phéromones secrétées par les reines (Chen & Nonacs 2000; Stuart & Herbers 2000). Les composés cuticulaires sont caractéristiques à chaque individu, mais ils sont constamment échangés par la pratique de l'auto-toilettage, des léchages sociaux, de la trophallaxie (échange oral de nourriture liquide) ou encore par contacts passifs, permettant la circulation et l'homogénéisation des hydrocarbures au sein de la société (Figure 2) (Soroker *et al.* 1995). Ces échanges peuvent aboutir à une signature chimique globale du groupe appelée *Gestalt* (Crozier & Dix 1979). Cette signature est dynamique et évolue en fonction de la saison (*e.g.* Ichinose 1991; Katzerke *et al.* 2006; Mabelis 1979; Rosengren *et al.* 1985; Suarez *et al.* 2002; Thurin & Aron 2008) et de l'architecture génétique de la société (D'Ettorre & Lenoir 2009). Elle sert d'odeur de référence pour accepter ou rejeter un individu rencontré.

Encart 1 : Hydrocarbures cuticulaires

Composition

Un hydrocarbure est un composé organique odorant, non volatil, contenant exclusivement des atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H). Ils peuvent se présenter sous forme linéaire, cyclique ou ramifiée, et porter plusieurs insaturations (alcènes) ou non (alcanes). Les hydrocarbures cuticulaires à longues chaînes (20 à 40 carbones) contenant des groupes méthylés (CH_3) en quantité significative sont caractéristiques des insectes sociaux (Nelson 1993). Des études récentes sur les fourmis ont montré que les hydrocarbures insaturés ou branchés contiennent plus d'informations que les linéaires et sont plus souvent utilisés dans la reconnaissance (D'Ettorre & Lenoir 2009; Lenoir *et al.* 1999; Singer *et al.* 1998; van Zweden & D'Ettorre 2010).

Fonctions

Cette couche de lipides, présente chez tous les insectes à la surface de la cuticule, sert à l'origine de barrière contre la dessiccation (Hadley 1984), de protection contre les toxines ou l'invasion de micro-organismes. Les lipides jouent aussi un rôle fondamental dans la communication chimique, tant au niveau interspécifique qu'intraspécifique. Par les touchers antennaires, les individus appartenant à une même espèce, une même société, ou une même caste se reconnaissent grâce à la présence des HCs en composition et/ou en quantité variable (Blomquist & Bagnères 2010).

Biosynthèse

Les hydrocarbures sont synthétisés par les oenocytes, des cellules spécialisées situées dans le corps gras abdominal. Relâchés dans l'organisme, les hydrocarbures passent pour la plupart dans l'hémolymphe. Ensuite ils gagnent directement la cuticule par des pores canaux ou bien ils sont stockés dans la glande postpharyngienne. Cette glande s'ouvre dans la partie antérieure du tube digestif, si bien que son contenu peut s'écouler soit vers l'extérieur, via la cavité buccale, soit vers l'estomac qui constitue un lieu secondaire de stockage (Figure 2).

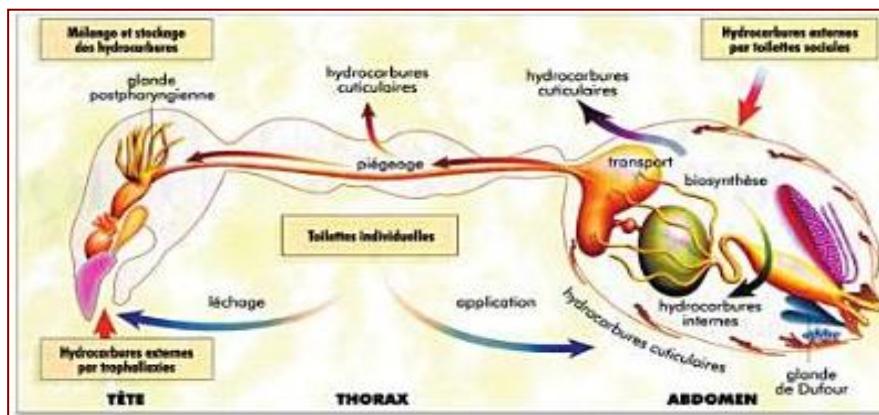


Figure 2. Production et homogénéisation des hydrocarbures cuticulaires. Les hydrocarbures synthétisés par les oenocytes passent dans l'hémolymphe et gagnent la cuticule par des pores canaux ou sont stockés dans la glande postpharyngienne. Par les trophallaxies, les autotoilettes et les toilettes sociales, ces composés se mélangent en permanence entre les membres de la société et en constituent la signature chimique. C'est cette signature qui sert de référence pour accepter ou non l'entrée des individus dans la société (d'après Dahbi *et al.* 1998).

La reconnaissance des individus passe alors par la comparaison des odeurs perçues à celles d'une odeur coloniale de référence acquise au cours du développement (*phenotype matching*, Holmes & Sherman 1982). En d'autres termes, les composés cuticulaires d'un individu seraient détectés à l'occasion d'antennations par les ouvrières résidentes et le profil perçu serait comparé au profil de celui de la société. La réponse comportementale sera en adéquation avec la correspondance entre les profils : si les profils ne correspondent pas (avec un certain seuil de tolérance variable selon les espèces), cela suscite un comportement agressif (Breed & Bennett 1987; Crozier & Pamilo 1996; Guerrieri *et al.* 2009; Sherman *et al.* 1997).

C. Comportements agressifs

Un comportement agressif est coûteux car il engendre une perte de temps et d'énergie pour la société. Le niveau d'agressivité doit donc dépendre des risques présents et des bénéfices potentiels (Passera *et al.* 1996; Pfennig & Reeve 1989; Reeve 1989). Par exemple, des ouvrières devraient investir plus d'énergie dans le combat avec un intrus si une ressource alimentaire est en jeu, ou si du couvain ou la reine sont présents (Reeve 1989; Starks *et al.* 1998). De plus, les comportements entre individus peuvent dépendre de la composition génétique des nids et de la structuration des populations.

1. Structure sociale et comportements agressifs

Dans la grande majorité des cas étudiés, l'architecture génétique des sociétés influence le niveau d'agressivité, les ouvrières d'espèces polygynes étant généralement moins agressives que celles des espèces monogynes (Breed & Bennett 1987; Hölldobler & Wilson 1977 ; mais voir Crosland 1990; Satoh & Hirota 2005; Stuart 1991). De la même manière, les populations polygynes d'une espèce sont moins agressives que les populations monogynes (Morel *et al.* 1990; Sundström 1997; Vander Meer & Alonso 2002). Deux hypothèses explicatives ont été avancées pour justifier cette observation. Premièrement, le taux de parenté étant plus élevé dans les sociétés monogynes, les pressions de sélection pour l'agression et la maintenance de l'intégrité du nid sont plus importantes chez ces dernières (Stuart 1991). Deuxièmement, une explication plus mécaniste postule que l'odeur globale de la société (*Gestalt*) est composée de trop de

critères différents chez les polygynes pour permettre une bonne discrimination de profils distincts, et des correspondances partielles entre nids apparaissent par hasard (Stuart 1991). De la même manière que la présence de plusieurs reines reproductrices dans la société brouille les signaux de reconnaissance héritables, l'augmentation de la fréquence d'accouplement de ces reines peut élargir les combinaisons tant au niveau des mélanges de signaux provenant des ouvrières, que du modèle interne caractérisant la société.

2. Mode de dispersion, structure des populations et agressivité

Chez les fourmis, la reproduction des sociétés repose sur deux mécanismes distincts (Hölldobler & Wilson 1990). Une majorité d'espèces présentent un mode de fondation indépendante au cours duquel les jeunes reines vierges quittent la société natale, s'accouplent lors d'un vol nuptial et fondent seules (haplométreose) ou en coopération avec d'autres reines (pléométreose) une nouvelle société. Dans une telle situation, la fondation est réalisée sans l'aide d'une force ouvrière initiale. En outre, le vol nuptial implique une dispersion au hasard des sociétés émergentes et l'absence de structure génétique des populations. Alternativement, la fondation de nouvelles sociétés procède de manière dépendante. Les jeunes reines sont fécondées à proximité immédiate – voire dans le nid natal. Elles quittent ensuite ce dernier à pattes, accompagnées d'une force ouvrière, pour fonder une société dans le voisinage immédiat de la société mère. La distance de dispersion est réduite. Une relation peut persister – ou non – entre les sociétés. Si c'est le cas, le système social devient polydomique (plusieurs nids appartiennent à une même société). Lorsqu'il y a rupture des connections entre le nid mère et les nids filles, il s'agit d'un mode de reproduction par bourgeonnement. Dans cette situation, la fondation implique une dispersion géographiquement limitée des sociétés émergentes et conduit souvent à une structuration génétique des populations, les nids les plus proches étant plus apparentés entre eux.

Le mode de fondation des sociétés et la structure des populations qu'il génère peuvent éventuellement influencer le niveau d'agressivité observé. Lorsque les sociétés fondent par bourgeonnement, la similitude génétique entre nids décroît avec la distance géographique. Si le niveau d'agressivité est négativement corrélé au degré d'apparentement entre ouvrières (Beye *et al.* 1998; Beye *et al.* 1997 ; mais voir Pirk *et al.* 2001), on s'attend à ce qu'elle s'accroisse avec la distance géographique entre sociétés.

En résumé, une association entre la distance génétique et la distance géographique, d'une part, et l'agressivité, d'autre part, serait attendue chez les espèces se reproduisant de manière dépendante par bourgeonnement, et non chez celles pratiquant la reproduction indépendante par vol nuptial. Souvent, mais pas toujours, la polygynie est associée à la fondation dépendante et la monogynie à la fondation indépendante.

3. Relations de voisinage, « cher ennemi » et agressivité

Outre l'architecture génétique des sociétés et des populations, l'environnement pourrait également constituer un facteur déterminant de l'agressivité intercoloniale. En effet, cet environnement est souvent plus similaire lorsque deux sociétés sont voisines et exploitent le même milieu. Si les odeurs coloniales sont affectées par l'environnement, on s'attend à une plus grande similitude du profil cuticulaire et à une agressivité réduite entre ouvrières issues de sociétés voisines.

Enfin, un dernier facteur pouvant influencer le niveau d'agressivité intercoloniale est connu sous le nom de « cher ennemi » ou *dear enemy* (Temeles 1994). Ce phénomène prédit une agressivité plus faible entre voisins directs plutôt qu'entre individus inconnus. Traditionnellement, le cher ennemi a été décrit chez les vertébrés territoriaux dans le contexte d'une population avec des individus possédant un territoire et d'autres attendant l'occasion de s'approprier un site favorable (Wilson 1975). Ainsi, un voisin familier, occupant déjà un territoire, serait une menace moins directe qu'un individu inconnu pouvant, lui, être à la recherche d'un territoire. Mais le cher ennemi peut également être appliqué dans le contexte plus large des systèmes de défense de territoires (Temeles 1994). En effet, en évitant le voisin plutôt que de chercher la confrontation, le coût associé à des interactions agressives répétées est minimisé (Langen *et al.* 2000; Tripet *et al.* 2006). Un mécanisme pouvant amener à une agressivité réduite pourrait être l'habituation à un stimulus perçu régulièrement par les ouvrières (Langen *et al.* 2000).

II. Buts du travail

Ce travail a pour objectif l'étude de la reconnaissance coloniale chez la fourmi méditerranéenne *Pheidole pallidula*. Il concerne l'agressivité intraspécifique au sein d'une population, et sa relation avec la structuration génétique de la population, l'architecture génétique des sociétés et le profil en hydrocarbures cuticulaires des individus. *Pheidole pallidula* est caractérisée par un dimorphisme de la caste ouvrière très prononcé avec, d'une part, des individus *minor* de petite taille et, d'autre part, des individus *major* présentant une tête fortement sclérisée munie de mandibules puissantes. Les ouvrières de *P. pallidula* sont connues pour être agressives à l'égard de tout intrus à leur société (Detrain 1989). Les *minor* immobilisent les étrangers et les *major* participent ensuite à leur élimination en les décapitant. La structure génétique des sociétés et des populations de cette espèce est complexe. Les populations sont facultativement polygynes : au sein d'une même population coexistent des sociétés monogynes et polygynes (Aron *et al.* 1999; Fournier *et al.* 2002). Les sociétés monogynes et polygynes diffèrent dans leur stratégie de dispersion : les sociétés monogynes sont fondées à la suite d'un vol nuptial, alors que les sociétés polygynes adoptent une stratégie de dispersion reposant sur le bourgeonnement (Fournier *et al.* 2002). Le taux de polygynie des sociétés est faible, avec rarement plus de 4 à 5 reines par société (Fournier *et al.* 2004; Fournier *et al.* 2002). Les reines des sociétés monogynes et polygynes sont toujours monandres (Fournier *et al.* 2002).

Cette étude s'articule autour de quatre axes complémentaires :

- examiner la présence éventuelle du phénomène du *dear enemy* entre nids ;
- évaluer s'il existe une différence d'agressivité entre les ouvrières issues de nids monogynes et polygynes, et déterminer si les réponses comportementales sont modulées par la diversité génétique au sein et entre nids et/ou par les distances génétiques entre nids ;
- identifier des différences dans les profils cuticulaires entre nids monogynes et polygynes, afin de déterminer si la présence de plusieurs reines affecte la variabilité des indices potentiels de reconnaissance, et analyser l'existence

potentielle d'une relation entre l'agressivité des ouvrières, la diversité des profils cuticulaires et la distance chimique entre les nids ;

- enfin, déterminer la contribution respective des facteurs génétiques, chimiques et géographiques dans les comportements agressifs de la fourmi *P. pallidula*.

III. Matériels et méthodes

A. *Pheidole pallidula*

1. Biologie de l'espèce

Le genre *Pheidole* est un des plus importants en termes de nombre d'espèces chez les fourmis. Près de 900 espèces ont été identifiées à ce jour. C'est aussi le genre le plus présent sur Terre : on le trouve pratiquement partout à l'exception du continent Antarctique (Hölldobler & Wilson 1990; Wilson 2003). Trois espèces de *Pheidole* ont été signalées en Europe : *Pheidole pallidula*, *P. megacephala* et *P. anastasii*. Les deux dernières, rares, auraient été importées en même temps que des denrées ou des plantes exotiques (Bernard 1968). Les sociétés de *P. pallidula* sont communes dans les régions méditerranéennes et préfèrent les clairières ensoleillées, en pente, rocallieuses et avec une faible densité de végétation.

2. Morphologie et caractéristiques

Pheidole pallidula est une espèce de petite taille. Les reines mesurent 7,7 mm en moyenne et les mâles entre 5 et 6 mm. Cette espèce présente un polymorphisme strict et discontinu de la caste neutre avec, d'une part, des *minor* qui mesurent 1,6 à 2,6 mm et, d'autre part, des *major* qui mesurent 3,3 à 4,9 mm et caractérisés par une hypertrophie de la capsule céphalique et des mandibules (Bontpart 1964). Les sociétés de *P. pallidula* peuvent contenir de 500 à 15.000 *minor* par nids, les *major* représentant entre 2 et 15% de toute la population (Passera 1977). *Pheidole pallidula* est une espèce omnivore qui se nourrit principalement de graines et d'insectes (Detrain 1989). Comme de nombreuses espèces de fourmis, les *minor* sont capables de tracer des pistes alimentaires qui peuvent être suivies par les deux castes d'ouvrières. Ces pistes atteignent une longueur allant jusqu'à 2 m (Detrain 1989).



Figure 3. Un individu *minor* (à gauche) et *major* de la fourmi *Pheidole pallidula*. Photo : Hugo Darras

Le succès écologique de *P. pallidula* repose sur au moins trois caractéristiques écologiques: (i) une activité de récolte diurne et nocturne, (ii) une diversité des techniques de récolte (récolte individuelle et collective de nourriture par les *minor* de la société, piste alimentaire de courte et de longue durée), et (iii) la participation active des *major* à l'exploitation intense de larges sources de nourriture, à leur protection contre des espèces compétitrices et à la découpe des proies (Detrain 1989).

Lors de rencontres agonistiques, les *minor* et les *major* coopèrent activement dans la défense. Les *minor* saisissent les pattes de l'intrus et dans certains cas induisent un recrutement pendant que les *major* tuent la fourmi étrangère. La stratégie de défense de *P. pallidula* est très flexible et adaptée au nombre de fourmis étrangères et à la supériorité au combat de l'intrus (Detrain & Pasteels 1992). Les *minor* sont recrutées en cas d'invasion, les *major* ne sont sollicitées que si nécessaire, ce qui permet d'éviter une trop grande perte d'énergie. Il a également été observé que *P. pallidula* est capable d'ajuster le nombre de ses *major* en réponse à l'intensité de la compétition intraspécifique (Passera *et al.* 1996).

B. Echantillonnage

Trente-six nids de *P. pallidula* ont été échantillonnés sous des pierres plates (Figure 4) en avril 2010, sur les hauteurs de Bruniquel (Tarn-et-Garonne, France ; N44 03.007 - E1 39.365). La position de chaque nid a été précisément cartographiée. La population étudiée recouvre environ 1600 m² (Figure 5). Les fourmis ont été récoltées à

l'aide d'un aspirateur à bouche et immédiatement mises en élevage dans des boîtes aux parois recouvertes de fluon® afin d'éviter qu'elles ne s'échappent. Chaque boîte comprend le nid proprement dit (un tube à essai à moitié rempli d'eau, fermé par un coton et recouvert de papier aluminium pour maintenir une certaine obscurité), et une zone d'affouragement où est déposée la nourriture (vers de farine et solution d'eau sucrée à 1M *ad libitum*). Les conditions d'hygrométrie et de température correspondent aux conditions ambiantes.



Figure 4. Site de récolte des nids de *Pheidole pallidula*. Les nids ont été récoltés sous des pierres plates à Bruniquel (Tarn-et-Garonne, France) et précisément cartographiés.

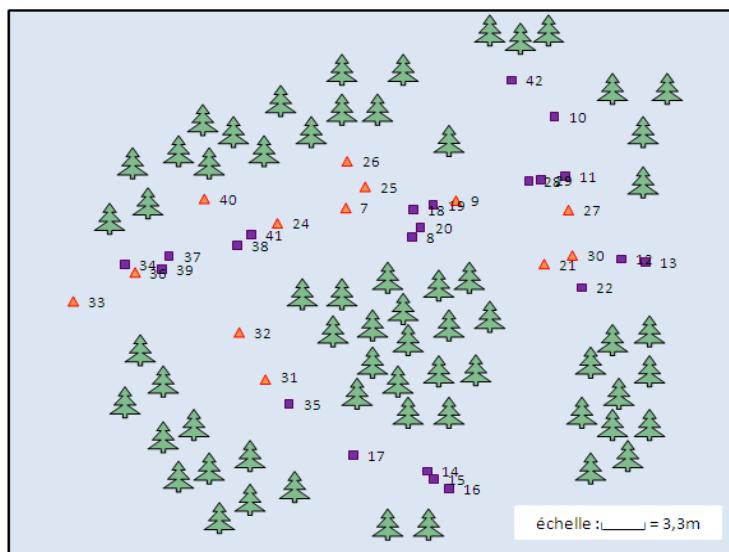


Figure 5. Cartographie des nids récoltés. Les nids monogynes sont représentés par un triangle orange et les nids polygynes par un carré violet. Les numéros correspondent aux noms des nids. La végétation de plus d'un mètre de hauteur est représentée par les arbres verts.

C. Tests d'agressivité

Les tests d'agressivité ont été effectués dans les 3 jours suivants la récolte. Deux *minor* sont placés ensemble dans une arène neutre (2 cm de diamètre) dont les bords sont recouverts de fluon®. Après 10 secondes d'adaptation, les interactions sont notées pendant une période de 5 minutes à partir de la première rencontre. L'échelle d'agressivité varie de 0 à 4 : 0 = ignorance ; 1 = antennation courte (< deux secondes) ; 2 = antennation prolongée ; 3 = agression (tentative de morsure) ; 4 = combat (morsure prolongée) (Fournier *et al.* 2009; Suarez *et al.* 2002). Les niveaux 0, 1 et 2 sont considérés comme non-agressifs, alors que les niveaux 3 et 4 sont considérés comme des comportements agressifs. Cinq réplicas sont réalisés pour chaque paire de nids en utilisant des ouvrières différentes lors de chaque test. L'arène est lavée à l'alcool après chaque test. L'agressivité maximale est prise en compte lors de chaque réplica. Deux types de contrôles ont été effectués, le premier en testant des *minor* appartenant à un même nid, et le second en testant des *major* appartenant à 2 nids différents pour vérifier la concordance des réponses entre *minor* et *major*.

D. Analyses génétiques

1. Extraction de l'ADN et génotypage

Les analyses génétiques ont porté sur 36 nids et 432 *minor* (12 *minor* par nid). L'ADN des fourmis est extrait par digestion à 55°C pendant 2 heures d'un individu entier dans 120 µl d'une solution d'extraction (100 mM NaCl, 50 mM Tris, 1mM EDTA, 0,5% SDS, et 200 µg/ml protéinase K), purifié par phénol/chloroforme, précipité par l'acétate de sodium 3 M, pH 5.2 et remis en suspension dans 100 µL d'eau distillée (Fournier *et al.* 2002; Sambrook & Russell 2001). Le géotype des fourmis est déterminé par quatre marqueurs microsatellites de l'ADN indépendants (*Ppal-03*, *Ppal-12*, *Ppal-84* et *Ppal-01T*; Fournier *et al.* 2002) (**Encart n°2**). L'amplification est réalisée par PCR (*Polymerase Chain Reaction*), en multiplex, dans un volume de 10 µL contenant 1x Qiagen Multiplex Master Mix, 2 µM de chaque amorce (l'amorce sens 5'-3' est marquée par fluorescence pour permettre la détection du produit amplifié sur le séquenceur automatique) et 1 µL d'ADN génomique (environ 10 ng). Le cycle d'amplification est réalisé dans un thermocycleur (MJ Research PTC-200 thermocycler) et consiste en 30 cycles de 30

Encart n°2 : Microsatellites

Caractéristiques

Un **microsatellite** ou **séquence microsatellite** est une séquence d'ADN formée par une répétition continue de motifs composés de 1 à 6 nucléotides et observée dans le génome nucléaire de la plupart des taxa. De tels motifs sont très abondants chez les eucaryotes : un microsatellite donné peut être présent à des milliers d'exemplaires dans le génome d'une espèce. Le nombre de répétition de ce motif est variable d'une espèce à l'autre, d'un individu à l'autre au sein d'une espèce et d'un allèle à l'autre chez un même individu, ce qui confère plusieurs formes alléliques pour une séquence microsatellite donnée. En revanche, la localisation de ces séquences sur le génome est relativement conservée entre des espèces phylogéniquement proches. Le nombre de ces répétitions peut être différent d'une cellule à l'autre chez un même individu soit du fait de crossing-over inégaux, soit du fait du glissement de la polymérase au cours de la réPLICATION. Le taux de mutation par locus et par génération est en moyenne de 5.10^{-4} , ce qui génère un taux élevé de diversité allélique (Selkoe & Toonen 2006). Ces marqueurs nucléaires sont des marqueurs neutres, car ils sont généralement localisés dans des régions non codantes.

Utilisation en biologie moléculaire

De part leur polymorphisme élevé, les microsatellites sont des marqueurs de choix pour étudier la diversité génétique intraspécifique et estimer de nombreux paramètres écologiques tels que le taux de migration, les tailles effectives de population, l'intensité des goulots d'étranglement, ou encore les relations de parenté entre individus (Queller *et al.* 1993). Pour étudier ces séquences microsatellites, il est nécessaire d'effectuer une réPLICATION enzymatique de ces fragments ; les régions flanquantes servent alors d'amorces aux réactions de polymérisations en chaîne (PCR). En effet, si un marqueur microsatellite donné n'est pas spécifique d'un locus, les régions flanquantes de ce microsatellite le sont et ne varient pas d'un individu à l'autre. Une paire d'amorces de ces régions flanquantes amplifiera donc spécifiquement ce seul microsatellite. Les différents fragments amplifiés par PCR sont séparés en fonction de leur taille par électrophorèse.

secondes à 94°C, 90 secondes à 61°C, et 90 secondes à 72°C. Ces 30 cycles sont précédés d'une dénaturation initiale à 95°C pendant 15 minutes et suivis d'une élongation finale à 72°C pendant 30 minutes. Les fragments amplifiés sont visualisés sur un séquenceur automatique à capillaires (ABI 3730 Applied Biosystems). Les tailles amplifiées des fragments sont déterminées à l'aide du logiciel GENEMAPPER et sont utilisées pour construire les génotypes multiloci des *minor*.

2. Identification des points de récolte et regroupement en sociétés

L'observation « à l'œil » des génotypes des ouvrières a révélé que deux nids (les nids 22 et 23) appartenaient à une même société. Plus formellement, pour vérifier si d'autres nids correspondaient à une seule et même société, nous avons effectué des tests de différenciation génotypique entre toutes les paires de nids en utilisant un test exact de Fisher basé sur la statistique log-vraisemblance G (Goudet 2001) et implémenté dans le logiciel GENEPOP 4.0.10. (Raymond & Rousset 1995 ; <http://wbiomed.curtin.edu.au/genepop/index.html>). Le seuil de significativité global (tenant en compte les résultats de l'ensemble des loci analysés) a été abaissé à $\alpha_{corr} = 0.0125$ (correction de Bonferroni, (Rice 1989)). Les nids éloignés ($> 1,30$ m) ne présentant pas de différenciation génétique sont considérés comme des sociétés distinctes. Au final, seuls les deux nids précédemment cités apparaissent comme faisant partie d'une même société ; nous avons choisi de retirer aléatoirement le nid 23 de nos analyses. Notre travail porte donc sur 35 nids.

3. Structure sociale

Le nombre minimum de femelles reproductrices dans chaque nid est inféré à partir du génotype de 12 ouvrières. Les reines de *P. pallidula* étant strictement monandres (Fournier *et al.* 2002), la structure sociale monogyne ou polygyne d'une société peut être facilement déterminée en comptant le nombre d'allèles par société. Si, pour chacun des quatre loci analysés, le nombre total d'allèles est inférieur ou égal à trois, et si au moins un des trois allèles est commun à tous les génotypes, la société est définie comme monogyne. A l'inverse, lorsque plus de trois allèles sont observés pour au moins un marqueur donné, la société est définie comme polygyne. Deux ouvrières ayant la même mère pourront présenter deux profils différents, mais avec pour chaque

marqueur au moins 1 allèle en commun venant du père. En effet, une reine diploïde ségrége l'un ou l'autre de ses allèles, alors que le mâle, haploïde, ne peut donner qu'un allèle. Cette méthode peut malgré tout entraîner une sous-estimation du degré de polygynie si le nombre d'ouvrières analysées est trop faible (erreur d'échantillonnage), ou si la diversité génétique des marqueurs est limitée (erreur de détection). L'erreur d'échantillonnage est égale à $(1-p)^n$ où p et n sont respectivement la contribution d'une reine à la progéniture et la taille de l'échantillon (Fournier *et al.* 2003). Elle est égale à 0,0002 pour une reine contribuant à 50% et 0,069 pour une reine contribuant à 20%. Parce que les reines de cette espèce ne s'accouplent qu'une seule fois et avec des mâles non apparentés (Fournier *et al.* 2002), la probabilité de non détection (*i.e.* la probabilité que différentes combinaisons de génotypes parentaux conduisent à des descendants aux mêmes génotypes) est faible. La probabilité que des reines apparentées produisent des descendants non distinguables peut être estimée par la probabilité qu'elles s'accouplent avec des mâles portant les mêmes allèles à tous les loci (Pamilo 1993), soit $P = \prod_j \sum_i p_{ij}^2$ où p est la fréquence de l'allèle i au locus j . Dans la population étudiée, elle est inférieure à 0,001% et peut être négligée.

Pour les sociétés polygyynes, nous avons assigné à chaque individu une lignée maternelle par la méthode du maximum de vraisemblance implémentée dans le logiciel COLONY 1.1. et en fixant un accouplement par reine (Fournier *et al.* 2002; Wang 2004 ; http://www.zsl.org/science/research/software/colony_1154_AR.html). Plusieurs analyses avec le même jeu de données ont produit des résultats identiques.

4. Diversité et distances génétiques

Les nombres d'allèles par locus et par nid (Na) ont été estimés à l'aide du logiciel GENALEX (Genetic Analysis in Excel, Peakall & Smouse 2006). Les distances génétiques entre les nids ont été évaluées en se basant sur l'hétérogénéité des fréquences alléliques entre les nids (Fst) (Weir & Cockerham 1984) et sur la proportion d'allèles partagés entre les nids (ASD) (Fournier *et al.* 2005). Ces mesures de distances ont été évaluées à l'aide des logiciels GENEALEX et TREEMAKER (Fournier *et al.* 2005 ; S. Piry, communication personnelle).

E. Analyses chimiques

1. Extraction et caractérisation des profils cuticulaires

Pour chaque nid, 50 ouvrières ont été prélevées et rincées dans 1 ml de cyclohexane pendant cinq minutes. Ce solvant organique apolaire permet de récupérer les hydrocarbures cuticulaires qui sont les premiers composés à être mis en solution car les plus superficiels. La durée de cinq minutes de mise en contact des individus avec le solvant a été choisie de manière à maximiser la mise en solution des hydrocarbures, et à limiter celle d'autres constituants tels que le contenu des glandes. Pour chaque extrait, 5 µl de pentane contenant 50 ng d'eicosane (C20) ont été ajoutés pour servir de standard interne. Pour les analyses, le solvant est évaporé jusqu'à ce qu'il ne reste que 10 µl. Trois µl d'extraits cuticulaires ont été analysés par un chromatographe en phase gazeuse couplé à un détecteur à ionisation de flamme GC/FID (système VGM250Q, Perkin-Elmer) ; l'injecteur est de type split/splitless, le détecteur à ionisation de flamme est équipé d'une colonne capillaire en silice. La température est maintenue à 150°C pendant 2 minutes, augmentée de 150°C à 300°C à la vitesse de 5°C/min, et maintenue à 300°C pendant les 10 dernières minutes. Les lipides cuticulaires non-volatiles ont été identifiés par ionisation électronique avec le même GC couplé à un spectromètre de masse opérant à 70eV (Perkin-Elmer). Des hydrocarbures linéaires standards (C20, C22, C24... à C40) ont été régulièrement incorporés pour servir de références. Un extrait cuticulaire a également été injecté dans une colonne à haute température (DB-5HT) à 370°C pour vérifier l'éventuelle apparition d'hydrocarbures de grande masse moléculaire (D'Ettorre & Lenoir 2009). Comme aucun nouvel hydrocarbure n'a été détecté, une colonne DB-5 a été utilisée. La surface des pics a été mesurée par intégration des pics à l'aide du logiciel TURBO-CHROME (Perkin Elmer) ; la quantité des composés a été calculée par comparaison avec les aires des standards internes.

2. Diversité et distances chimiques

La diversité des composés cuticulaires, c'est-à-dire la constance des proportions de pics, est mesurée par l'indice de Nei $I = 1 - p_i^2$, où p_i est la proportion relative du pic i sur l'ensemble des pics chimiques identifiés comme lipides cuticulaires. La similarité entre

les profils a été estimée par la distance Euclidienne $E = \sqrt{\sum_{i=1}^n |x_i - y_i|^2}$ où $x_i - y_i$ représente

la différence de proportions de pics entre les nids x et y au pic i . Cette distance repose sur les quantités relatives des composés chimiques, et est égale à 0 lorsque les proportions sont identiques et à 1 lorsqu'elles sont totalement différentes.

F. Statistiques

La normalité des variables a été testée par un test de Shapiro-Wilk. Lorsque les transformations (logarithmique, angulaire ou réciproque) n'ont pas permis de normaliser les données, nous avons utilisé des tests non paramétriques. Dans le cas où nos données ne remplissaient pas les conditions d'homoscédasticité (vérifiées par un test de Levene), nous avons utilisé un test des médianes (Kasuya 2001). Pour les comparaisons multiples, le seuil de significativité a été ajusté selon la méthode standard de Bonferroni (Rice 1989). Les moyennes sont reportées avec leur erreur standard. Tous les tests sont bilatéraux et ont été effectués avec le logiciel SPSS 16 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.).

IV. Résultats

Sur les 35 nids récoltés, les analyses génétiques montrent que 13 sont monogynes et 22 polygynes (de 2 à 8 reines par nid). Au total, nous avons confronté 595 paires de nids (nid monogyne vs. nid monogyne M vs. M : 79 combinaisons ; nid polygyne vs. nid polygyne P vs. P : 231 combinaisons ; nid monogyne vs. nid polygyne M vs. P : 285 combinaisons) et effectué 2754 tests comportementaux. Dans 63% des cas, ces tests conduisent à des réponses agressives de niveaux 3 et 4 (moyenne \pm erreur standard = $2,948 \pm 0,049$; min-max : 0,4-4 ; Figure 7). Dans la suite de ce travail, nous considérons les paires de nids dont l'agressivité moyenne est inférieure ou égale à 2,5 comme des paires non-agressives, et celles dont l'agressivité est supérieure à 2,5 comme agressives. Aucun comportement agressif n'a été observé dans les contrôles opposant deux ouvrières d'un même nid ($N = 36$ tests ; 1.194 ± 0.067 ; min-max : 1-2). Les tests entre deux *minor* ou deux *major* ont conduit aux mêmes réponses comportementales (111 tests sur 13 paires de nids ; corrélation de Spearman $r_s = 0.794$, $p = 0.005$).

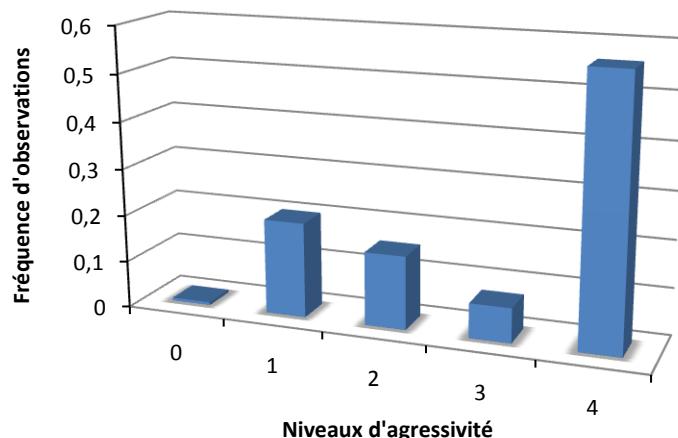


Figure 7. Distribution de l'agressivité entre nids de la fourmi *Pheidole pallidula*. Les niveaux 0, 1 et 2 codent des comportements non-agressifs, les niveaux 3 et 4 représentent des comportements agressifs.

A. Variations de l'agressivité en fonction des distances géographiques

Pour tester si l'agressivité diffère entre nids voisins et nids éloignés, les différences d'agressivité entre nids proches et nids distants ont été calculées pour différentes distances maximales. Nos données indiquent une variation de la réponse comportementale en fonction de la distance : jusqu'à un rayon de 4,5 m autour d'un nid

focal, les réponses sont significativement moins agressives entre nids proches qu'entre nids éloignés (Figure 8).

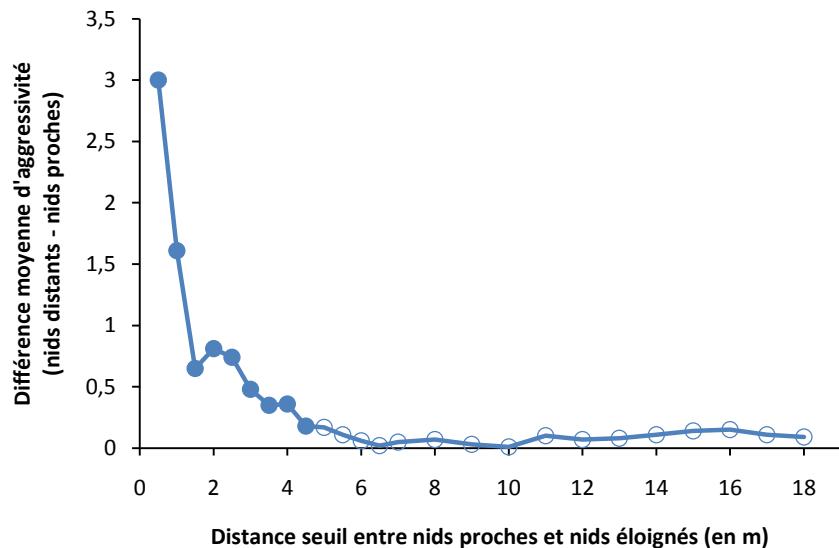


Figure 8. Différences moyennes d'agressivité entre nids proches et nids distants en fonction de différentes distances maximales entre les nids. Les cercles pleins représentent les différences significatives d'agressivité entre paires de nids proches et paires de nids éloignés (tests de Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Ce résultat peut résulter d'un phénomène de type *dear ennemy* ou être lié à la structure polygyne des sociétés (cf. Introduction). Afin d'éliminer le facteur « structure sociale » qui pourrait influencer le niveau d'agressivité, nous avons testé l'hypothèse du *dear enemy* en ne considérant que les sociétés monogynes. Nos analyses ne mettent pas en évidence de seuil de distance à partir duquel une différence significative d'agressivité entre nids proches et éloignés est observée (tous les $p > 0,05$), ce qui suggère que la relation obtenue entre l'agressivité et les distances géographiques est liée à la structure sociale des nids plutôt qu'à des interactions de type *dear enemy*. En accord avec ces résultats, nos données montrent une association significative entre les distances géographiques et comportementales uniquement pour les paires de nids polygynes (tous les nids : $r_S = 0,005$; $p = 0,905$; M vs. M : $r_S = -0,188$; $p = 0,151$; P vs. P : $r_S = 0,231$; $p = 0,001$).

B. Influence des facteurs génétiques sur l'agressivité

1. Structure sociale

L'agressivité moyenne lors de rencontres entre ouvrières issues de nids monogynes ($2,980 \pm 0,138$; $N = 79$ paires de nids) est significativement supérieure à celle opposant des ouvrières de nids polygynes ($2,585 \pm 0,080$; $N = 231$; test de Mann-Whitney, $p = 0,013$; Figure 9). L'agressivité moyenne des ouvrières lors de rencontres mixtes (*i.e.* impliquant une ouvrière d'un nid monogyne et une ouvrière d'un nid polygyne) ($3,261 \pm 0,061$; $N = 285$) n'est pas différente de celle entre ouvrières de nids monogynes (test de Mann-Whitney, $p = 0,091$), mais elle est significativement supérieure à celle entre ouvrières de nids polygynes (test de Mann-Whitney, $p < 0,001$; Figure 9). Les ouvrières originaires de sociétés monogynes semblent donc plus agressives que celles des sociétés polygynes.

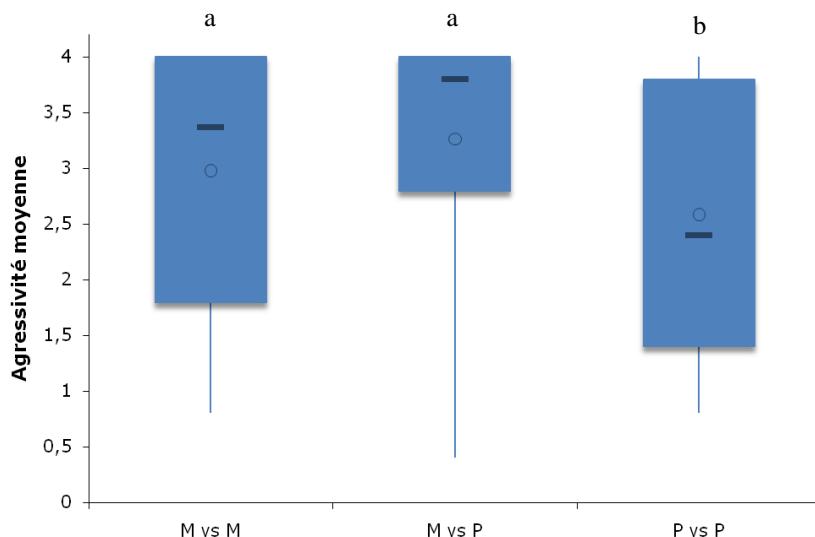


Figure 9. Agressivité moyenne entre ouvrières issues de nids monogynes (M vs. M), polygynes (P vs. P) et mixtes (M vs. P). Les rectangles s'étendent du premier au troisième quartile ; la médiane et la moyenne sont respectivement représentées par — et O ; les segments correspondent aux valeurs minimales et maximales observées. Test de Kruskal-Wallis suivi de procédures de Dunn ; les lettres différentes indiquent une différence significative.

2. Diversité génétique

La diversité génétique a été estimée à partir du nombre d'allèles présents dans le génotype des *minor* (le même nombre de *minor* a été génotypé pour chaque nid). Les paires de nids agressifs, c'est-à-dire pour lesquels l'agressivité moyenne est supérieure à 2,5, présentent une diversité génétique plus faible que les paires de nids non-agressifs ($4,469 \pm 0,069$ et $4,660 \pm 0,098$, respectivement ; test de Mann-Whitney, $p = 0,049$;

Figure 10). L'agressivité est négativement corrélée au nombre d'allèles : plus le nombre d'allèles est élevé, moins l'agressivité est forte ($r_s = -0,189, p < 0,001$; Figure 11). Nos résultats montrent également que les paires agressives sont celles où la différence de diversité génétique entre les nids est la plus forte (paires de nids agressives : $2,596 \pm 0,094$; paires de nids non-agressifs : $1,901 \pm 0,096$; test de Mann-Whitney, $p < 0,001$; Figure 10). En outre, l'agressivité est d'autant plus forte que l'amplitude de diversité génétique entre les nids est grande ($r_s = 0,235, p < 0,001$; Figure 11).

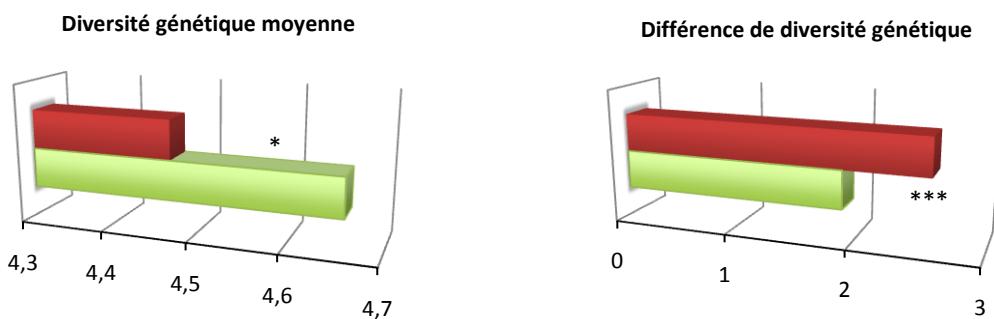


Figure 10. Diversité génétique moyenne et différence de diversité génétique entre paires de nids agressifs (en rouge) et paires de nids non-agressifs (en vert). Tests de Mann-Whitney : ns : non significatif, * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$.

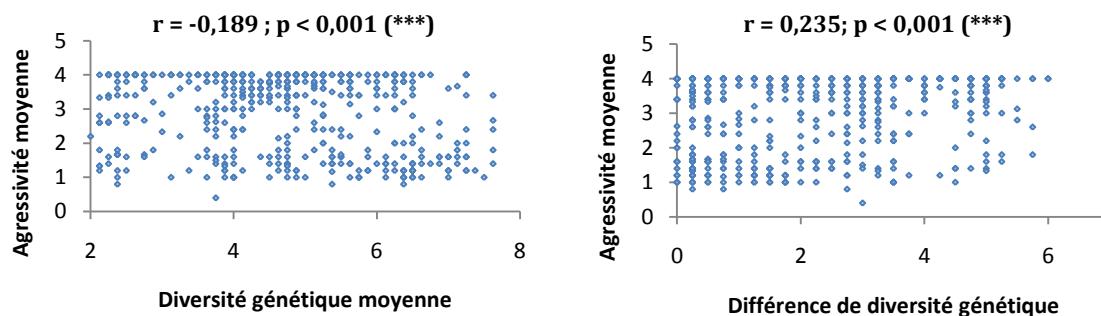


Figure 11. Association entre l'agressivité entre les nids et la diversité génétique moyenne (à gauche) et la différence de diversité génétique (à droite). Corrélations de Spearman : ns : non significatif, * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$.

1. Distances génétiques

La différenciation génétique (F_{st}) entre les nids est en moyenne égale à $0,141 \pm 0,003$ et varie de $0,007$ à $0,449$. Les paires de nids agressifs sont significativement plus distantes que les paires de nids non-agressifs ($0,147 \pm 0,004$ et $0,138 \pm 0,006$; test de Mann-Whitney, $p = 0,019$; Figure 12). Nos données montrent que l'agressivité entre les nids est significativement associée à la distance génétique entre ces nids : plus les nids sont

génétiquement distants, plus l'agressivité est forte ($r_s = 0,254, p < 0,001$; Figure 21). De la même manière, les paires agressives sont celles dont les nids partagent le moins d'allèles (paires de nids agressives : $0,756 \pm 0,004$; paires de nids non-agressifs : $0,744 \pm 0,005$; test de Mann-Whitney, $p = 0,039$; Figure 12), et moins les nids confrontés partagent des allèles, plus l'agressivité est forte ($r_s = 0,137, p = 0,002$).

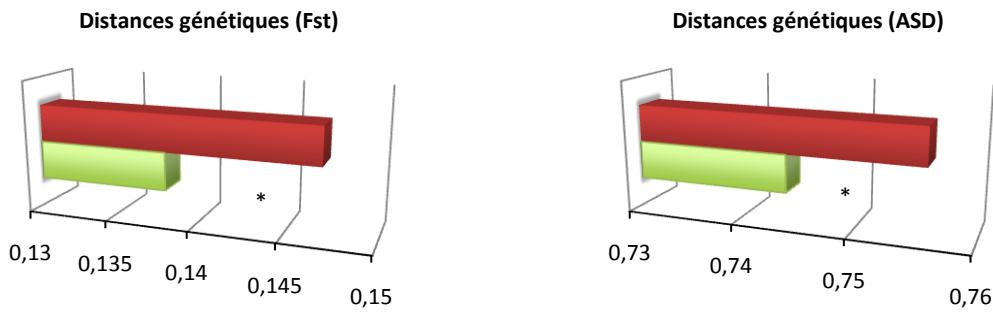


Figure 12. Distances génétiques (Fst et ASD) entre paires de nids agressifs (en rouge) et paires de nids non-agressifs (en vert). Tests de Mann-Whitney : ns : non significatif, * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$.

C. Influence des facteurs chimiques sur l'agressivité

Les analyses chimiques ont mis en évidence 61 composés cuticulaires dont la taille varie de C₂₅ à C₃₆. Parmi ces composés, on retrouve des alcanes ramifiés comportant des groupements méthyl (42,50% des composés mis en évidence), des alcanes linéaires (24,49%) et des alcènes (23,16%) (Figure 13 et Tableau 1).

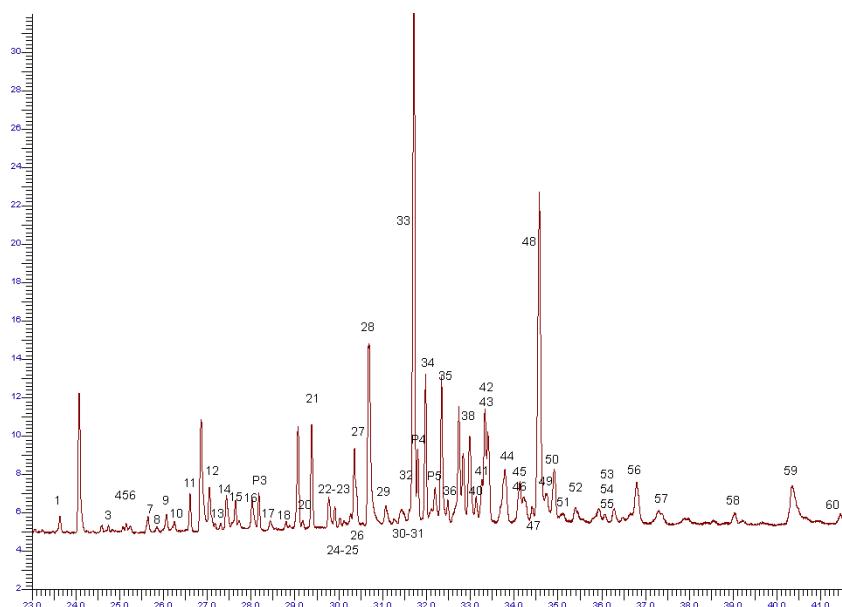


Figure 13. Profil cuticulaire de la fourmi *Pheidole pallidula* (voir Tableau 1 pour l'identification des composés).

Tableau 1. Caractérisation chimique et proportion relative (% moyen ± erreur standard) des composés cuticulaires identifiés chez la fourmi *Pheidole pallidula*. Aa : alcane, Aè : alcène, Mc : monométhyle alcane, Dc : diméthyle alcane, Tc : triméthyle alcane.

Pic n°	Composés chimiques		% moyen	SE
1	5-Methyl C25	Mc	1,533%	0,335%
3	7-Methyl C25	Mc	0,429%	0,144%
4	5-Methyl C25	Mc	0,480%	0,061%
5	C26:1	Aè	0,204%	0,037%
6	n-C26	Aa	0,506%	0,097%
7	non déterminé		0,674%	0,115%
8	6-Methyl C26	Mc	0,618%	0,085%
9	non déterminé		0,229%	0,061%
10	non déterminé		0,151%	0,034%
11	C27:1	Aè	0,457%	0,083%
12	n-C27	Aa	2,030%	0,223%
14	9- + 11- + 13-Methyl C27	Mc	1,386%	0,147%
15	7-Methyl C27	Mc	0,033%	0,012%
16	5-Methyl C27	Mc	0,738%	0,093%
17	3-Methyl C25	Mc	1,211%	0,077%
18	n-C28	Aa	1,847%	0,114%
20	12- + 13- + 14-Methyl C28	Mc	0,461%	0,094%
21	4-Methyl C28	Mc	0,319%	0,049%
22	C29:1	Aè	3,605%	0,317%
23	non déterminé		0,138%	0,032%
24	n-C29	Aa	3,649%	0,221%
25	11- + 13- + 15-Methyl C29	Mc	1,232%	0,072%
26	7-Methyl C29	Mc	0,639%	0,041%
27	5-Methyl C29	Mc	0,339%	0,038%
28	non déterminé		0,210%	0,039%
29	7,11-Dimethyl C29	Dc	0,353%	0,030%
30	3-Methyl C29	Mc	2,826%	0,152%
31	n-C30	Aa	3,965%	0,339%
32	3,15-Dimethyl C29	Dc	1,338%	0,117%
33	non déterminé		0,133%	0,024%
34	13- + 14- + 15- Methyl C30	Mc	1,013%	0,094%
35	4-Methyl C30	Mc	0,252%	0,042%
36	C31:1	Aè	13,401%	0,838%
38	n-C31	Aa	4,128%	0,245%
40	11- + 13- + 15- Methyl C31	Mc	3,446%	0,161%
41	non déterminé		0,471%	0,046%
42	11,15- + 13,15-Dimethyl C31	Dc	4,633%	0,219%
43	7,15-Dimethyl C31	Dc	2,839%	0,252%
44	3-Methyl C31	Mc	3,878%	0,283%
45	5,x-Dimethyl C31	Dc	1,103%	0,055%
46	non déterminé		1,153%	0,134%
47	n-C32	Aa	5,266%	0,226%
48	5,10,12-Trimethyl C31	Tc	4,380%	0,248%
49	8- + 9- + 10- + 11- + 12-Methyl C32	Mc	4,646%	0,208%
50	non déterminé		1,990%	0,151%
51	non déterminé		0,849%	0,193%
52	C33:1	Aè	0,552%	0,040%
53	C33:1	Aè	4,940%	0,386%
54	non déterminé		0,280%	0,061%
55	non déterminé		2,498%	0,138%
56	n-C33	Aa	0,019%	0,011%
57	15- + 17-Methyl C33	Mc	0,518%	0,054%
58	7,13-Dimethyl C33	Dc	0,831%	0,110%
59	non déterminé		0,142%	0,036%
60	non déterminé		0,571%	0,052%
61	n-C34	Aa	2,829%	0,166%
62	10- + 11- + 12- + 13-Methyl C34	Mc	0,983%	0,153%
64	non déterminé		0,114%	0,046%
66	7-Methyl C35	Mc	0,040%	0,036%
67	non déterminé		0,252%	0,047%
68	n-C36	Aa	0,251%	0,063%

L'analyse en composantes principales (ACP) effectuée sur 34 nids (le profil d'un nid n'a pas été suffisamment clair pour être pris en compte dans nos analyses statistiques) montre que les deux premiers axes factoriels (axes 1 et 2) cumulent 68,31 % de la variabilité totale (56,15 % et 12,16 %, respectivement ; Figure 14). La figure 15 présente l'apport des variables au plan [axe 1 x axe 2].

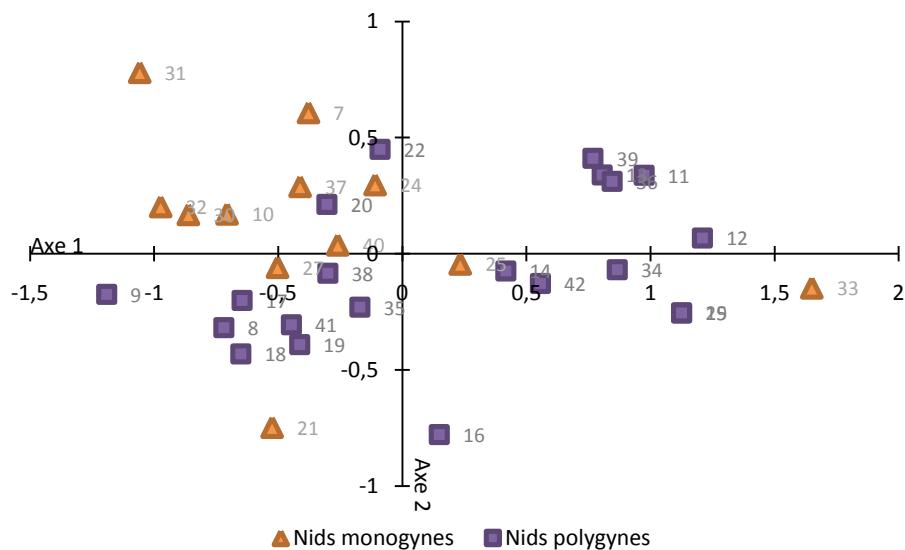


Figure 14. Représentation des nids monogynes et polygynes dans l'espace des axes factoriels 1 et 2. 68,31 % de la variabilité totale est exprimée par ces 2 axes (56,15 % et 12,16 %, respectivement).

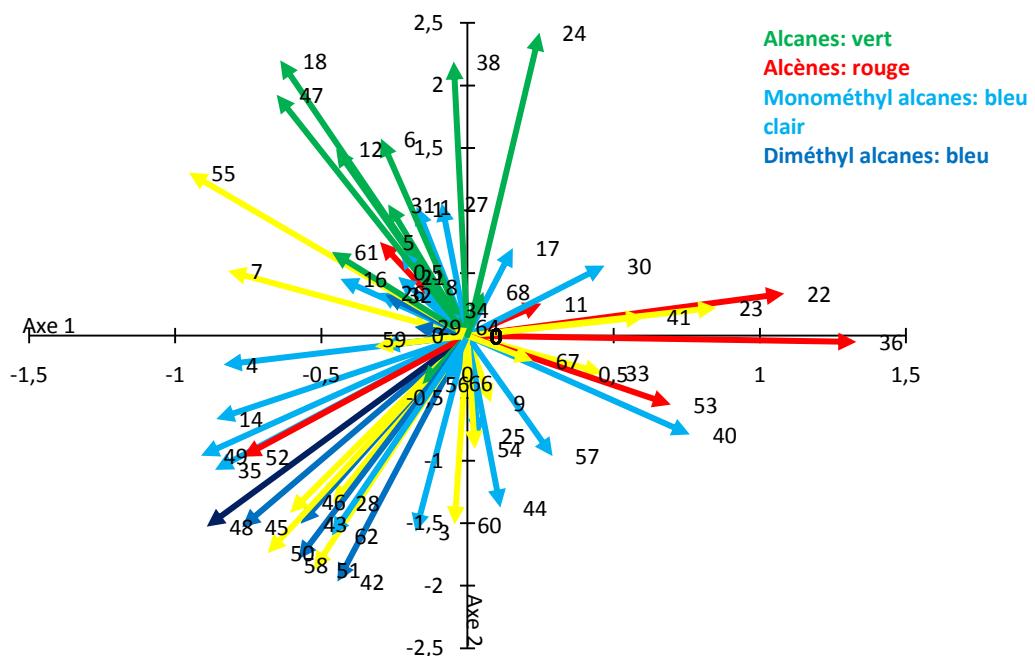


Figure 15. Représentation des composés chimiques dans l'espace des axes factoriels 1 et 2.

Les résultats de l'ACP et de la classification ascendante hiérarchique (méthode de Ward sur les distances euclidiennes) (Figure 16) identifient deux groupes distincts A et B regroupant respectivement 13 et 21 nids. Nos analyses montrent que ce sont principalement les alcènes qui sont responsables de cette différentiation.

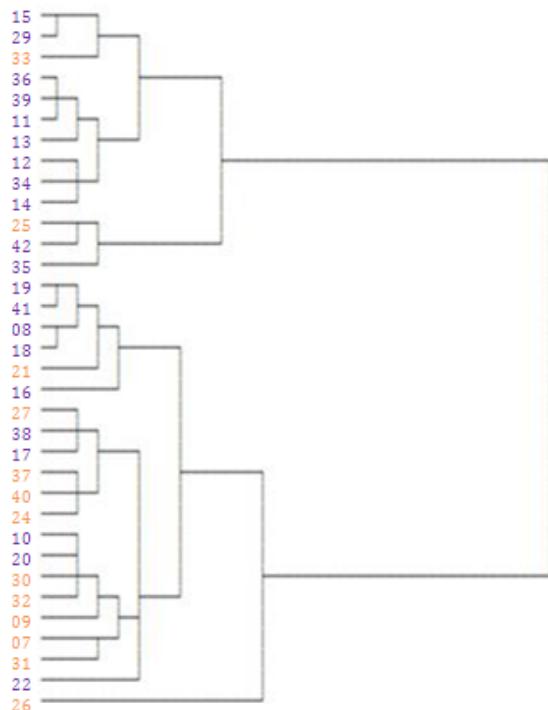


Figure 16. Dendrogramme issu de la classification ascendante hiérarchique (méthode de Ward sur les données euclidiennes) des 34 nids de la fourmi *P. pallidula*. Les nids monogynes sont représentés en orange et les nids polygynes en violet.

Les interactions comportementales entre nids du groupe A sont significativement moins agressives que celles entre nids du groupe B ($2,389 \pm 0,150$ et $3,101 \pm 0,078$, respectivement ; test de Mann-Whitney, $p < 0,001$). De même, les distances génétiques entre nids du groupe A sont significativement plus faibles que celles entre nids du groupe B ($0,087 \pm 0,007$ et $0,165 \pm 0,006$, respectivement ; test de Mann-Whitney, $p < 0,001$). Ces résultats reflètent la combinaison de structure sociale des nids confrontés (le groupe A est formé de 11 nids polygynes et de 2 nids monogynes, le groupe B est formé de 10 nids polygynes et de 10 nids monogynes), et corroborent nos résultats précédents, à savoir (i) les ouvrières issues de sociétés monogynes sont plus agressives que celles issues de sociétés polygynes, et (ii) les distances génétiques séparant les paires de nids agressifs sont plus grandes que celles séparant les nids non-agressifs.

1. Diversité chimique

La diversité chimique mesurée par l'indice de Nei varie de 0,901 à 0,967 et est en moyenne égale à $0,947 \pm 0,003$. Les profils chimiques des paires de nids agressifs sont significativement plus diversifiés que ceux des paires de nids non-agressifs ($0,949 \pm 0,001$ et $0,944 \pm 0,001$, respectivement ; test de Mann-Whitney, $p < 0,001$; Figure 17). Cette agressivité est corrélée à l'indice moyen de diversité chimique : plus la diversité est élevée, plus l'agressivité est forte ($r_s = 0,178$, $p < 0,001$). A l'inverse, la différence de diversité chimique entre nids ne diffère pas entre paires de nids agressifs et paires de nids non-agressifs ($0,018 \pm 0,001$ et $0,020 \pm 0,001$, respectivement ; test de Mann-Whitney, $p = 0,959$; Figure 17). L'agressivité n'est pas associée à la différence de diversité chimique entre les nids ($r_s = 0,061$, $p = 0,184$).

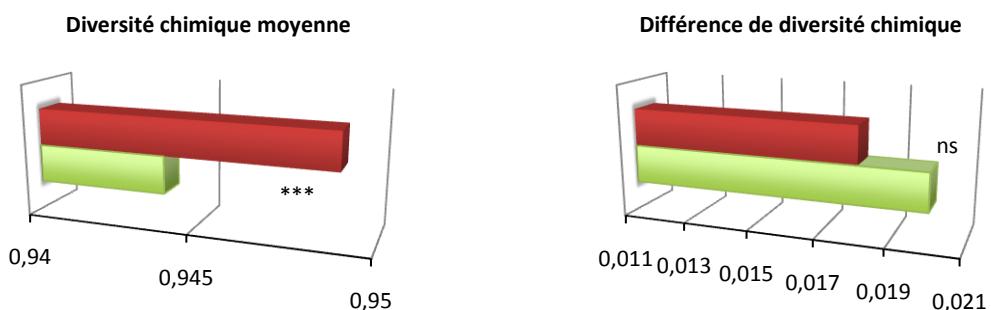


Figure 17. Diversité chimique moyenne et différence de diversité chimique entre paires de nids agressifs (en rouge) et paires de nids non-agressifs (en vert). Tests de Mann-Whitney : ns : non significatif, * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$.

2. Distances chimiques

Les distances euclidiennes varient de 0 à 0,283 et sont égales en moyenne à $0,117 \pm 0,002$. Ces distances ne sont pas différentes entre paires de nids agressifs ($0,115 \pm 0,023$) et paires de nids non-agressifs ($0,121 \pm 0,004$; test de Mann-Whitney, $p = 0,878$). Il n'y a pas d'association entre la distance chimique et l'agressivité ($r_s = 0,088$, $p = 0,054$; Figures 18 et 21).

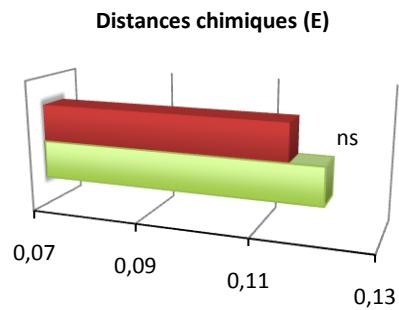


Figure 18. Distances chimiques (E) entre paires de nids agressifs (en rouge) et paires de nids non-agressifs (en vert). Tests de Mann-Whitney : ns : non significatif, * : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$.

D. Relations entre les données géographiques, génétiques et chimiques

1. Mesures de diversité

L'indice moyen de diversité chimique au sein des nids monogynes ($0,949 \pm 0,002$) n'est pas différent de celui observé au sein des nids polygynes ($0,945 \pm 0,002$; test de Mann-Whitney, $p = 0,235$, Figure 19). Il n'y a pas non plus d'association entre la diversité chimique et le nombre d'allèles ($r_S = -0,160$, $p = 0,446$).

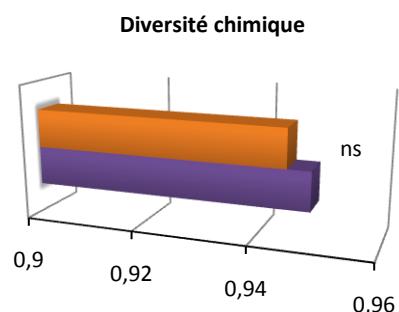


Figure 19. Diversité chimique moyenne des sociétés monogynes (en orange) et polygynes (en violet). Tests de Mann-Whitney : ns : non significatif, * : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$.

2. Mesures de distances

Les distances génétiques et les distances chimiques sont reportées dans la Figure 20 en fonction de la combinaison des structures sociales des nids confrontés. Comme attendu, les distances génétiques sont plus élevées entre nids monogynes ($0,265 \pm 0,008$) et plus faibles entre nids polygynes ($0,071 \pm 0,002$; test de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$, suivi de

procédures de Dunn ; Figure 20). De même, les distances chimiques sont plus élevées entre nids monogynes ($0,127 \pm 0,007$) qu'entre nids polygynes ($0,105 \pm 0,003$; test de Kruskal-Wallis, $p = 0,010$, suivi de procédures de Dunn ; Figure 20).

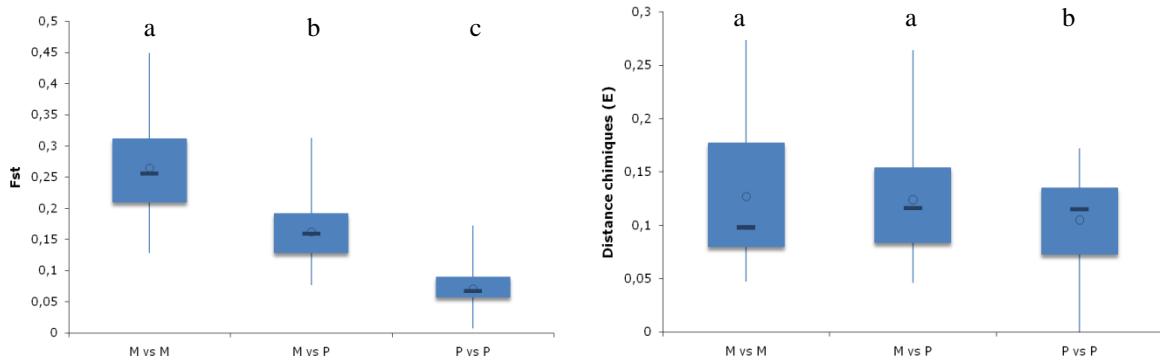


Figure 20. Distances génétiques (à gauche) et distances chimiques (à droite) entre paires de nids monogynes (M vs. M), polygynes (P vs. P) et mixtes (M vs. P). Les rectangles s'étendent du premier au troisième quartile ; la médiane et la moyenne sont respectivement représentées par — et O ; les segments correspondent aux valeurs minimales et maximales observées. Tests de Kruskal-Wallis suivi de procédures de Dunn ; les lettres différentes indiquent une différence significative.

Nos résultats montrent qu'il n'y a pas d'association entre les distances géographiques et les distances génétiques ($r_s = -0,028$, $p = 0,491$), ni entre les distances géographiques et les distances chimiques ($r_s = 0,066$, $p = 0,118$; Figure 21). A l'inverse, les distances chimiques sont étroitement associées aux distances génétiques ($r_s = 0,157$, $p < 0,001$; Figure 21).

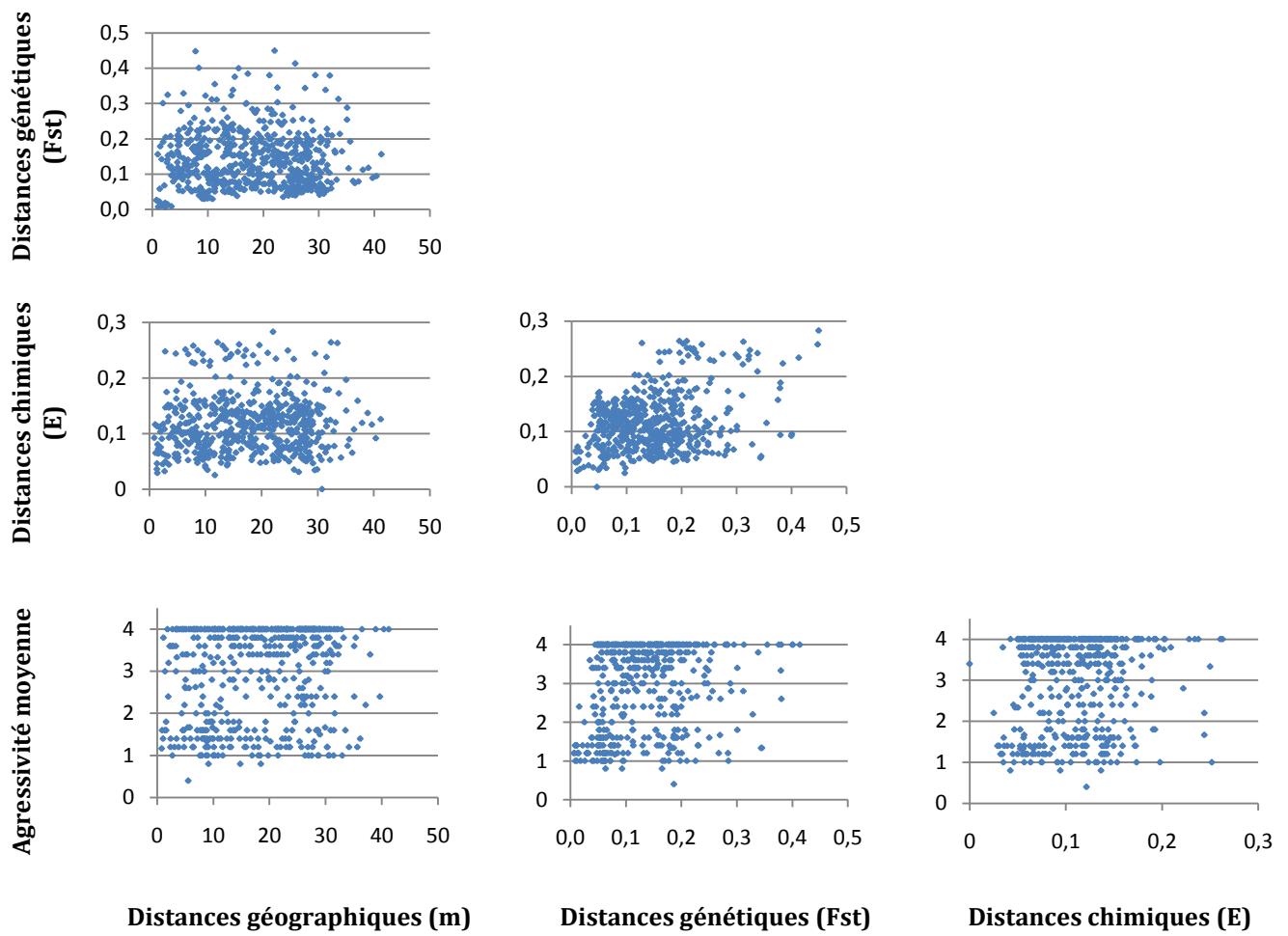


Figure 21. Associations entre les distances géographiques (m), génétiques (F_{ST}), chimiques (E) et comportementales (niveaux d'agressivité) entre paires de nids de la fourmi *Pheidole pallidula*. Seules les corrélations entre les distances chimiques et génétiques et les distances comportementales et génétiques sont significatives ($p < 0,001$).

V. Discussions et conclusions générales

Ce travail avait pour objectif d'estimer le taux d'agressivité intercoloniale chez la fourmi *Pheidole pallidula* et de mettre en relation cette agressivité avec la structure sociale (monogyne ou polygyne) des sociétés, leurs indices de diversité génétique et chimique, et leurs distances géographiques, génétiques et chimiques. Nos résultats montrent que 63% des interactions observées sont agressives, et que cette agressivité est dépendante de facteurs géographiques, génétiques et chimiques. (1) Les ouvrières issues de nids proches géographiquement (distance seuil < 4,5 m) sont moins agressives entre elles que si elles sont issues de nids plus éloignés. (2) Les comportements sont plus souvent agressifs entre ouvrières de nids monogynes qu'entre ouvrières de nids polygynes. (3) L'intensité de l'agressivité est proportionnelle, d'une part, à la diversité génétique intrinsèque des nids (plus la diversité est réduite, plus l'agressivité est forte) et, d'autre part, à la distance génétique entre les nids (plus les nids sont proches génétiquement, moins les ouvrières sont agressives). (4) Les paires de nids dont les ouvrières respectives se sont montrées agressives ont une diversité chimique plus élevée que les paires de nids où les ouvrières se sont montrées non agressives.

Nos analyses comportementales montrent que les ouvrières de *P. pallidula* sont souvent agressives envers les congénères d'autres nids. Des issues non-agressives de confrontations sont néanmoins observées, et ceci tant entre ouvrières appartenant à des nids proches qu'entre ouvrières provenant de nids éloignés. Toutefois, globalement les ouvrières de nids situés à moins de 4,5 m de distance sont significativement moins agressives entre elles que lorsqu'elles proviennent de nids plus éloignés. En confrontant 10 fourmis de sociétés proches ou distantes, Langen *et al.* (2000) ont également constaté une forte variabilité des réponses comportementales chez deux espèces de *Pheidole* californiennes, *P. xerophylla* et *P. gilvescens*, certains nids manifestant plus d'agressivité envers les ouvrières issues de nids voisins, et d'autres plus d'agressivité envers les nids plus éloignés. Cependant, à l'instar de nos résultats, ces auteurs ont trouvé une agressivité significativement plus faible entre nids proches en ne considérant que les nids voisins situés dans un périmètre de 2,6 m. Langen *et al.* (2000) ont alors suggéré que la réduction de l'agressivité entre nids proches reposeraient sur des correspondances environnementales et/ou génétiques entre nids voisins. L'environnement peut créer de telles correspondances et prendre une importance considérable sur le niveau

d'agressivité, allant même jusqu'à supplanter les parentés entre nids (Breed 1983; Crosland 1989; Heinze *et al.* 1996; Jutsum 1979; Liang & Silverman 2000; Wilson 1971) surtout si l'environnement est très hétérogène (Pirk *et al.* 2001). Notre étude a porté sur une population recouvrant 1600 m² et où l'environnement des nids semble relativement identique. Bien que l'on ne puisse pas totalement exclure le rôle des variations environnementales sur le niveau d'agressivité intraspécifique, cette hypothèse semble peu vraisemblable. En outre, plusieurs études ayant mis en évidence une association entre l'agressivité et la distance géographique ont été effectuées dans des habitats semblant uniformes (forêt : Jutsum 1979; Thomas *et al.* 1999 ; zones désertiques : Langen *et al.* 2000; Tripet *et al.* 2006). A l'inverse, le facteur génétique semble fortement influencer le niveau d'agressivité chez *P. pallidula*. D'une part, nos données montrent que la relation entre agressivité et distances géographiques ne se vérifie que pour les nids polygynes, pas pour les nids monogynes. Ceci suggère que la structure sociale, plutôt que des interactions de type *dear enemy*, influence l'agressivité entre nids. D'autre part, les distances génétiques sont significativement plus faibles entre nids non-agressifs qu'entre nids agressifs, et la diversité génétique des nids non-agressifs est significativement plus élevée que celle des nids agressifs.

Selon Langen *et al.* (2000), le pattern de *dear enemy* observé chez *Pheidole xerophylla* et *P. gilvescens*, serait issu d'un mécanisme de reconnaissance entre individus originaires de nids voisins reposant sur des effets d'apprentissage. Ce mécanisme l'emporterait alors sur d'autres influences potentielles, notamment génétiques et environnementales. Leur étude montre que des groupes d'ouvrières maintenus en contact deviennent, par habituation, moins agressifs entre eux que des groupes n'ayant jamais interagi. De la même manière, chez la fourmi *Acromyrmex lobicornis* il n'apparaît aucune relation entre l'agressivité intercoloniale et la divergence génétique des nids (mesurée sur base de quatre isozymes), ce qui supporte l'hypothèse de l'habituation pour expliquer le pattern de *dear enemy* observé dans les relations agressives entre nids (Dimarco *et al.* 2010). Ne pouvant définitivement exclure une influence génétique sur l'agressivité, les auteurs modèrent néanmoins leurs résultats. Il faut cependant noter que, dans ce type d'expérience, les contacts entre ouvrières sont susceptibles de s'accompagner de transferts de substances odorantes (cf. par exemple Liang & Silverman 2000). Ainsi, les profils des odeurs de chaque groupe pourraient se

rapprocher et simuler un effet d'apprentissage, la distinction entre individus devenant impossible.

Notre travail vient donc renforcer les études précédentes et soutient l'hypothèse que le cher ennemi apparaîtrait plutôt entre individus ou nids défendant un territoire multifonctionnel qu'entre groupes défendant des territoires de fourragement (Temeles 1994). En effet, la plupart des fourmis défendent des territoires correspondant à l'aire nécessaire pour l'acquisition des ressources nutritives (Wilson 1971). Ainsi, la menace que représente un voisin immédiat est pareille à celle liée à un individu inconnu, voire supérieure : chez les fourmis *Pogonomyrmex barbatus* (Gordon 1989) et *Cataglyphis fortis* (Knaden & Wehner 2003), les voisins sont traités de façon plus agressive que les étrangers, les premiers étant susceptibles de convoiter une ressource commune, les seconds n'étant que des individus égarés. Dans le cas de *P. pallidula*, les nids ont une taille relativement importante et les sociétés ne se déplacent pas, ou très rarement (notamment après la destruction du nid). Des individus non familiers rencontrés dans le territoire de fourragement ne sont donc pas à la recherche d'un territoire comme c'est le cas pour *Leptothorax nylanderi* où le phénomène du cher ennemi a été montré au niveau intra- et interspécifique (Heinze *et al.* 1996). Les sociétés de cette espèce nidifient dans des morceaux de bois tombés au sol, et changent souvent de nid, parce qu'il devient trop petit ou se décompose ; si une fourrageuse originaire d'une société distante géographiquement est rencontrée, celle-ci peut être à la recherche d'un nid favorable et ainsi menacer la société résidente. En outre, chez *P. pallidula*, le coût énergétique lié à la défense du territoire pourrait être contrebalancé par leur efficacité dans le recrutement de congénères : les *minor*, de petite taille et vraisemblablement peu coûteuses à produire, immobilisent les intrus et recrutent des *major*, plus gros et plus coûteux à la société mais dont la fonction est de mettre à mort les individus déjà immobilisés (Detrain & Pasteels 1992).

Nos résultats montrent également que l'agressivité des ouvrières de la fourmi *P. pallidula* dépend de la structure sociale des nids. Les ouvrières issues de nids monogynes sont plus agressives que celles issues de nids polygynes. La forte association entre le nombre de reines dans une société et le niveau d'agressivité a surtout été mis en évidence pour des comparaisons entre espèces ou entre différentes populations d'une espèce donnée (comparaisons interspécifiques : Bennett 1989; Breed & Bennett 1987;

Hölldobler & Wilson 1977 ; comparaisons intraspécifiques, interpopulations : *Leptothorax lichsteini*, Provost 1989 ; *Solenopsis invicta*, Morel *et al.* 1990; Vander Meer & Alonso 2002 ; *Formica truncorum*, Sundström 1997). Chez la fourmi de feu *S. invicta*, les individus originaires de populations monogynes sont généralement plus agressifs que ceux issus des populations polygynes (Morel *et al.* 1990; Vander Meer & Alonso 2002). Mais cette espèce pourrait représenter un cas particulier, car la différence entre les formes monogynes et polygynes est liée à la ségrégation singulière des allèles *B* et *b* du gène *Gp-9* (Ross & Keller 1998, 2002). Par ailleurs, les variations du niveau d'agressivité entre populations, et encore plus entre espèces, peuvent dépendre de nombreuses variables : les conditions environnementales peuvent facilement influencer la structure sociale en même temps que le niveau d'agressivité sans que la première caractéristique ne provoque en aucune sorte la deuxième. Il paraît donc important d'évaluer les effets de la parenté intranidale dans des populations mixtes de nids mono- et polygynes. Deux études portant sur une seule population mixte de *Leptothorax ambiguus* (Stuart 1991) et *Rhytidoponera confusa* (Crosland 1990) n'ont pas trouvé les différences prédictes (monogynes plus agressives que polygynes). Stuart (1991) suggère que l'absence d'association entre la structure sociale et le niveau d'agressivité montre que le degré de parenté intranidal n'a pas d'effet proximal sur l'agressivité. Les pressions de sélection sur des espèces apparentées dans différents habitats pourraient en fait favoriser des niveaux d'agressivité distincts, en même temps que différentes structures sociales. En effet, un habitat dans lequel les deux formes sociales seraient aussi compétitives l'une que l'autre ne les conditionnerait pas à être d'une agressivité différente. Chez la fourmi *Formica selysi*, les ouvrières des nids mono- et polygynes sont capables de reconnaître des individus appartenant – ou non – à leur nid, et leur capacité de reconnaissance n'est pas affectée par la structure sociale monogyne ou polygyne du nid (Rosset *et al.* 2007). En particulier, les ouvrières des nids contenant plusieurs reines reconnaissent des individus étrangers malgré l'augmentation de la diversité génétique dans leur nid. Toutefois, le niveau d'agression est plus élevé entre nids monogynes et polygynes, qu'au sein de chaque type de structure sociale, ce qui suggère que les ouvrières pourraient détecter un signal spécifique à la structure sociale du nid.

La perte d'agressivité entre ouvrières appartenant à des nids distincts a souvent été attribuée à des modifications du système de reconnaissance coloniale, la polygynie étant un facteur sous-jacent à ces modifications. Il est important de distinguer deux

processus distincts pouvant conduire à une réduction de l'agressivité intercoloniale. Premièrement, en supposant que les signaux de reconnaissance sont au moins en partie génétiquement déterminés, la présence de plusieurs reines dans un nid augmente la diversité génétique, ce qui à son tour augmente la diversité des signaux permettant la reconnaissance. C'est cette augmentation de la diversité des signaux au sein des nids qui conduit à un recouvrement de signaux de reconnaissance entre nids, et donc à une réduction de la précision de la reconnaissance coloniale, voire à l'absence de reconnaissance. Deuxièmement, la polygynie est souvent associée à la polydomie, les sociétés issues d'un bourgeonnement gardant des relations étroites entre elles et avec le nid mère (Debout *et al.* 2007; Kümmerli & Keller 2007). Dans de telles structures polydomiques, l'absence d'agressivité entre nids voisins reflète leur origine commune (Helanterä *et al.* 2009). Chez *P. pallidula*, des ouvrières issues de nids monogynes peuvent être non-agressives (agressivité moyenne = 1,2 entre les nids monogynes 7 et 37), et des nids polygynes peuvent montrer une agressivité maximale (agressivité de 4 entre les nids polygynes 8 et 9). A l'inverse, le nid polygyne 8 et le nid monogyne 32 ne sont pas agressifs l'un envers l'autre (agressivité moyenne = 1,2) et présentent une distance génétique relativement modérée ($Fst = 0,104$). Ces résultats tendent donc à privilégier pour *P. pallidula* l'hypothèse selon laquelle la réduction d'agressivité repose sur des liens qui persistent entre sociétés, ces liens ne se traduisant pas forcément par le maintien de relations directes entre ouvrières. Ces relations pourraient être le reflet des stratégies de dispersion. En effet, la fondation des sociétés de *P. pallidula* s'effectue selon deux modes : (1) à la suite d'un vol nuptial qui permet de disperser les sexués à longue distance et assure ainsi un brassage génétique au sein de la population. (2) Le deuxième mode de fondation s'effectue par bourgeonnement : une jeune reine quittant à pattes avec une force ouvrière sa société d'origine pour fonder sa propre société à proximité (Fournier *et al.* 2002). Les sociétés qui auront été fondées par bourgeonnement ont des caractéristiques génétiques et environnementales communes avec les sociétés qui les entourent, et sont donc moins enclines à être agressives. A l'inverse, les sociétés fondées à la suite d'un vol nuptial se dispersent aléatoirement dans la population, mais partagent un patrimoine génétique avec leur société d'origine. On peut donc imaginer qu'il existe chez *P. pallidula* un support de reconnaissance traduisant une origine commune, et que des ouvrières, lorsqu'elles se rencontrent, puissent évaluer cette proximité génétique. En accord avec cette hypothèse, nos résultats montrent que l'agressivité est

significativement associée aux distances génétiques indépendamment des distances géographiques. Par exemple, les nids 22 et 41 sont distants de plus de 20 mètres, mais leurs ouvrières sont génétiquement proches ($Fst = 0,072$, $ASD = 0,551$) et ne sont pas agressives entre elles (agressivité moyenne = 1). À l'inverse, les nids 21 et 30 ne sont distants que de 2 mètres, mais leurs ouvrières présentent une divergence génétique marquée ($Fst = 0,301$) et partagent une faible proportion de gènes ($ASD = 0,793$) ; les ouvrières de ces deux nids se montrent très agressives (agressivité moyenne = 3,4).

Contrairement à ce qui est généralement observé chez les fourmis, nos résultats montrent que les ouvrières issues des sociétés monogynes ont des profils en hydrocarbures cuticulaires plus diversifiés que les ouvrières provenant des nids polygynes. Néanmoins, comme nous l'avons mentionné ci-dessus, les ouvrières appartenant aux nids monogynes sont plus souvent agressives que celles appartenant à des nids polygynes. Il ressort donc de ces résultats que la réduction d'agressivité des nids polygynes de *P. pallidula* ne peut s'expliquer uniquement par une augmentation du nombre de signaux de reconnaissance, elle-même liée à l'augmentation de la diversité génétique. Un résultat similaire a été observé chez la fourmi *Formica exsecta* (Martin *et al.* 2009). Chez cette espèce, le support de la reconnaissance coloniale est basé sur les variations des proportions de Z9-alcènes (*i.e.* des hydrocarbures de 23, 25, 27 et 29 carbones présentant une double liaison de stéréochimie Z en position 9 (Z9-Cn:1)) (Martin *et al.* 2008). Dans les populations polygynes, les variations des profils en Z9-alcènes sont plus restreintes que celles des populations monogynes (Martin *et al.* 2009). Les auteurs suggèrent que la variabilité des signaux responsables de la reconnaissance coloniale des populations polygynes a été contre-sélectionnée au profit d'une variabilité permettant une reconnaissance de l'espèce. En effet, ces populations polygynes de *F. exsecta* vivent en sympatrie avec d'autres espèces de fourmis (*F. lemani*, *F. candida* and *F. japonica* (type 2)) qui portent également des profils cuticulaires riches en Z9-alcènes, qui occupent des habitats identiques ou adjacents, et dont les vols nuptiaux ont lieu aux mêmes moments. Dès lors, les coûts associés à des accouplements entre espèces différentes constituent une pression de sélection suffisamment forte pour que se mette en place un signal spécifique à l'espèce. Il est toutefois à noter, comme nous l'avons fait précédemment, que ce travail porte sur des populations différentes. Il paraît donc nécessaire d'étendre ces investigations à des populations constituées de nids mono- et polygynes mélangés. Cette hypothèse pourrait néanmoins suggérer la mise en place

d'une forme d'isolement reproductif entre les structures sociales monogynes et polygynes des nids de *P. pallidula*. De par cet isolement reproductif, nous devrions alors mesurer des distances génétiques et chimiques significativement plus élevées dans les comparaisons inter- structure sociale qu'entre comparaisons intra- structure sociale, ce que nous n'observons pas.

Le rôle des hydrocarbures cuticulaires dans la reconnaissance a été démontré chez de nombreuses espèces d'insectes sociaux (voir les synthèses de D'Ettorre & Lenoir 2009; Lenoir *et al.* 1999; Singer *et al.* 1998; van Zweden & D'Ettorre 2010). Contrairement à ces travaux, nos résultats montrent que les distances chimiques mesurées à partir des profils cuticulaires des ouvrières ne sont pas associées à l'agressivité entre les nids. Les ouvrières dont les profils cuticulaires sont forts différents ne sont pas plus agressives que celles dont les profils sont proches. Au moins trois hypothèses permettent d'expliquer l'absence de relation entre la distance chimique et l'agressivité chez *P. pallidula*. *Primo*, la reconnaissance s'appuierait sur des composés spécifiques. Nos analyses sur l'ensemble des composés cuticulaires ne permettraient pas de cibler et de discriminer avec précision de tels composés. Chez l'abeille *Apis mellifera*, il a été montré que parmi les hydrocarbures, la reconnaissance des membres du groupe s'appuie davantage sur les alcènes que sur les alcanes (Châline *et al.* 2005; Dani *et al.* 2005). Chez les fourmis *Formica japonica* (Akino *et al.* 2004) et *F. exsecta* (Martin *et al.* 2008), ce sont respectivement sur les alcènes et sur une classe d'alcènes (Z9-Cn:1) que porte la reconnaissance coloniale. Notre analyse en composantes principales indique que les alcènes sont responsables d'une différenciation des nids en deux groupes distincts (Figures 15 et 16). Des analyses complémentaires sont à mener pour définir précisément le rôle de ces alcènes dans la reconnaissance coloniale chez *P. pallidula*. *Secundo*, la reconnaissance s'appuierait sur d'autres composés que des hydrocarbures cuticulaires. Il a par exemple été montré chez l'abeille *Apis mellifera* que les acides gras et les esters interviennent dans la reconnaissance (Breed 1998). Le support de cette reconnaissance pourrait également être un composé que notre méthode d'extraction et/ou de caractérisation ne peut mettre en évidence, comme des composés à courte chaîne carbonée ou des composés volatiles. *Tertio*, la reconnaissance coloniale ne reposerait pas sur un critère chimique, mais sur un critère autre, visuel ou acoustique. Chez les insectes sociaux, il a par exemple été montré que le pattern facial et les marques abdominales de la guêpe *Polistes dominulus* permettent la reconnaissance

individuelle (Tibbetts 2004; Tibbetts & Dale 2004). Cette dernière hypothèse paraît néanmoins difficilement applicable pour la fourmi *P. pallidula* dont les sociétés contiennent un grand nombre d'individus. Des analyses complémentaires, en lavant des individus de leurs composés cuticulaires et/ou en habillant des individus d'autres profils que le leur ou de composés chimiques connus, pourraient être menées pour préciser le support de la reconnaissance coloniale chez *P. pallidula*.

En dehors des facteurs génétiques et chimiques, d'autres paramètres peuvent influencer l'agressivité des individus. Par exemple, il a été montré que les grandes ouvrières de la fourmi *Cataglyphis niger* sont plus agressives que les petites (Nowbahari *et al.* 1999), ou que les ouvrières âgées sont plus agressives que les jeunes (*Myrmica rubra*, Cammaerts-Tricot 1975 ; *Solenopsis invicta*, Sorensen & Fletcher 1985). Chez plusieurs espèces de fourmis, l'agressivité varie au cours des saisons, en fonction de la disponibilité des ressources alimentaires et/ou de la présence de couvain (*Formica polyctena*, Mabelis 1979 ; *Paratrechina flavipes*, Ichinose 1991 ; *Plagiolepis pygmaea*, Thurin & Aron 2008), ou encore des pressions qu'exercent les parasites sociaux sur les sociétés hôtes (*Formica rufibarbis*, D'Ettorre *et al.* 2004 ; *Temnothorax longispinosus* et *T. curvispinosus*, Brandt *et al.* 2005). Il s'avère également que le nombre d'ouvrières présents dans les nids de la fourmi *Leptothorax ambiguus* est positivement corrélé à l'agressivité (Stuart 1991). Or, les nids monogynes de *P. pallidula* contiennent environ 5000 ouvrières alors que les nids polygynes en contiennent entre 12000 et 18000 (Bonpart 1964). Ces variations d'effectifs pourraient influencer la nature des comportements. Il serait donc intéressant de pouvoir confirmer nos résultats en contrôlant l'effet du nombre d'ouvrières par société dans la relation entre structure sociale et agressivité chez *P. pallidula*.

En conclusion, notre travail démontre que deux facteurs majeurs influencent l'agressivité intercoloniale chez la fourmi *P. pallidula* : d'une part, la structure sociale (monogyne ou polygyne) des sociétés et, d'autre part, les distances génétiques entre sociétés. A l'inverse, les distances géographiques et chimiques entre nids ne semblent pas intervenir – ou dans une moindre mesure – dans les réponses comportementales lors des rencontres entre congénères. Dans la mesure où les composés chimiques restent le support principal de la reconnaissance coloniale chez les insectes sociaux, il serait intéressant de déterminer les composés chimiques permettant aux individus

d'évaluer leur proximité génétique et impliqués dans les mécanismes de reconnaissance. Par ailleurs, nos tests comportementaux révèlent des cas de comportements de thanatomimèse (*i.e.* un comportement mimétique à celui d'une ouvrière morte), ce qui suggère une reconnaissance coloniale effective, mais n'entraînant pas de comportement agressif. Des analyses complémentaires portant sur la taille des territoires, le taux d'agressivité des ouvrières en fonction de l'environnement (territoire connu, étranger ou inconnu), les vitesses de réaction des individus ou l'instigateur des combats permettraient de préciser les modalités d'expression des comportements agressifs. D'autres facteurs connus pour influencer l'agressivité des individus (variation de l'agressivité en fonction des saisons, de la taille des sociétés, de l'âge de la société, etc.) mériteraient également d'être mis à l'épreuve.

VI. Références

- Akino T, Yamamura K, Wakamura S, Yamaoka R (2004) Direct behavioral evidence for hydrocarbons as nestmate recognition cues in *Formica japonica* (Hymenoptera: Formicidae). *Applied Entomology and Zoology* **39**, 381-387.
- Arnold G, Quenet B, Cornuet J-M, et al. (1996) Kin recognition in honeybees. *Nature* **379**, 498.
- Aron S, Campan E, Boomsma JJ, Passera L (1999) Social structure and split sex ratios in the ant *Pheidole pallidula*. *Ethology, Ecology and Evolution* **11**, 209-227.
- Aron S, Passera L (2000) *Les sociétés animales* De Boeck Université, Bruxelles (Belgique).
- Bennett B (1989) Nestmate recognition systems in a monogynous-polygynous species pair of ants (Hymenoptera: Formicidae). I. Worker and queen derived cues. *Sociobiology* **16**, 121-139.
- Bernard F (1968) *Les fourmis (Hymenoptera Formicidae) d'Europe occidentale et septentrionale* Masson, Paris.
- Beye M, Neumann P, Chapuisat M, Pamilo P, Moritz RFA (1998) Nestmate recognition and the genetic relatedness of nests in the ant *Formica pratensis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **43**, 67-72.
- Beye M, Neumann P, Moritz RFA (1997) Nestmate recognition and the genetic gestalt in the mound-building ant *Formica polyctena*. *Insectes sociaux* **44**, 49-58.
- Blomquist GJ, Bagnères A-G (2010) *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology* Cambridge University Press, Cambridge.
- Bontpart H (1964) *Recherches préliminaires sur la biologie de Pheidole pallidula Nyl. (Hyménoptère Formicoidea Myrmicinae)* PhD thesis, Université de Toulouse.
- Boomsma JJ (2009) Lifetime monogamy and the evolution of eusociality. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* **364**, 3191-3207.
- Boomsma JJ, Nielsen J, Sundström L, et al. (2003) Informational constraints on optimal sex allocation in ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **100**, 8799-8804.
- Brandt M, Heinze J, Schmitt T, Foitzik S (2005) A chemical level in the coevolutionary arms race between an ant social parasite and its hosts. *Journal of Evolutionary Biology* **18**, 576-586.
- Breed MD (1983) Nestmate recognition in honey bees. *Animal Behaviour* **31**, 86-91.
- Breed MD (1998) Recognition pheromones of the honey bee. *BioScience* **48**, 463-470.
- Breed MD, Bennett B (1987) Kin recognition in highly eusocial insects. In: *Kin recognition in animals* (eds. Fletcher DJC, Michener CD), pp. 209-242. John Wiley & Sons, New York.
- Cammaerts-Tricot M-C (1975) Ontogenesis of the defence reactions in the workers of *Myrmica rubra* L. (Hymenoptera: Formicidae). *Animal Behaviour* **23**, 124-130.
- Châline N, Sandoz J-C, Martin SJ, Ratnieks FLW, Jones GR (2005) Learning and discrimination of individual cuticular hydrocarbons by honeybees (*Apis mellifera*). *Chemical Senses* **30**, 327-335.
- Chen JSC, Nonacs P (2000) Nestmate recognition and intraspecific aggression based on environmental cues in Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* **93**, 1333-1337.
- Cook JM (1993) Sex determination in the Hymenoptera - A review of models and evidence. *Heredity* **71**, 421-435.
- Cook JM, Crozier RH (1995) Sex determination and population biology in the Hymenoptera. *Trends in Ecology and Evolution* **10**, 281-286.

- Crosland MWJ (1989) Kin recognition in the ant *Rhytidoponera confusa* - 1. Environmental odour. *Animal Behaviour* **37**, 912-919.
- Crosland MWJ (1990) The influence of the queen, colony size and worker ovarian development on nestmate recognition in the ant *Rhytidoponera confusa*. *Animal Behaviour* **39**, 413-425.
- Crozier RH, Dix MW (1979) Analysis of two genetic models for the innate components of colony odor in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **4**, 217-224.
- Crozier RH, Pamilo P (1996) *Evolution of social insect colonies: sex allocation and kin selection* Oxford University Press, Oxford.
- D'Etorre P, Brunner E, Wenseleers T, Heinze J (2004) Knowing your enemies: seasonal dynamics of host-social parasite recognition. *Naturwissenschaften* **91**, 594-597.
- D'Etorre P, Lenoir A (2009) Nestmate recognition. In: *Ant ecology* (eds. Lach L, Parr C, Abbott K), pp. 194-209. Oxford University Press, Oxford.
- Dahbi A, Jaisson P, Lenoir A, Hefetz A (1998) Comment les fourmis partagent leur odeur ? *La Recherche* **314**, 32-34.
- Dani FR, Jones GR, Corsi S, et al. (2005) Nestmate recognition cues in the honey bee: differential importance of cuticular alkanes and alkenes. *Chemical Senses* **30**, 477-489.
- Debout G, Schatz B, Elias M, McKey D (2007) Polydomy in ants: what we know, what we think we know, and what remains to be done. *Biological Journal of the Linnean Society* **90**, 319-348.
- Detrain C (1989) *Polyphénisme de la caste neutre chez Pheidole pallidula (Hymenoptera, Formicidae) en relation avec la récolte de nourriture et la défense de la société* PhD thesis, Université Libre de Bruxelles.
- Detrain C, Pasteels JM (1992) Caste polyethism and collective defense in the ant, *Pheidole pallidula*: the outcome of quantitative differences in recruitment. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **29**, 405-412.
- Dimarco RD, Farji-Brener AG, Premoli AC (2010) Dear enemy phenomenon in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis*: behavioral and genetic evidence. *Behavioral Ecology* **21**, 304-310.
- Fournier D, Aron S, Keller L (2004) Significant reproductive skew in the facultatively polygynous ant *Pheidole pallidula*. *Molecular Ecology* **13**, 203-210.
- Fournier D, Aron S, Milinkovitch MC (2002) Investigation of the population genetic structure and mating system in the ant *Pheidole pallidula*. *Molecular Ecology* **11**, 1805-1814.
- Fournier D, de Biseau J-C, Aron S (2009) Genetics, behaviour and chemical recognition of the invading ant *Pheidole megacephala*. *Molecular Ecology* **18**, 186-199.
- Fournier D, Estoup A, Orivel J, et al. (2005) Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature* **435**, 1230-1234.
- Fournier D, Keller L, Passera L, Aron S (2003) Colony sex ratios vary with breeding system but not relatedness asymmetry in the facultatively polygynous ant *Pheidole pallidula*. *Evolution* **57**, 1336-1342.
- Franks N, Blum M, Smith R-K, Allies AB (1990) Behavior and chemical disguise of cuckoo ant *Leptothorax kutteri* in relation to its host *Leptothorax acervorum*. *Journal of Chemical Ecology* **16**, 1431-1444.
- Gadau J, Fewell J (2009) *Organization of insect societies: from genome to sociocomplexity* Harvard University Press, London.
- Gordon DM (1989) Ants distinguish neighbors from strangers. *Oecologia* **81**, 198-200.

- Goudet J (2001) Fstat, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Institute of Ecology, University of Lausanne, Switzerland.
- Guerrieri FJ, Nehring V, Jørgensen CG, et al. (2009) Ants recognize foes and not friends. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **276**, 2461-2468.
- Hamilton WD (1964) The genetical evolution of social behaviour. I. *Journal of Theoretical Biology* **7**, 1-16.
- Heinze J, Foitzik S, Hippert A, Hölldobler B (1996) Apparent dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nylanderii*. *Ethology* **102**, 510-522.
- Helanterä H, Strassmann JE, Carrillo J, Queller DC (2009) Unicolonial ants: where do they come from, what are they and where are they going? *Trends in Ecology and Evolution* **24**, 341-349.
- Hölldobler B, Wilson EO (1977) The number of queens: an important trait in ant evolution. *Naturwissenschaften* **64**, 8-15.
- Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants* Springer-Verlag, Berlin.
- Holmes WG, Sherman PW (1982) The ontogeny of kin recognition in two species of ground squirrels. *American Zoologist* **22**, 491-517.
- Holzer B, Kümmerli R, Keller L, Chapuisat M (2006) Sham nepotism as a result of intrinsic differences in brood viability in ants. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **273**, 2049-2052.
- Howard RW, Blomquist GJ (2005) Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annual Review of Entomology* **50**, 371-393.
- Ichinose K (1991) Seasonal variation in nestmate recognition in *Paratrechina flavipes* (Smith) worker ants (Hymenoptera: Formicidae). *Animal Behaviour* **41**, 1-6.
- Jutsum AR (1979) Interspecific aggression in leaf-cutting ants. *Animal Behaviour* **27**, 833-838.
- Kasuya E (2001) Mann-Whitney *U* test when variances are unequal. *Animal Behaviour* **61**, 1247-1249.
- Katzerke A, Neumann P, Pirk CWW, Bliss P, Moritz RFA (2006) Seasonal nestmate recognition in the ant *Formica exsecta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **61**, 143-150.
- Keller L (1997) Indiscriminate altruism: unduly nice parents and siblings. *Trends in Ecology and Evolution* **12**, 99-103.
- Knaden M, Wehner R (2003) Nest defense and conspecific enemy recognition in the Desert ant *Cataglyphis fortis*. *Journal of Insect Behavior* **16**, 717-730.
- Kümmerli R, Keller L (2007) Contrasting population genetic structure for workers and queens in the putatively unicolonial ant *Formica exsecta*. *Molecular Ecology* **16**, 4493-4503.
- Langen TA, Tripet F, Nonacs P (2000) The red and the black: habituation and the dear-enemy phenomenon in two desert *Pheidole* ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **48**, 285-292.
- Lenoir A, Fresneau D, Errard C, Hefetz A (1999) Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: *Information processing in social insects* (eds. Detrain C, Deneubourg J-L, Pasteels JM), pp. 219-237. Birkhäuser, Basel.
- Liang D, Silverman J (2000) "You are what you eat": diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften* **87**, 412-416.

- Mabelis AA (1979) Wood ant wars: the relationship between aggression and predation in the red wood ant (*Formica polyctena* Forst.). *Netherlands Journal of Zoology* **29**, 451-620.
- Martin SJ, Helanterä H, Kiss K, Lee YR, Drijfhout FP (2009) Polygyny reduces rather than increases nestmate discrimination cue diversity in *Formica exsecta* ants. *Insectes sociaux* **56**, 375-383.
- Martin SJ, Vitikainen E, Helanterä H, Drijfhout FP (2008) Chemical basis of nest-mate discrimination in the ant *Formica exsecta*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **275**, 1271-1278.
- Morel L, Vander Meer RK, Lofgren CS (1990) Comparison of nestmate recognition between monogyne and polygyne populations of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* **83**, 642-647.
- Nowbahari E, Fénéron R, Malherbe M-C (1999) Effect of body size on aggression in the ant, *Cataglyphis niger* (Hymenoptera; Formicidae). *Aggressive Behavior* **25**, 369-379.
- Pamilo P (1993) Polyandry and allele frequency differences between the sexes in the ant *Formica aquilonia*. *Heredity* **70**, 472-480.
- Passera L (1977) Production des soldats dans les sociétés sortant d'hibernation chez la fourmi *Pheidole pallidula* (Nyl.) (Formicidae, Myrmicinae). *Insectes sociaux* **24**, 131-146.
- Passera L, Aron S (2005) *Les Fourmis : comportement, organisation sociale et évolution* Presses scientifiques du CNRC, Ottawa, Canada.
- Passera L, Roncin E, Kaufmann B, Keller L (1996) Increased soldier production in ant colonies exposed to intraspecific competition. *Nature* **379**, 630-631.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**, 288-295.
- Pfennig DW, Reeve HK (1989) Neighbor recognition and context-dependent aggression in a solitary wasp, *Sphecius speciosus* (Hymenoptera: Sphecidae). *Ethology* **80**, 1-18.
- Pirk CWW, Neumann P, Moritz RFA, Pamilo P (2001) Intranest relatedness and nestmate recognition in the meadow ant *Formica pratensis* (R.). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **49**, 366-374.
- Provost E (1989) Social environmental factors influencing mutual recognition of individuals in the ant *Leptothorax lichensteini* Bondr. (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioural Processes* **18**, 35-59.
- Queller DC, Strassmann JE, Hughes CR (1993) Microsatellites and kinship. *Trends in Ecology and Evolution* **8**, 285-288.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* **86**, 248-249.
- Reeve HK (1989) The evolution of conspecific acceptance thresholds. *American Naturalist* **133**, 407-435.
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* **43**, 223-225.
- Rosengren R, Chérix D, Pamilo P (1985) Insular ecology of the red wood ant *Formica truncorum* Fabr. I. Polydomous nesting, population size and foraging. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* **58**, 147-175.
- Ross KG, Keller L (1998) Genetic control of social organisation in an ant. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **95**, 14232-14237.

- Ross KG, Keller L (2002) Experimental conversion of colony social organization by manipulation of worker genotype composition in fire ants (*Solenopsis invicta*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **51**, 287-295.
- Rosset H, Schwander T, Chapuisat M (2007) Nestmate recognition and levels of aggression are not altered by changes in genetic diversity in a socially polymorphic ant. *Animal Behaviour* **74**, 951-956.
- Sambrook J, Russell D (2001) *Molecular cloning: a laboratory manual* Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Satoh T, Hirota T (2005) Factors affecting internest variation in the aggressiveness of a polygynous ant, *Camponotus yamaokai*. *Entomological Science* **8**, 277-281.
- Selkoe KA, Toonen RJ (2006) Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* **9**, 615-629.
- Sherman PW, Reeve HK, Pfennig DW (1997) Recognition systems. In: *Behavioural ecology* (eds. Krebs JR, Davies NB), pp. 69-96. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Singer TL, Espelie KE, Gamboa GJ (1998) Nest and nestmate discrimination in independent-founding paper wasps. In: *Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites* (eds. Vander Meer RK, Breed MD, Espelie KE, Winston ML), pp. 104-125. Westview Press, Boulder.
- Sorensen AA, Fletcher DJC (1985) Techniques for studying the execution of foreign queens by temporal subcastes in fire ants (*Solenopsis invicta*). *Entomologia Experimentalis et Applicata* **37**, 289-295.
- Soroker V, Vienne C, Hefetz A (1995) Hydrocarbon dynamics within and between nestmates in *Cataglyphis niger* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Chemical Ecology* **21**, 365-378.
- Starks PT, Watson RE, Dipaola MJ, Dipaola CP (1998) The effect of queen number on nestmate discrimination in the facultatively polygynous ant *Pseudomyrmex pallidus* (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology* **104**, 573-584.
- Stuart RJ (1991) Nestmate recognition in leptothoracine ants: testing for effects of queen number, colony size and species of intruder. *Animal Behaviour* **42**, 277-284.
- Stuart RJ, Herbers JM (2000) Nest mate recognition in ants with complex colonies: within- and between-population variation. *Behavioral Ecology* **11**, 676-685.
- Suarez AV, Holway D, Liang D, Tsutsui ND, Case TJ (2002) Spatiotemporal patterns of intraspecific aggression in the invasive Argentine ant. *Animal Behaviour* **64**, 697-708.
- Sundström L (1997) Queen acceptance and nestmate recognition in monogyne and polygyne colonies of the ant *Formica truncorum*. *Animal Behaviour* **53**, 499-510.
- Temeles EJ (1994) The role of neighbours in territorial systems: when are they 'dear enemies'? *Animal Behaviour* **47**, 339-350.
- Thomas ML, Parry LJ, Allan RA, Elgar MA (1999) Geographic affinity, cuticular hydrocarbons and colony recognition in the australian meat ant *Iridomyrmex purpureus*. *Naturwissenschaften* **86**, 87-92.
- Thurin N, Aron S (2008) Seasonal nestmate recognition in the polydomous ant *Plagiolepis pygmaea*. *Animal Behaviour* **75**, 1023-1030.
- Tibbetts EA (2004) Complex social behaviour can select for variability in visual features: a case study in *Polistes* wasps. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **271**, 1955-1960.
- Tibbetts EA, Dale J (2004) A socially enforced signal of quality in a paper wasp. *Nature* **432**, 218-222.

- Tripet F, Fournier D, Nonacs P, Keller L (2006) Kin recognition and the paradoxical patterns of aggression between colonies of a Mojave desert *Pheidole* ant. *Insectes sociaux* **53**, 127-135.
- van Zweden JS, D'Ettorre P (2010) Nestmate recognition in social insects and the role of hydrocarbons. In: *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology* (eds. Blomquist GJ, Bagnères A-G), pp. 222-243. Cambridge University Press, Cambridge.
- Vander Meer RK, Alonso LE (2002) Queen primer pheromone affects conspecific fire ant (*Solenopsis invicta*) aggression. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **51**, 122-130.
- Vander Meer RK, Breed MD, Espelie KE, Winston ML (1998) Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites, p. 368. Westview Press, Boulder.
- Vander Meer RK, Morel L (1998) Nestmate recognition in ants. In: *Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites* (eds. Vander Meer RK, Breed MD, Espelie KE, Winston ML), pp. 79-103. Westview Press, Boulder.
- Wang J (2004) Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. *Genetics* **166**, 1963-1979.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358-1370.
- Wenseleers T (2007) Nepotism absent in insect societies - or is it? *Molecular Ecology* **16**, 3063-3065.
- Wilson EO (1971) *The insect societies* Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Wilson EO (1975) Enemy specification in the alarm-recruitment system of an ant. *Science* **190**, 798-800.
- Wilson EO (2003) *Pheidole in the New World: a dominant, hyperdiverse ant genus* Harvard University Press, Cambridge, MA.