

UNIVERSITE PARIS XIII

Ecole Doctorale de Galilée

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XIII

Discipline : Ethologie

Par

Emmanuel LECOUTEY

<p>Différenciation sociale et sa régulation au sein d'un clone : cas de la fourmi parthénogénétique <i>Cerapachys biroi</i></p>
--

Soutenue le 11 Décembre 2009 devant le jury composé de :

D. FRESNEAU	Professeur (Université Paris XIII)	Président
J. L. DENEUBOURG	Professeur (Université Libre de Bruxelles)	Rapporteur
C. PEETERS	Directeur de Recherche CNRS (Université Paris VI)	Rapporteur
R. JEANSON	Chargé de Recherche CNRS (Université Toulouse III)	Examineur
N. CHÂLINE	Maître de Conférences (Université Paris XIII)	Examineur (Codirecteur de thèse)
P. JAISSE	Professeur (Université Paris XIII)	Examineur (Codirecteur de thèse)

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée (EA 4443)

Remerciements

Ces cinq années passées au LEEC m'ont offert l'opportunité de rencontrer une flopée de personnalités, venues d'horizons divers et variés, que seul le petit monde de l'éthologie pouvait rassembler.

La liste est longue, je tâcherai de ne pas avoir la mémoire courte.

Je tiens, en tout premier lieu, à remercier Pierre Jaisson et Claude Baudoin. Sans cette porte qu'ils m'ont ouverte sur le DEA de Biologie du Comportement, l'éthologie ne serait restée qu'un doux rêve auquel j'étais sur le point de renoncer.

J'exprime une profonde reconnaissance à Pierre Jaisson pour la confiance qu'il m'a toujours témoignée. S'il n'avait pas entrepris les démarches nécessaires à l'obtention de mon allocation de recherche, tout ce travail n'aurait jamais vu le jour... Un grand merci aussi pour avoir défendu ma candidature au monitorat. Enseigner en faculté de Médecine fut alors une expérience particulière mais pour le moins enrichissante!!!

Pierre m'a également donné la chance de partir à Okinawa pour aller y récolter mes chères *Cerapachys biroi*. A cette générosité s'ajoute enfin l'extrême liberté qu'il m'a laissée tout au long de mon DEA et de ma thèse. Ce parti pris m'a permis de mener librement mon projet scientifique, sans jamais aucune pression. Merci pour tout !

Mon entrée dans la recherche fût des plus agréables. Fabien y est pour beaucoup. Dès mon arrivée, il m'a pris sous son aile pour me former efficacement sur *C. biroi*. Avant son départ et depuis le pays du soleil levant, Fabien a toujours été de précieux conseils et d'une aide incommensurable dans la rédaction de mon rapport et de mon premier article. Toute ma thèse n'est que le fruit de son joli travail et d'une réflexion qu'il avait préalablement ébauché.

Par-dessus tout, je garde un magnifique souvenir de ces deux mois où il m'a accueilli, à bras ouverts, à Okinawa. Les récoltes, la plongée, la découverte de cette île et de ses habitants ont été rendues inoubliables en sa compagnie !!! A très vite sur Taiwan p'tit père !!

Comment aussi remercier Nico qui, tout au long de cette thèse, m'a spontanément encadré ? Toujours enthousiaste et disponible, son intelligence, sa rigueur scientifique et son esprit critique exacerbé ont toujours considérablement enrichi ce travail.

Merci également à l'ensemble des occupants du LEEC qui de part leur disponibilité, leur sympathie, et leur humour font régner une chaleureuse ambiance au sein de ce labo perdu dans l'univers parisien. Je pense notamment à : Monique et son dévouement quotidien, Alain qui revient de loin, Jean-Luc pour ses conseils statistiques, Patrick et ses têtes à claques, Christophe et sa pomme, Dominique et sa lose éternelle, Stéphane pour son engagement de chaque instant, la mignonne Simone, Renée et sa discrétion, Chantal pour ses tartes poire-chocolat, Fabrice pour la chromato et Catherine pour les joies des commandes !

Difficile d'oublier Paul et Marie-Claire qui se sont occupés respectivement de façon permanente et intermittente de mes élevages d'*Aphaenogaster* et de *Tetramorium*. Merci à vous deux !

J'ai une pensée sincère envers tous les scientifiques passionnés avec lesquels j'ai pu collaborer au cours de ce travail et/ou qui m'ont gentiment accueilli dans leur laboratoire. Un grand merci donc à Abraham Hefetz, Alain Lenoir, Kazuki Tsuji et Guénaël Cabanes.

J'aimerais bien sûr vivement remercier Jean-Louis Deneubourg, Christian Peeters et Raphaël Jeanson qui m'ont fait l'honneur et le plaisir d'examiner ce travail. Je salue enfin mon cher Dominique qui, à ma plus grande joie, a accepté de présider ce jury.

J'ai cette fâcheuse tendance à ne dévoiler mon affection et mon amitié que par des actes, des attentions. Il est donc des choses difficiles à dire pour un roux qui n'a jamais pris l'habitude de s'épancher. Cependant, une thèse c'est avant tout la chance incroyable de partager plus que des réflexions scientifiques. Pour toutes ces rencontres, ces beaux moments partagés, qui embellissent ou compliquent une existence, mais aussi pour ces périodes difficiles où l'on se serre les coudes et où l'on ose se livrer enfin, je remercie du fond du cœur :

Ronara, pour incarner tout ce que l'être humain a de plus beau et généreux...

Olivier, pour m'avoir écouté et, avec qui, parler de la vie est un régal !

Nico, pour les joies et les peines traversées ensemble...

Anaïs, parce que je sais que tu sais que je sais...

Fabos, pour ce qu'on a déjà vécu et ce qu'on vivra encore...

Pierre, avec qui la simple rédaction d'un article se transforme en expédition !

Gilles, pour nos discussions, ton humour, et ta générosité !

Rum, pour notre gourmandise commune et ces beaux jours de récolte passés avec Olivier.

Alain, pour avoir gentiment relu et corrigé mon manuscrit. Pour m'avoir secouru à chacune de mes galères informatiques ! Mais aussi pour m'avoir fait partager tes voyages tout au long de cette thèse...

Paul, pour m'avoir ouvert ta coquille, même éphémèrement...

dElfe, pour ce soutien mutuel au cours de la rédaction ! Pour Okinawa, ta magie et ton univers...

Aurélia, pour avoir écouté, en boucle, Michael Jackson tout au long de ma rédaction !

Nanie, Marie et Max pour ses 5 ans de colocation mémorables !

Je me permets également de remercier Vio, Tibo, J.C., Steve, Daphné, Clovis, Léa, Damien et Cédric qui ont tous chacun contribué à égayer la vie du 6^e étage au cours de ces quelques années.

Je ne peux conclure ces interminables remerciements sans évoquer ceux qui me portent depuis tout ce temps.

Je pense évidemment à mes amis normands et parisiens d'adoption qui sauront tous se reconnaître chacun dans leur petit coin !

Un grand merci également à Ninon pour avoir enduré mon absence durant la quasi-totalité de cet été 2009 passé à rédiger. Merci pour ton soutien et ton réconfort quotidien !

Enfin je ne remercierai jamais assez mes parents, mes sœurs Solène & Fanny, mes grands-parents ainsi que Pierre & Gisèle pour la confiance aveugle et l'Amour que vous m'avez toujours témoignés.

Les mots manquent pour dire ce que vous tous représentez à mes yeux...

à Pierrot

TABLE DES MATIERES

Introduction - Différenciation sociale : du gène au comportement.....	8
1) Variation génétique et division du travail	14
1.1) Le déterminisme génétique reine/ouvrière.....	15
1.2) Les spécialisations entre reines	16
1.3) Les spécialisations entre ouvrières.....	17
2) La différenciation pré-imaginale	20
2.1) Influence de la reine au stade œuf.....	22
2.2) Influence de la température.....	23
2.3) Le signal alimentaire	24
2.4) Inhibition royale des larves par contrôle du comportement des ouvrières	26
2.5) Contrôle phéromonal direct du déterminisme larvaire	27
3) La différenciation imaginale	33
3.1) Le polyéthisme d'âge	33
3.2) Le rôle de l'expérience.....	34
3.3) Les interactions sociales	36
3.4) Les modèles proximaux de l'organisation du travail	40
4) Objectifs de la thèse	44
 Chapitre 1 - Présentation du modèle biologique.....	 46
1) Présentation phylogénétique	47
2) Distribution géographique et habitat	49
3) Récolte et élevage en laboratoire	49
3.1) Bilan des récoltes	49
3.2) Conditions d'élevage	53
4) Caractéristiques de l'espèce	53
4.1) La parthénogénèse thélytoque.....	53
4.2) Le cycle reproducteur	54
4.3) Comportements prédateur et alimentaire	58
4.4) Structure et organisation sociales.....	60

Chapitre 2 - La régulation des intercastes chez <i>Cerapachys biroi</i>	63
1) Introduction	64
2) Procédure	70
2.1) Origine et élevage des colonies expérimentales	70
2.2) Protocole expérimental	70
3) Résultats	73
3.1) Les agressions et exécutions d'intercastes	73
3.2) L'évolution du ratio intercastes/ouvrières	74
3.3) La production d'ouvrières et d'intercastes	77
4) Discussion	78
 Chapitre 3 - La différenciation pré-imaginale chez <i>Cerapachys biroi</i>	 83
1) Introduction	84
2) Effet maternel et précoce sur le destin des larves	86
2.1) Procédure	86
2.2) Résultats	89
2.3) Discussion	90
3) Modulations adaptatives du ratio intercastes/ouvrières dans des sociétés de fourmis clonales	92
3.1) Résumé de l'article 1	92
3.2) Article 1	95
 Chapitre 4 - La différenciation imaginale chez <i>Cerapachys biroi</i>	 113
1) Introduction	114
2) L'expérience individuelle peut générer, à elle seule, une division du travail durable chez les fourmis	116
2.1) Résumé de l'article 2	116
2.2) Article 2	118

Chapitre 5 - Analyses des profils cuticulaires inter et intra-coloniaux chez <i>Cerapachys biroi</i>	137
1) Introduction	138
2) Procédure	140
2.1) Identification des composés chimiques de <i>C. biroi</i>	140
2.2) Origine et préparation des échantillons	141
2.3) Analyse chimique	141
2.4) Analyses discriminante et statistique	142
3) Résultats et Discussion	143
3.1) Identification et abondance relative des composés chimiques de <i>C. biroi</i>	143
3.2) Variations inter-coloniales	146
3.3) Variations intra-coloniales	150
Chapitre 6 - Discussion générale	159
1) Différenciation pré-imaginale et sa régulation chez <i>C. biroi</i>	160
2) Différenciation imaginale chez <i>C. biroi</i>	163
3) L'énigme évolutive du sexe ?	166
4) Les <i>Cerapachys biroi</i> incarnent-elles un cul-de-sac évolutif ?	169
Chapitre 7 - Le Super-organisme	173
1) Introduction	174
1.1) La colonie en tant qu'organisme	174
1.2) L'homéostasie sociale	179
1.3) La sélection de groupe et les conflits intra-coloniaux, talons d'Achille du concept du super-organisme ?	184
2) Le Super-organisme : un modèle heuristique en biologie du développement ?	189
2.1) Résumé de l'article 3	191
2.2) Article 3	193
Références bibliographiques	219
Collaboration : Article 4	248
Encadrement	248

Introduction

DIFFERENCIATION SOCIALE : DU GENE AU COMPORTEMENT

Représentant pas moins de 15% de la biomasse animale terrestre, les insectes sociaux, à l'image des Hyménoptères (guêpes, abeilles, fourmis) et des Isoptères (termites), connaissent un succès écologique considérable. Les fourmis en sont le plus bel exemple. Elles sont partout, depuis le Cercle polaire jusqu'aux forêts équatoriales, en passant par les déserts les plus arides. Une fourmi ne pèse en moyenne que 1 à 10 mg, soit 10 millions de fois moins qu'un être humain. Pourtant la myrmécofaune, estimée entre 1 et 10 millions de milliards d'individus, atteint une biomasse supérieure au poids de toute l'humanité ! Rien que dans la forêt amazonienne, le poids sec des fourmis est environ quatre fois supérieur à celui de tous les vertébrés terrestres qui y résident (mammifères, oiseaux, reptiles et amphibiens) (Passera & Aron 2005). La domination écologique des insectes sociaux trouve indéniablement son origine dans la coopération qui caractérise les sociétés. Cette coopération s'exprime à plusieurs niveaux de leur organisation sociale (élevage des jeunes, fourragement, défense de la colonie...) et résulte de deux facteurs fondamentaux : un système de communication essentiellement basé sur les phéromones et une division du travail (ou polyéthisme) où les individus de la société sont répartis en (sous-)castes, qu'elles soient morphologiques et/ou comportementales (Wilson 1971, Hölldobler & Wilson 1990).

Afin de comprendre les processus évolutifs de division du travail chez les insectes sociaux et pour mieux appréhender leur succès écologique planétaire, il convient d'étudier les mécanismes de différenciation morphologique et comportementale qui les caractérisent. Le présent manuscrit rapporte des études menées sur un modèle fourmi ; en conséquence l'essentiel du manuscrit se concentre sur les Hyménoptères sociaux, en particulier sur la famille des Formicidae.

Gardons toutefois présent à l'esprit que :

- Les Isoptères (Termites) sont des organismes hémimétaboles contrairement aux Hyménoptères qui sont holométaboles. Ce type de développement permet aux larves termites de jouer un rôle actif dans l'organisation de la termitière en mettant en place un polymorphisme lié au temps puisque ces larves muent.
- Alors que les sociétés d'Hyménoptères sont de type matriarcal, les sociétés de termites sont bisexuées. La caste stérile étant représentée par des individus mâles et femelles.
- Tous les termites sont eusociaux et possèdent une ou plusieurs reines et rois spécialisés dans la reproduction.
- Ils présentent un déterminisme du sexe classique, les mâles et les femelles sont diploïdes.

Une caractéristique majeure des sociétés d'Hyménoptères est de présenter un mode de détermination du sexe haplodiploïde. Les mâles sont presque toujours obtenus par une parthénogenèse arrhénotoque qui correspond au développement d'un œuf non fécondé pondu par une reine ou une ouvrière. Les mâles sont donc généralement haploïdes hémizygotes, même s'il est vrai que certains mâles diploïdes peuvent apparaître parfois puisque c'est l'homozygotie pour les loci *csd* responsables de la détermination du sexe qui conduit un œuf à se différencier en mâle. Les femelles, quant à elles, sont toujours diploïdes et peuvent être produites soit par le développement d'un œuf fécondé soit par parthénogenèse thélytoque (développement d'un œuf non fécondé par apomixie ou automixie) (Crozier & Pamilo 1996). Ces individus femelles, les reines et les ouvrières, composent d'ailleurs la quasi-totalité des sociétés d'Hyménoptères. Les mâles, en effet, ne sont produits que périodiquement au cours du cycle colonial et ne jouent généralement qu'un éphémère rôle reproducteur. Ailés ou aptères, ils apparaissent alors comme de simples véhicules, destinés à transmettre les gènes de leur mère.

Dès lors, la grande variété d'organisations coloniales exhibée par les Hyménoptères sociaux résulte de différences fondamentales d'ordre génétiques, physiologiques, morphologiques ou comportementales entre femelles d'une société.

La division du travail reproducteur en est l'exemple le plus frappant puisqu'elle regroupe généralement à la fois des différences morphologiques, physiologiques et comportementales. Ainsi les reines représentent la caste spécialisée dans la reproduction, tandis que la caste ouvrière réalise toutes les tâches associées au maintien de la colonie (soins aux jeunes, entretien et construction du nid, fourragement, défense de la colonie). Cette division du travail reproducteur s'accompagne le plus souvent d'un important polymorphisme (Figure 1). Chez les fourmis en particulier, les reines sont classiquement plus grosses que les ouvrières et sont adaptées pour l'accouplement, la dispersion, la fondation et la reproduction : elles sont ailées (avant accouplement), présentent un large thorax et disposent d'une spermathèque et d'un nombre important d'ovarioles. Les ouvrières, a contrario, sont aptères avec un thorax étroit. Elles sont dépourvues d'une spermathèque et présentent des capacités reproductrices réduites voir inexistantes (Wilson 1971, Hölldobler & Wilson 1990).

A ces deux types de castes opposés dans leur capacité reproductrice s'ajoutent, chez les ouvrières, des castes comportementales reflétant les activités réalisées par celles-ci. Même si une grande variabilité interindividuelle existe, le terme de caste s'applique ici à un groupe

d'individus spécialisés dans la réalisation d'une tâche à plus ou moins long terme (Oster & Wilson 1978). Pour cela, la majorité des insectes sociaux affiche un polyéthisme d'âge où la répartition des tâches est fonction de l'âge des ouvrières. Classiquement, les jeunes ouvrières débutent leur vie imaginale au cœur du nid et prennent en charge les soins au couvain. Par la suite, leur répertoire comportemental se modifie, les fourmis délaissent progressivement leur activité de nourrice (prise en charge par les nouvelles ouvrières émergentes) pour la maintenance du nid. Finalement les vieilles ouvrières s'occupent des tâches extranidales, à savoir le fourragement et la défense de la colonie.

Par ailleurs, un polyéthisme morphologique peut aussi se rencontrer chez les ouvrières, cependant plutôt rarement puisqu'il est absent chez les guêpes, les abeilles et ne se rencontre que chez un nombre restreint de fourmis. Ainsi chez environ 15% des genres de fourmis (45 sur 297) on observe des variations morphologiques discrètes entre ouvrières (Figure 2). Ce polymorphisme, qui peut faire apparaître plusieurs sous-castes comme les *minors*, les *media*, ou les *majors* (soldates), apparaît étroitement associé à l'exécution de certaines tâches. La sous-caste des *minors* s'occupe des soins au couvain, les ouvrières de taille moyenne sont allouées à la recherche de la nourriture, tandis que les plus grosses ouvrières assurent la défense de la colonie et le transport des proies les plus lourdes (Oster & Wilson 1978, Hölldobler & Wilson 1990, Wheeler 1991). Ce type de polyéthisme a pu se mettre en place chez des espèces dont la division du rôle reproducteur est parfaitement établie et stable, ce qui prive les individus altruistes de toute opportunité de se reproduire. Dans ce cas, la sélection de spécialisations morphologiques augmentant la survie et la productivité de la colonie est favorisée (Keller & Chapuisat 2001).



Figure 1. Le polymorphisme reine/ouvrière. De haut en bas et de gauche à droite : reine vierge et ouvrière de *Formica fusca*. Reine et ouvrières de *Crematogaster smithi* au centre de leur couvain. Reine et ouvrières polymorphiques d'*Atta texana* au cœur de leur jardin à champignon. (photos © Alex Wild avec son autorisation)



Figure 2. Le polymorphisme chez les ouvrières fourmis. De haut en bas : ouvrière *major* et *minor* de *Pheidole rhea*. Soldate et deux ouvrières *minor* de la fourmi légionnaire *Eciton burchelli*. Ouvrière *media* et *minor* de la fourmi champignonnisiste *Atta sexdens*. (photos © Alex Wild avec son autorisation)

On constate que les mécanismes à l'origine de la division du travail chez les Hyménoptères sociaux peuvent être multiples. Comme nous allons le voir, ces processus présentent une certaine complexité puisque des influences génétiques peuvent être à l'origine du polymorphisme entre castes, au sein d'une même caste, ainsi qu'à la source de prédispositions comportementales chez les ouvrières (résumé dans Smith et al. 2008b). Par ailleurs le développement holométabole des Hyménoptères implique que les facteurs à l'origine de différences morphologiques au stade adulte aient agi avant le stade nymphal. Nous verrons alors comment à partir d'un même œuf, et donc d'un même génotype, plusieurs phénotypes morphologiques peuvent être obtenus en fonction des conditions de vie embryonnaire et larvaire (nutrition, température, phéromone) (Wheeler 1986, 1991, O'Donnell 1998). Enfin, nous envisagerons les différentes conditions de vie et les modèles théoriques favorisant l'émergence d'une différenciation comportementale entre individus d'une même caste voir d'un même âge.

1) Variation génétique et division du travail

Les colonies d'insectes ont souvent été assimilées à des super-organismes, en partie en raison de leur système complexe de division du travail. En accord avec cette métaphore, il a longtemps été envisagé que tous les individus étaient génétiquement totipotents et que les castes étaient déterminées par des facteurs environnementaux agissant au stade larvaire (Wilson 1971, Hölldobler & Wilson 1990). Or, bien que les cellules d'un organisme soient génétiquement identiques, les individus d'une société d'insectes ne le sont qu'en de rares cas. Ainsi des taux élevés de recombinaison (Wilfert et al. 2007), des accouplements multiples (Kronauer et al. 2007) ou la présence de plusieurs reines (Hölldobler & Wilson 1990) au sein d'un nid sont autant de situations menant à de hauts degrés de variations génétiques entre membres de la colonie. Depuis quelques années, il est apparu que la variabilité génétique pouvait affecter divers aspects de l'organisation sociale, que ce soit le déterminisme de la caste reine/ouvrière, la spécialisation entre reines ou la spécialisation entre ouvrières.

1.1) Le déterminisme génétique reine/ouvrière

Plusieurs travaux récents ont démontré, grâce à la biologie moléculaire, que certaines lignées génétiques sont prédisposées à se développer plutôt en reines qu'en ouvrières (Tableau 1). Ainsi, un déterminisme génétique de la caste reine/ouvrière qui implique une hybridogenèse sociale a été démontré chez la fourmi moissonneuse *Pogonomyrmex* (Cahan et al. 2002, Julian et al. 2002, Volny & Gordon 2002) et la fourmi de feu *Solenopsis* (Cahan & Vinson 2003). L'utilisation de microsatellites, d'allozymes et de marqueurs ADN polymorphiques aléatoirement amplifiés (RAPD) a permis de révéler la présence de deux lignées génétiquement distinctes au sein de colonies de *Pogonomyrmex* (A ou B). Dans ce cas précis, le locus responsable du déterminisme de la caste porte deux allèles A et B. Les reines sont homozygotes (AA ou BB) et appartiennent à l'une des lignées génétiques, tandis que les ouvrières sont hétérozygotes (AB). Ainsi les œufs fécondés par le sperme d'un mâle issu de la même lignée génétique que la reine se développent en reines (AA ou BB), tandis que les œufs fécondés par le sperme d'un mâle issu de l'autre lignée génétique donnent des ouvrières (AB) incapables de se reproduire. Pour fonder une société viable qui produise à la fois des reines et des ouvrières, chaque reine doit donc s'accoupler avec un mâle de chaque lignée.

Chez la fourmi *Cataglyphis cursor* et *Wasmannia auropunctata*, les ouvrières sont produites à partir d'œufs fécondés tandis que les reines le sont par parthénogenèse thélytoque (Pearcy et al. 2004, Fournier et al. 2005). Ce mode différentiel de reproduction, associé à la polyandrie, représente des avantages certains pour la colonie. La polyandrie permet d'abord de compenser les effets néfastes de l'homozygotie des reines sur la diversité génétique. La production d'ouvrières par parthénogenèse se traduirait par une chute drastique de la diversité génétique au sein des sociétés, entraînant par voie de conséquence une réduction de la résistance aux pathogènes ainsi qu'une division du travail moins efficace (Crozier & Pamilo 1996, Oldroyd & Fewell 2007). De plus, en ayant parfois recours à la parthénogenèse pour générer la caste reine, ces fourmis maximisent la transmission de leurs propres gènes aux générations suivantes.

La petite fourmi de feu (*W. auropunctata*) présente une autre particularité unique dans le monde animal : les mâles eux-mêmes sont clonaux ! Les mâles produits dans une colonie disposent en effet du même génotype que celui des spermatozoïdes présents dans la spermathèque de la reine. Ceci ne peut s'expliquer que par l'élimination du génome maternel dans l'ovule lors de la fécondation, amenant des œufs à destinée ouvrière (car fécondés) à se différencier en mâle. L'existence d'une reproduction clonale à la fois pour les reines et pour

les mâles a donc mené à une complète séparation entre les pools génétiques femelles et mâles, annihilant les flux génétiques entre père et mère chez cette espèce.

D'autre part, bien qu'extrêmement coopérantes en apparence, les sociétés d'insectes ne sont pas dénuées de conflits potentiels (Bourke & Ratnieks 1999); l'un d'entre eux concerne la destinée des larves qui peuvent se différencier soit en reine reproductrice soit en ouvrière stérile. Pour maximiser leur succès reproducteur, larves et ouvrières ont en effet des intérêts divergents : les larves doivent se développer en reine tandis que les ouvrières doivent généralement contraindre les larves à se développer en ouvrières (Alexrod & Hamilton 1981). Les colonies sont donc potentiellement en proie à la tricherie même si des contraintes évolutives sont supposées la réduire en limitant les variations génétiques favorisant le déterminisme de caste. Toutefois, en accord avec les théories évolutives qui prédisent l'évolution d'une faible proportion de génotypes tricheurs au sein des colonies, des génotypes royaux rares (ou plus précisément des génotypes rares biaisant le développement des larves vers une destinée royale) ont alors été découverts chez quelques espèces (Moritz et al. 2005, Hughes & Boomsma 2008, Schwander & Keller 2008, Dobata et al. 2009).

1.2) Les spécialisations entre reines

Des variations comportementales entre reines ont pu être observées chez plusieurs espèces de fourmis, d'abeilles et de guêpes. Par exemple, chez la guêpe *Polistes dominulus* (Queller et al. 2000) et la fourmi champignoniste *Acromyrmex versicolor* (Rissing et al. 1989) des reines non apparentées s'associent pour fonder ensemble des colonies. Au cours de cette fondation émerge une division du travail où certaines sont plus spécialisées dans le fourragement tandis que d'autres sont plus impliquées dans les soins au couvain. Une composante génétique de ces différences comportementales entre reines n'a pas encore été démontrée. Elle est cependant fortement supposée puisque, chez cette espèce, les ouvrières de matrilignées différentes sont spécialisées soit dans le fourragement ou dans les soins au couvain tout comme l'était leur mère (Julian & Fewell 2004).

Par ailleurs, les variations morphologiques et physiologiques observées entre reines d'une même espèce peuvent aussi avoir une origine génétique (Tableau 1). Par exemple, la petite fourmi de feu *Solenopsis invicta* produit deux types de reines. Des grosses reines qui fondent seules leur colonie et des reines plus petites à l'origine de colonies polygynes contenant de

deux à des centaines de reines. Il apparaît que des variations au locus du gène Gp-9 sont associées à des modifications de la physiologie des reines, de leur comportement et de la structure sociale des colonies de *S. invicta* (Gotzek & Ross 2007). Le gène Gp-9 s'avère être actuellement le seul gène découvert comme étant impliqué dans l'organisation coloniale.

1.3) Les spécialisations entre ouvrières

Les variations génétiques au sein d'une colonie d'insectes ont en fait surtout un impact sur la division du travail entre ouvrières. Les premiers travaux remontent à la fin des années 1980, réalisés chez l'abeille. Il a été montré que certaines lignées paternelles d'*Apis mellifera* sont plus aptes que d'autres à effectuer la danse frétillante, à récolter du pollen ou à s'investir dans les tâches de gardiennage (Frumhoff & Baker 1988, Robinson & Page 1988). Ces influences génétiques sur l'allocation des tâches entre ouvrières sont d'ailleurs déterminantes pour maintenir une homéostasie coloniale (Graham et al. 2006, Oldroyd & Fewell 2007), pour faciliter la fondation après essaimage ainsi que pour améliorer le succès reproducteur de la société au travers d'une productivité coloniale optimisée (Mattila & Seeley 2007).

Chez les fourmis, les premières preuves d'influences génétiques sur l'organisation du travail ont été réalisées à partir de protocoles purement comportementaux. Les expériences menées chez *Leptothorax rudis* (Stuart et Page 1991), *Gnamptogenys striatula* (Blatrix et al. 2000) et *Acromyrmex versicolor* (Julian & Fewell 2004) ont ainsi permis d'observer la répartition des tâches entre individus de même âge dont l'origine maternelle ou coloniale était connue. Dans chaque étude, une division du travail émerge en fonction des différentes lignées d'ouvrières. Le polyéthisme d'âge ou de caste ne pouvant être invoqué, la variabilité génétique des individus demeure la seule explication possible.

Outre des prédispositions comportementales au soin au couvain, au fourragement ou au gardiennage, les variations génétiques peuvent aussi influencer la morphologie des ouvrières chez plusieurs espèces de fourmis (Tableau 1)

Il a pu être établi que, chez certaines espèces polyandres comme *Acromyrmex echinator* (Hughes et al. 2003), *Pogonomyrmex badius* (Rheindt et al. 2005) ou *Eciton burchellii* (Jaffé et al. 2007), des lignées paternelles présentaient des prédispositions à se différencier en ouvrières *major*, *media* ou *minor*. A noter qu'aucune lignée n'est totalement spécialisée dans

la production d'une sous-caste morphologique particulière d'ouvrière. Toutes contribuent à fournir des individus appartenant aux différentes sous-castes mais dans des proportions différentes.

Enfin le polymorphisme génétique peut aussi avoir une origine maternelle. Chez *Camponotus consobrinus*, les colonies peuvent contenir jusqu'à six reines. Des études microsatellites ont révélé que la proportion d'ouvrières *major* ainsi que leur taille diffèrent d'une lignée maternelle à une autre (Fraser et al. 2000).

Cette division du travail sur une base génétique explique notamment l'évolution vers la polyandrie ou la polygynie. Une colonie comprenant plusieurs reines, ou une unique reine accouplée avec plusieurs mâles, augmente ainsi la palette d'activité de ses ouvrières et donc le succès reproducteur global de la colonie. Comme nous l'avons déjà vu, des études démontrent que les différences héritées entre ouvrières pour la spécialisation des tâches bénéficient à la colonie en améliorant l'efficacité de la division du travail ou en facilitant l'homéostasie coloniale (Graham et al. 2006, Mattila & Seeley 2007, Oldroyd & Fewell 2007). Cette diversité génétique générée au travers de processus de recombinaison ne se répercute d'ailleurs pas seulement sur l'efficacité de la force de travail mais aussi sur la résistance aux maladies et aux parasites (Crozier & Pamilo 1996). Enfin certains auteurs supposent même qu'en diminuant le degré d'apparentements au sein des sociétés, la diversité génétique pourrait permettre de diminuer le népotisme et donc augmenter la cohésion des colonies d'insectes (Wilfert et al. 2007).

type de division du travail	Espèce	Famille	Références
<i>Reine-reine</i>			
Morphologie	<i>Solenopsis invicta</i> _†	Formicidae	Gotzek & Ross (2007)
	<i>Solenopsis geminata</i>	Formicidae	McInnes & Tschinkel (1995)
	<i>Monomorium</i> spA	Formicidae	Fersch et al. (2000)
	<i>Ectatomma ruidum</i> , <i>Ectatomma tuberculatum</i>	Formicidae	Hora et al. (2005)
	<i>Lasius niger</i>	Formicidae	Fjerdingstad (2005)
	<i>Formica truncorum</i>	Formicidae	Bargum et al. (2004)
	<i>Myrmecina graminicola</i>	Formicidae	Buschinger & Schreiber (2002)
	<i>Harpagoxenus sublaevis</i>	Formicidae	Winter & Buschinger (1986)
	<i>Pogonomyrmex badius</i>	Formicidae	Smith et al. (2008a)
<i>Reine-ouvrière</i>			
Morphologie	<i>Acromyrmex echinator</i>	Formicidae	Hughes & Boomsma (2008)
	<i>Pogonomyrmex rugosus</i> , <i>Pogonomyrmex barbatus</i>	Formicidae	Cahan et al. (2002)
	<i>Pogonomyrmex badius</i>	Formicidae	Smith et al. (2008a)
	<i>Solenopsis geminata</i> <i>Solenopsis xyloni</i>	Formicidae	Cahan & Vinson (2003)
	<i>Wasmannia auropunctata</i> _s	Formicidae	Fournier et al. (2005)
	<i>Vollenhovia emeryi</i> _s	Formicidae	Ohkawara et al. (2006)
	<i>Cataglyphis cursor</i> _s	Formicidae	Pearcy et al. (2004)
	<i>Melipona</i> spp.	Apidae	Kerr (1950), Hartfelder et al. (2006)
	<i>Apis mellifera capensis</i> _s	Apidae	Lattorff et al. (2007)
	<i>Apis mellifera</i>	Apidae	Moritz et al. (2005), Beekman & Oldroyd (2008)
<i>Ouvrière-ouvrière</i>			
Morphologie	<i>Acromyrmex echinator</i>	Formicidae	Hughes et al. (2003), Hughes & Boomsma (2007)
	<i>Camponotus consobrinus</i>	Formicidae	Fraser et al. (2000)
	<i>Pogonomyrmex badius</i>	Formicidae	Rheindt et al (2005), Smith et al. (2008a)
	<i>Solenopsis invicta</i>	Formicidae	Gotzek & Ross (2007)
	<i>Eciton burchelli</i>	Formicidae	Jaffe et al. (2007)
	<i>Formica selysi</i>	Formicidae	Schwander et al. (2005)
Comportement	<i>Leptomyrmex rudis</i>	Formicidae	Stuart & Page (1991)
	<i>Acromyrmex versicolor</i>	Formicidae	Julian & Fewell (2004)
	<i>Gnamptogenys striatula</i>	Formicidae	Blatrix et al. (2000)
	<i>Formica argentea</i>	Formicidae	Snyder (1992)
	<i>Polybia aequatorialis</i>	Vespidae	O'Donnell (1998a)
	<i>Apis mellifera</i>	Apidae	Frumhoff & Baker (1988), Robinson & Page (1988), Mattila & Seeley (2007), Oldroyd & Fewell (2007)

Tableau 1. Influences génétiques sur le déterminisme morphologique et/ ou comportemental chez les Hyménoptères sociaux (d'après Smith et al. 2008b).

Manifestement l'existence d'une composante génétique intervenant dans le déterminisme de la division du travail est encore largement sous-estimée. Toutefois, les sources importantes de variabilité génétique telles que la polyandrie et la polygynie sont loin de concerner la majorité des insectes sociaux. L'influence des facteurs environnementaux sur la différenciation sociale conserve donc toute son importance. De tels facteurs peuvent tardivement influencer sur l'adulte, mais peuvent aussi agir précocement au stade œuf ou larvaire et ainsi conditionner la morphologie de l'imago comme nous allons le voir à présent.

2) La différenciation pré-imaginale

Chez les Hyménoptères sociaux, la complexité du système de caste a été marquée par trois étapes majeures : l'évolution de l'eusocialité, l'évolution d'un dimorphisme reine-ouvrière, et enfin l'évolution de castes d'ouvrières polymorphiques (Wheeler 1986, Wheeler 1991).

Ainsi, l'évolution de l'eusocialité a impliqué la mise en place d'une caste reproductrice caractérisable d'un point de vue comportemental et physiologique. Par la suite, un dimorphisme reine-ouvrière a évolué à la fois chez les abeilles sociales et les fourmis. Ce dimorphisme caractérise les espèces hautement eusociales et implique donc, en plus des différences comportementales et physiologiques, des différences morphologiques discrètes entre castes. Enfin les fourmis sont les seules à présenter une caste ouvrière qui a évolué en différentes sous-castes morphologiques. Un tel polymorphisme entre ouvrières a été répertorié chez environ 15% des espèces de fourmis à ce jour (Wheeler 1991).

Nous avons préalablement vu que les reines et les ouvrières sont issues d'œufs fécondés. Hors influences génétiques, le développement d'un œuf femelle totipotent vers la voie royale ou ouvrière s'avère être un phénomène complexe permettant à un génome unique de produire au moins deux phénotypes différents (Wilson 1953). Cette plasticité phénotypique peut être continue ou discrète. Un génotype peut s'exprimer sur une gamme progressive de phénotypes lorsqu'il est soumis à des variations environnementales graduelles. C'est ce que l'on appelle **la norme de réaction** (Wheeler 1991, Nijhout 2003) et celle-ci est notamment observable chez les fourmis présentant une variation continue dans la taille des ouvrières (Figure 3). Par ailleurs, en complément de ces phénotypes qui présentent une variabilité continue, certains

organismes peuvent se développer en deux ou plusieurs phénotypes alternatifs discrets qui, par définition, ne présentent pas de forme intermédiaire. Ce phénomène, largement répandu dans le règne animal et végétal (Schlichting & Pigluicci 1998, Emlen & Nijhout 2000, Nijhout 2003), est appelé **polyphénisme**. Il est typiquement caractéristique du dimorphisme reine/ouvrière ou ouvrière/soldate (Wheeler 1991) (Figures 1 et 2). Chez les Hyménoptères sociaux, la morphologie de l'adulte étant le produit du développement, ce polyphénisme résulte d'une expression génique différentielle en fonction des conditions environnementales dans lequel l'organisme se développe (Evans & Wheeler 1999, 2001). L'activation d'un programme génique spécifique responsable d'un phénotype particulier se fait sous le contrôle de signaux environnementaux et sociaux qui, via une régulation hormonale (i.e. hormone juvénile et ecdystéroïdes), font évoluer l'embryon ou la larve vers un phénotype particulier.

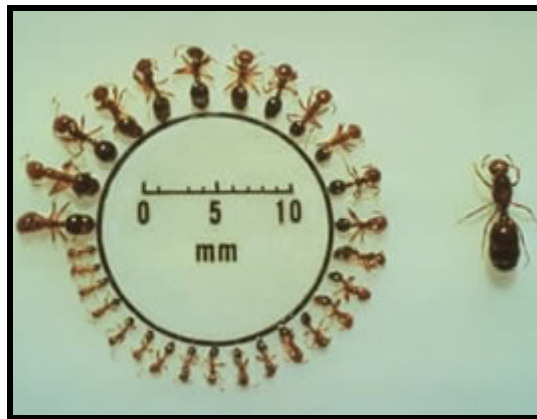


Figure 3. Norme de réaction illustrant les variations continues et progressives dans la taille des ouvrières chez la fourmi de feu *Solenopsis invicta*. (photo © Samford Porter)

Les signaux environnementaux et sociaux orientant la différenciation d'un individu vers une caste morphologique et/ou physiologique spécifique peuvent être classés en deux types de processus distincts.

Le premier type concerne les facteurs qui orientent ou contraignent un individu à s'engager dans la voie développementale ouvrière. Il s'agit généralement d'une inhibition phéromonale émise par la reine ou par les soldates (Colombel 1978, Passera 1980, Röseler & Röseler 1974, Vargo & Passera 1991, Wheeler & Nijhout 1984, Le Conte & Hefetz 2008). De plus, chez certaines espèces, les larves qui n'ont pas subi une dormance hivernale (Bier 1954,

Brian 1955) ou les œufs issus de reines qui n'ont pas été soumises à une période d'hibernation (Gösswald & Bier 1954a, Schwander et al. 2008) sont aussi irréversiblement engagés vers un destin d'ouvrière.

Le second type concerne les facteurs qui permettent à un individu de devenir physiologiquement compétent pour assurer la fonction de reine. Dans ce cas, des apports nutritionnels qualitatifs et/ou quantitatifs permettent à la larve d'acquérir au stade adulte les compétences physiologiques et/ou morphologiques nécessaires à la reproduction (Wilson 1971, Michener 1974, Bonavita-Cougourdan & Passera 1978, Oster & Wilson 1978, Brian 1979, Wheeler 1986, Winston 1987, O'Donnell 1998b, Karsai & Hunt 2002, Passera & Aron 2005).

Ces deux types de processus, avec d'un côté un processus inhibiteur et de l'autre un processus facilitateur, tendent à opérer de façon diffuse au sein des systèmes sociaux les plus simples et lors de périodes sensibles distinctes chez les insectes présentant les systèmes de castes les plus complexes (Wheeler 1986). En fin de compte, le système de détermination des castes est bien souvent le fruit d'une interaction complexe entre des facteurs inhibiteurs et facilitateurs de nature spécifiques, d'importances relatives différentes et dont l'agencement temporel est fonction de l'espèce considérée (voir ci-dessous).

2.1) Influence de la reine au stade œuf

Chez certaines espèces de fourmis, la reine peut exercer un contrôle sur le déterminisme de caste de ses futures filles en modulant la taille ou la composition nutritionnelle de ses œufs. Par exemple, chez *Formica polyctena*, les œufs pondus au début du printemps sont plus gros, contiennent plus d'ARN, et présentent une composition biochimique différente des œufs pondus durant l'été. Les œufs de début de printemps donnent alors naissance à des reines tandis que les œufs d'été se développent en ouvrières (Bier 1954, Gösswald & Bier 1954a). Par un mécanisme similaire, les reines de *Pheidole pallidula* semble contrôler le déterminisme reine/ouvrière dès l'embryogenèse. Ainsi, les reines proviennent d'œufs pondus à la fin de l'hibernation présentant des taux d'hormone juvénile (JH) et d'ecdystéroïdes plus faibles que les œufs à destinée ouvrière (Passera & Suzzoni 1979, Suzzoni et al. 1980). On note toutefois que des œufs à destinée ouvrière peuvent se développer en reine si de la JH est appliquée directement sur la reine ou sur ses œufs. Dans ce

cas, l'application de JH induit une diminution des taux d'ecdystéroïdes dans les œufs, permettant ainsi un développement royal. Chez *P. pallidula*, les larves n'apparaissent donc pas totipotentes puisque les voies développementales des reines et des ouvrières divergent avant même l'éclosion des œufs. Schwander et collaborateurs (2008) ont aussi démontré qu'il existe une forte influence de la reine sur le déterminisme des castes chez la fourmi moissonneuse *Pogonomyrmex* : seuls les œufs pondus par des reines âgées d'au moins 2 ans et préalablement exposées au froid sont susceptibles d'emprunter la voie royale. Chez cette espèce, la reine influence donc considérablement le destin développemental de sa progéniture puisque les taux d'ecdystéroïdes sont significativement plus bas dans les œufs à destinée royale que dans ceux qui se développent en ouvrières.

Le destin des individus peut donc être déterminé précocement au cours du stade œuf. Cependant, dans la plupart des cas, les œufs restent totipotents et les conditions environnementales, sociales et alimentaires au stade larvaire, influent sur la différenciation morphologique des individus.

2.2) Influence de la température

Nous venons de voir que la température peut influencer le déterminisme des œufs pondus par les reines. Toutefois l'effet de la température est surtout connu chez les fourmis pour son action directe sur la différenciation larvaire. Ainsi chez les espèces des régions tempérées, dont le cycle comporte un couvain hivernant, seules les larves ayant subi une période de refroidissement hivernal et alimentées par des ouvrières sortant elles-mêmes d'hibernation peuvent emprunter la voie royale (Bier 1954, Brian 1955, Passera 1969). Plus précisément, comme on le constate chez *Myrmica rubra*, *Tetramorium caespitum*, *Leptothorax nylanderi* ou *Plagiolepis pygmaea*, ce sont les larves les plus avancées dans leur développement (dernier stade larvaire) qui après la dormance hivernale sont aptes à évoluer au printemps en larves royales.

Chez les espèces importées comme la fourmi d'Argentine, l'hibernation n'est pas obligatoire pour permettre la sexualisation du couvain. Toutefois, les larves hivernantes conservent une plus grande compétence à évoluer en reine (Vargo & Passera 1992).

2.3) Le signal alimentaire

Indépendamment du degré de socialité, les facteurs alimentaires s'avèrent être prépondérants dans le déterminisme des castes. Le déterminisme pré-imaginal peut ainsi se rencontrer chez des guêpes sociales dénuées de castes morphologiques (résumé dans O'Donnell 1998). C'est le cas chez *Ropalidia marginata* où seules les femelles qui ont reçu le plus de nourriture au stade larvaire vont présenter après émergence un comportement de fondatrice (construction de cellules et ponte d'œufs). Le déterminisme pré-imaginal semble aussi être la règle chez les genres de guêpes sociales les plus évolués (sous famille des Vespinae). La qualité de la nourriture et son abondance conduisent à l'émergence d'adultes d'une taille supérieure présentant les caractéristiques morphologiques d'une reine. Ces larves sont en fait élevées en fin de saison, lorsque la population ouvrière est à son maximum et qu'elle présente une efficacité accrue dans les activités d'approvisionnement de la société. Ces larves à destinée royale sont alors élevées dans des cellules de taille supérieure à celles dans lesquelles sont élevées les ouvrières.

C'est donc chez les espèces dont le dimorphisme reine/ouvrière est aisément observable (Vespinae, abeilles et fourmis) que l'influence de l'alimentation est la plus remarquable. Parmi les larves totipotentes, seules celles qui ont bénéficié d'apports alimentaires importants peuvent se sexualiser ou évoluer vers la caste soldate (Wheeler 1986, Winston 1987, Hölldobler & Wilson 1990). Par exemple, chez *Plagiolepis pygmaea*, la quantité d'aliments reçue par les larves au cours de la période de sexualisation a été mesurée en offrant aux ouvrières nourrices du miel contenant un élément marqué. Au plus fort de la croissance larvaire, les larves royales reçoivent par unité de poids six fois plus de nourriture régurgitée que les larves à destinée ouvrières (Bonavita-Cougourdan & Passera 1978).

Dans certains cas, la quantité d'apport alimentaire n'est pas à elle seule décisive et la qualité même de l'alimentation peut intervenir dans la destinée d'une larve. L'exemple le plus connu concerne l'abeille domestique, chez qui les futures reines sont élevées dans des cellules royales régulièrement approvisionnées de grandes quantités de gelée royale, une sécrétion produite essentiellement par les glandes mandibulaires et hypopharyngiennes des nourrices (Winston 1987).

Chez la plupart des Hyménoptères sociaux, le lien entre l'alimentation et le développement morphologique est constitué par des signaux endocriniens qui vont coordonner les modèles de différenciation de l'individu. L'hormone juvénile (JH) joue un rôle primordial et son implication dans le déterminisme des castes chez les Hyménoptères sociaux a été démontrée chez *Apis mellifera* (Wirtz & Beetsma 1972, Rembold et al. 1974), *Scaptotrigona postica* (Hartfelder & Rembold 1991), *Bombus Hypnorum* (Röseler & Röseler 1974), *Bombus terrestris* (Cnaani et al. 2000), *Pheidole bicarinata* (Wheeler & Nijhout 1983) et *Myrmica rubra* (Brian 1974).

Selon le modèle développé par Wheeler (1986), il existe des périodes sensibles au cours du développement larvaire pendant lesquelles, sous l'effet d'un déclic alimentaire ("nutritional switch"), les corps allates libèrent de la JH qui favorise l'engagement de la larve dans un processus de développement royal ou de soldate. Si les apports alimentaires qualitatifs et/ou quantitatifs s'avèrent suffisants, les taux de JH augmentent et induisent un développement de reine ou de soldate. Par contre, si les concentrations de JH sont insuffisantes, les larves se développent inévitablement en ouvrières (Nijhout & Wheeler 1982). Par exemple, sous l'effet de la gelée royale, les corps allates des larves royales d'*Apis mellifera* secrètent dix fois plus de JH que ceux des larves d'ouvrières. Cet excès de JH a pour effet de stimuler les gènes responsables du programme de développement royal qui restent inactivés chez les larves à destinée ouvrière (Evans & Wheeler 1999). Le déclic alimentaire marque donc le stade du développement larvaire auquel les voies développementales des différentes castes divergent de façon irréversible. Ainsi, comme le souligne Michener (1974), le stade du développement auquel s'opère le déclic alimentaire est crucial : plus la différenciation intervient tôt au cours du développement larvaire plus les différences morphologiques et physiologiques entre les castes sont importantes. Par conséquent, en fonction des espèces, le déclic alimentaire intervient à des périodes bien précises du développement larvaire révélant ainsi l'importance de périodes alimentaires sensibles pour le déterminisme des castes (Brian 1980).

2.4) Inhibition royale des larves par contrôle du comportement des ouvrières

L'organisation des sociétés d'insectes est essentiellement régulée par une communication chimique basée sur les phéromones. Ces phéromones peuvent être de deux types : soit incitatrices, soit modificatrices. Les phéromones incitatrices, à l'image des releaser pheromones, ont une action éphémère et vont donc initier un comportement de courte durée chez l'individu receveur (exemple : attraction du partenaire sexuel). Les phéromones modificatrices (phéromones d'amorçage ou primer pheromones), quant à elles, provoquent une modification physiologique ou endocrine à long terme entraînant des changements comportementaux durables chez l'individu receveur (Le Conte & Hefetz 2008).

Ainsi chez l'ensemble des Hyménoptères sociaux, les phéromones vont notamment permettre de réguler la production de reines (mais aussi parfois des soldates, Wheeler & Nijhout 1984). Le comportement des ouvrières peut ainsi être régulé par des phéromones émises par la reine. Au travers de cette influence royale, les larves reçoivent des apports alimentaires limités ne leur permettant pas d'initier un développement royal.

Chez *Apis mellifera* par exemple, les larves ne sont pas soumises à une inhibition directe de la reine les empêchant de se développer en sexuées. En revanche, le comportement des ouvrières est considérablement influencé par la présence de la reine (Wilson 1971, Michener 1974). En effet, les ouvrières ne construisent pas de cellules royales si elles sont exposées à la phéromone royale. Comme la construction de ce type cellule est indispensable à la production de nouvelles reines, la régulation de la production des sexuées intervient donc avant même l'induction alimentaire du stade larvaire.

En outre, le contrôle du développement des sexuées peut prendre une toute autre forme chez la fourmi *Formica polyctena*. En présence de la reine, les ouvrières vont essentiellement orienter l'approvisionnement alimentaire vers la reine. Le développement des larves à destinée royale s'opère seulement durant le printemps quand la reine réside dans les profondeurs du nid loin des chambres à couvain. Durant cette période, les larves et les ouvrières qui s'en occupent ne sont plus sous influence royale et les jeunes larves reçoivent alors des apports alimentaires suffisants leur permettant de se développer en reine (Gösswald & Bier 1954b).

Par ailleurs, sous l'influence de reines, les ouvrières de la fourmi *Myrmica rubra* affament et mordent les larves au potentiel royal les contraignant ainsi à évoluer en ouvrières (Brian 1973). On note enfin que chez certaines fourmis dont *Linepithema humile*, *Monomorium Pharaonis* et *Solenopsis invicta*, les ouvrières vont même jusqu'à exécuter et cannibaliser les larves à destinée royale en présence des reines-mères (résumé dans Bourke & Ratnieks 1999).

2.5) Contrôle phéromonal direct du déterminisme larvaire

Un faisceau considérable d'études abonde dans le sens d'une intervention phéromonale de la reine sur la destinée développementale des larves (Brian 1955, Passera 1969, Röseler & Röseler 1974, Terron 1977, Colombel 1978, Passera 1980, Vargo & Passera 1991, Keller & Nonacs 1993, Boulay et al. 2007). L'influence de phéromones royales inhibitrices a en effet été démontrée chez le bourdon (Röseler & Röseler 1974) mais et aussi chez de nombreuses sous-familles de Formicidae : *Myrmica rubra*, *Leptothorax nylanderi*, *Monomorium pharaonis*, *Solenopsis invicta* (Myrmicinae), *Odontomachus haematodes* (Ponerinae), *Amblyopone silvestrii* (Amblyoponinae), *Iridomyrmex humilis* (Dolichoderinae), *Plagiolepis pygmaea* (Formicinae), *Tetraponera anthracina* (Pseudomyrmecinae). La grande répartition de ce mécanisme et sa présence au sein de sous-familles primitives suggèrent que ce type de contrôle est apparu très tôt au cours de l'évolution.

La phéromone inhibitrice peut agir durant une période sensible bien définie du développement larvaire et les larves perdent leur capacité à se développer en reine en sa présence. En l'absence de la phéromone, cette capacité est maintenue et une alimentation adéquate est alors requise pour permettre un développement royal. Dans le cas contraire, ces larves s'orientent vers la caste ouvrière (Wheeler 1986).

La période sensible du développement larvaire au cours de laquelle la phéromone royale peut agir varie considérablement entre les espèces : chez *Odontomachus haematodes*, les larves sont susceptibles d'être inhibées durant les trois premiers stades de leurs quatre stades larvaires. Les larves non inhibées au cours des trois premiers stades larvaires semblent alors irréversiblement engagées dans la voie royale puisqu'une inhibition royale ou une réduction des apports alimentaires au quatrième stade larvaire reste sans effet (Colombel 1978). A contrario, la sensibilité à la phéromone royale n'apparaît que tardivement au cours de la vie larvaire chez *Tetraponera anthracina*. Les larves inhibées initient leur nymphose

juste après cette période sensible, tandis que les larves non inhibées retardent leur métamorphose pour continuer leur croissance et se développer en reine. Une restriction nutritionnelle à la suite de cette période de sensibilité à l'inhibition royale ne diminue que peu la proportion de sexuées produites (Terron 1977).

Chez la fourmi d'Argentine, l'élevage des sexuées se produit au printemps, juste après l'exécution de la plupart des reines par leurs ouvrières. Il est tentant de voir là un moyen de supprimer radicalement l'inhibition royale, ce qui a été vérifiée par Vargo & Passera (1991). En effet, il suffit d'introduire une seule reine ou des cadavres royaux renouvelés chaque jour dans un élevage orphelin pour empêcher toute sexualisation du couvain. Par contre, le cadavre de reine est sans effet s'il a été préalablement lavé dans un solvant organique tel que le pentane. Il semblerait que la production de ces phéromones soit liée à l'activité ovarienne et donc à la fertilité de la reine puisque les reines vierges ne sont pas inhibitrices. De plus les expériences menées afin de caractériser la volatilité ou non de ces phéromones établissent que celles-ci sont transmises par contact (Passera 1960, 1980, Vargo et Passera 1991, Boulay et al. 2007).

Par ailleurs, même si majoritairement décrite comme émanant des reines pour contrôler la production de sexuées, un tel type de phéromone a aussi évolué chez des individus stériles afin de réguler le ratio ouvrière/soldate en fonction des besoins de la colonie (Passera et al. 1996). Ainsi chez *Pheidole bicarinata*, les soldates émettent une phéromone de contact qui inhibe le développement des larves en soldates en réduisant leur sensibilité à la JH (Wheeler & Nijhout 1983, Wheeler & Nijhout 1984). Ce type de mécanisme est particulièrement adaptif puisque les soldates ont un rôle restreint au sein des colonies (défense de la colonie essentiellement). En demeurant au sein du nid la plupart du temps, elles évitent à la colonie de produire une armée d'individus dont elle n'aurait pas besoin et dont la production est énergétiquement coûteuse. Par contre, en cas de compétition inter ou intraspécifique, les soldates passent davantage de temps à patrouiller hors du nid et beaucoup périssent au combat. Par un mécanisme autorégulé, les colonies de *Pheidole bicarinata* maintiennent un taux de soldates en relation avec leurs besoins : l'absence de soldates au sein du nid ou la perte importante d'individus permet à la colonie de produire de nouvelles soldates afin d'augmenter la force de combat ou de pallier les pertes éventuelles.

On remarque que malgré l'accumulation d'études corrélatives et la mise en évidence de phéromones impliquées chez les insectes sociaux, la nature chimique des phéromones impliquées dans le contrôle du développement des castes (royales et soldates) n'a pu être identifiée. En effet l'abeille est actuellement le seul insecte chez qui des phéromones d'amorçage ont pu être identifiées, ces phéromones ayant été caractérisées pour leur effet sur la régulation de la reproduction des ouvrières ou la division du travail (résumé dans Le Conte & Hefetz 2008).

Nous avons vu précédemment que le déclic alimentaire correspond au moment du développement larvaire au cours duquel les voies développementales entre castes divergent. L'inhibition du développement en reine ou en soldate s'avère fondamentalement différente d'une évolution développementale basée sur des facteurs nutritionnels. En effet, la période du développement durant laquelle les larves sont sensibles à un contrôle environnemental (par phéromone ou par une absence d'hibernation) ne représente pas une phase au cours de laquelle les destinées des castes divergent mais plutôt une période au terme de laquelle les individus demeurent bipotents ou non. Le contrôle inhibiteur représente donc un maintien ou une perte de la bipotentialité, tandis que le déclic alimentaire représente l'instant de divergence développementale. Cette distinction est illustrée dans la figure 4 qui représente le développement hypothétique d'une fourmi semblable à *Plagiolepis pygmea*.

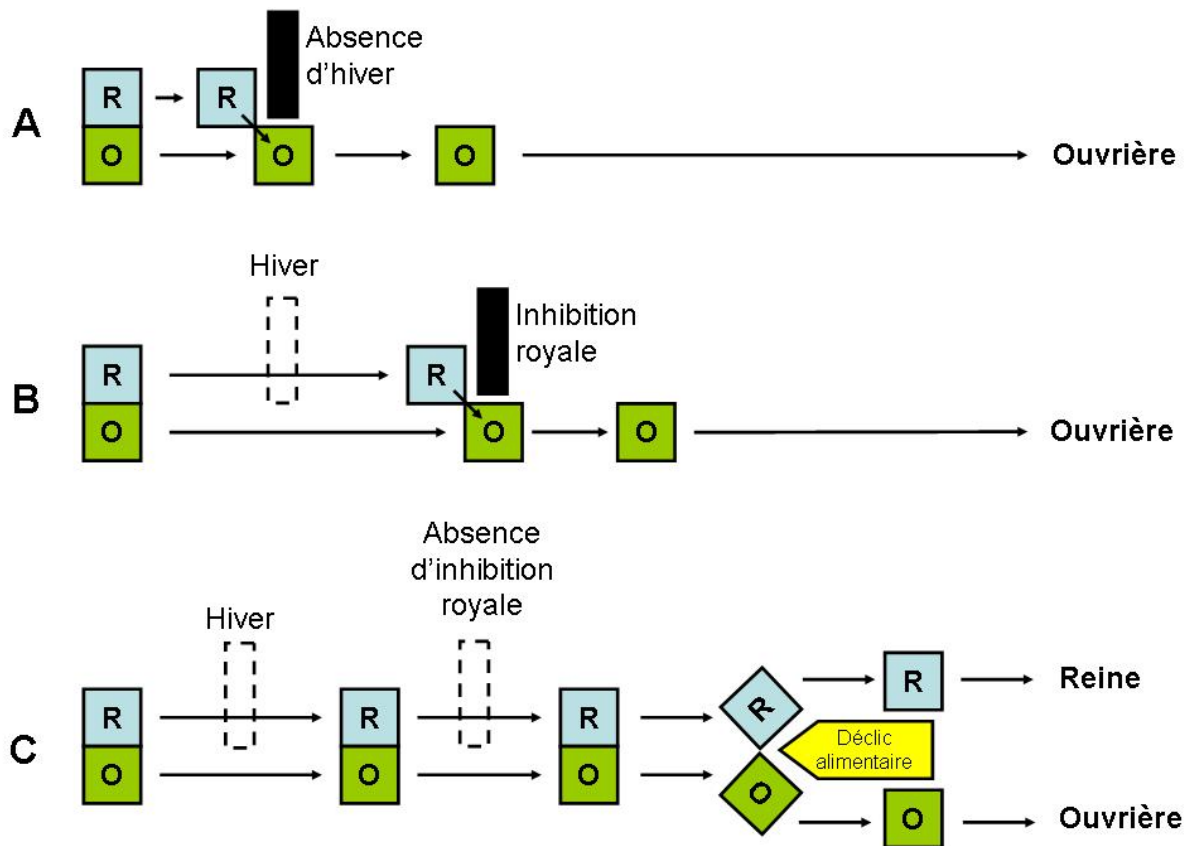


Figure 4. Inhibitions environnementales et déclic alimentaire. Le contrôle inhibiteur représente un maintien ou une perte de la bipotentialité, tandis que le déclic alimentaire représente l'instant de divergence développementale. A) Les larves qui ne subissent pas une période d'hibernation sont irrévérablement engagées dans un destin ouvrière. B) En présence d'une période d'hibernation, les larves préservent leur capacité à exprimer un développement royal. Elles deviennent ensuite sensibles à l'inhibition royale. Si la reine est présente, la bipotentialité est définitivement perdue et les larves se développent en ouvrières. C) La dernière étape dans la détermination royale est le déclic alimentaire. Les larves nourries de façon adéquate peuvent initier leur développement royal tandis que les autres n'ont pas d'autre choix que de se développer en ouvrières (d'après Wheeler 1986).

Pour résumer l'ensemble des différents facteurs susceptibles d'influer sur le déterminisme de caste, le modèle fourni *Myrmica rubra*, auquel Brian a consacré de nombreuses années d'études, apparaît comme particulièrement illustratif. Ce modèle biologique fait appel à un déterminisme complexe de caste faisant intervenir à la fois des facteurs émanant de la reine (phéromones et potentialité des œufs), de la saison (hibernation) et de la nourriture (Brian 1979, Passera et Aron 2005).

La reine intervient à plusieurs moments critiques et ceci dès l'oogenèse. Les œufs de printemps sont ainsi de petite taille et donnent des larves qui subissent tout un développement rapide (couvain rapide) en ouvrière au cours de la même saison. C'est la reine qui, par sa phéromone royale, amène les ouvrières à nourrir copieusement ces larves et donc à accélérer leur développement. Les œufs pondus durant l'été donnent des larves dont le développement est ralenti. Malgré tout, un nombre important de larves, toujours sous l'influence de la reine et via l'alimentation dispensée par les ouvrières, se développent en ouvrières avant l'automne. Les autres larves se développant plus lentement, atteignent, quant à elles, l'automne sans avoir atteint la taille critique conduisant à la nymphose. Elles rentrent donc en hibernation et sont les seules larves, grâce à la vernalisation subie, à conserver une bipotentialité. Au printemps, les reines, par le biais de leur phéromone inhibitrice, amènent les ouvrières à réduire l'alimentation des larves qui sortent d'hibernation. Chez ces larves insuffisamment nourries, le déclic alimentaire n'a pas lieu. Le taux de JH reste donc faible ce qui empêche toute activation du programme de développement royal. D'autres larves peuvent néanmoins atteindre une seconde taille critique de développement au cours de laquelle le déclic alimentaire intervient. Toutefois, les larves qui franchissent ce second seuil critique sont freinées dans leur développement par les morsures que leur infligent les ouvrières sous influence royale. Freinées dans leur prise de nourriture, ces larves sont, elles aussi, contraintes à évoluer en ouvrière. Finalement, seules les larves qui atteignent la seconde taille critique et qui, soustraites à l'influence royale, sont correctement alimentées, atteignent le déclic alimentaire permettant l'élévation de leur taux d'hormone juvénile. Le programme développemental royal est alors initié chez ces larves qui donnent une nouvelle génération de reines. En conclusion, on constate donc que chez *Myrmica rubra*, les reines fécondes inhibent l'élevage des sexuées en cumulant le contrôle du comportement des ouvrières aux effets physiologiques de l'hibernation.

Nous venons d'envisager les différentes voies du déterminisme et de différenciation qui sont à l'origine du polymorphisme de castes qui a évolué au sein des Hyménoptères sociaux. Cette différenciation morphologique, principalement à la base d'une division du travail reproducteur, est donc sous l'influence de divers facteurs dont l'interaction s'avère souvent assez complexe. Toutefois, de nombreuses espèces d'Hyménoptères sociaux ne présentent pas de castes morphologiques différenciées. Comment rendre compte alors de la division du travail (reproducteur) dont ils font pourtant l'objet ?

La complexité de l'organisation sociale des Hyménoptères ne se réduit pas à des mécanismes pré-imaginaux. D'autres voies de différenciation existent à l'âge adulte et permettent à des individus d'une même caste de se diviser le travail via des spécialisations dans différentes tâches. Cette différenciation imaginaire implique alors des facteurs aussi variés que l'âge, les interactions sociales et aussi, vraisemblablement, l'expérience. Cependant, contrairement à la différenciation morphologique qui est irréversible chez les Hyménoptères, tous ces processus imaginaires s'inscrivent dans un contexte de flexibilité comportementale et de systèmes auto-organisés. Le terme de spécialisation/différenciation comportementale évoqué ci-dessous ne se réfère alors, nous le verrons, qu'à une prédisposition pour un individu à effectuer certaines tâches plus que d'autres. L'ensemble des individus étant potentiellement capable de réaliser l'ensemble des tâches du répertoire comportemental.

3) La différenciation imaginaire

3.1) Le polyéthisme d'âge

Extrêmement répandu chez les Hyménoptères sociaux, le polyéthisme d'âge, ou parfois appelé polyéthisme temporel, est un mécanisme dans lequel les individus d'une même classe d'âge semblent spécialisés dans des tâches identiques (Oster & Wilson 1978, Hölldobler & Wilson 1990). Typiquement, les jeunes ouvrières se cantonnent aux tâches internes (soins au couvain et à la reine, travaux de maintenance) tandis que les ouvrières plus âgées prennent en charge le fourragement et la défense de la colonie. Il semblerait que la succession des tâches accompagne un processus développemental (Robinson et al. 1994, Calderone & Page 1996). Le changement d'activités traduirait en fait une maturation physiologique, elle-même dépendante des variations du taux d'hormone juvénile. En effet, une implication de l'hormone juvénile (JH) dans la régulation du développement comportemental des individus en fonction de l'âge a été démontrée (Robinson 1992, Huang & Robinson 1999), laissant présager un rôle important des processus de maturation physiologique dans la mise en place du polyéthisme temporel. Une telle division du travail centrifuge permet d'augmenter l'espérance de vie moyenne des individus car les tâches à haut risque, se déroulant à l'extérieur du nid, sont effectuées par les individus les plus âgés (Jeanne 1986). Ce système est ainsi supposé optimiser la reproduction des ouvrières car en demeurant au nid les jeunes ouvrières, plus fertiles, cèdent le coût du fourragement aux individus dont le potentiel reproducteur diminue du fait de la dégénérescence progressive de leurs ovaires (West-Eberhard 1981, Bourke 1988, Tofilski 2002).

Il est toutefois important de souligner qu'au sein même de ces sous-castes comportementales, qu'elles soient morphologiques ou d'âge, de grandes variabilités interindividuelles existent dans la fréquence et la nature des tâches accomplies (Bourke & Franks 1995, Beshers & Fewell 2001). Ainsi, à l'exception des très jeunes ouvrières et des plus âgées qui semblent présenter des comportements assez rigides, il est souvent impossible de prévoir la tâche qu'accomplira un individu d'âge moyen (Passera & Aron 2005). En effet, une répartition des rôles trop rigide ne conférerait à la colonie qu'une faible plasticité face aux fluctuations des conditions environnementales pouvant affecter sa survie. Par conséquent, même si l'âge et la morphologie sont de bons indicateurs des tâches qu'un individu est à même de réaliser, les ouvrières peuvent faire preuve d'une certaine flexibilité

comportementale afin de répondre aux besoins immédiats de la colonie (Robinson 1992 ; Gordon 1996). Bien que parfois controversée (par exemple : Johnson 2005), cette flexibilité comportementale, élément clé de la division du travail chez les insectes sociaux, a pourtant été mise en évidence dans de nombreuses expériences de sociotomie : en retirant expérimentalement une classe d'âge dans une colonie, on peut observer un développement accéléré de certains jeunes ou au contraire une réversion comportementale d'individus plus âgés (Wilson 1983, McDonald & Topoff 1985, Lenoir 1987, Robinson 1992, Calderone 1998, Naug & Gadagkar 1998).

On considère donc aujourd'hui que les ouvrières de la plupart des Hyménoptères sociaux sont totipotentes, exceptée pour la fonction de reproduction. La décision d'un individu de réaliser ou non une tâche en réponse à une information locale serait influencée par l'interaction d'un certain nombre de facteurs internes et externes (Biesmeijer et al. 1998, Beshers & Fewell 2001) tels que son âge, son patrimoine génétique, son histoire ontogénétique et aussi l'environnement social dans lequel il se développe, ou encore son expérience (Detrain et al. 1999, Dreller & Page 1999, Beshers & Fewell 2001, Tripet & Nonacs 2004, Passera & Aron 2005, Smith et al. 2008a).

Les facteurs intrinsèques à l'individu adulte tels que le déterminisme génétique, l'histoire ontogénétique responsable de la différenciation morphologique et l'âge ayant déjà tous été abordés, il convient à présent d'envisager les facteurs environnementaux susceptibles de générer une division du travail au travers d'une différenciation individuelle.

3.2) Le rôle de l'expérience

L'expérience précoce vécue par les individus est une autre source d'influence potentielle de différenciation sociale (Lenoir 1987). La privation de stimulations essentielles, tel un contact prolongé avec le couvain, lors de périodes sensibles de son développement, peut amener une ouvrière à ne pas répondre aux sollicitations ultérieures des larves lui réclamant des soins (Jaisson et al. 1988). De telles périodes sensibles sont susceptibles d'exister pour d'autres comportements, impliquant des effets potentiels de l'expérience précoce sur le polyéthisme. Il a par ailleurs été montré chez la fourmi *Camponotus floridanus* que l'expérience pouvait influencer la répartition des tâches (Tripet & Nonacs 2004). En créant des colonies expérimentales composées de jeunes fourrageuses et de vieilles nourrices, les auteurs n'ont observé qu'une faible inversion des rôles dans la réalisation des tâches comme

le polyéthisme d'âge aurait dû logiquement l'induire. Par conséquent, la familiarité dans la réalisation des tâches peut supplanter les effets de l'âge.

En réalisant des associations forcées d'abeilles solitaires *Lasioglossum* (*Ctenonomia*) NDA-1 dans un contexte de construction de nid, Jeanson et collaborateurs (2008) ont démontré que le contexte social pouvait lui aussi favoriser la différenciation comportementale et générer une spécialisation des tâches. Au sein de chaque paire d'individus testés, une forte asymétrie comportementale est apparue avec une abeille se spécialisant dans le gardiennage du nid et l'autre dans l'excavation. De plus, une fois isolées, les abeilles ayant subi un environnement social présentent une tendance à l'excavation plus importante que les abeilles ayant toujours construit seule leur nid. Un phénomène de facilitation sociale semble donc ici être à l'origine d'une réduction de la probabilité des abeilles solitaires à s'engager dans les tâches d'excavation (Jeanson et al. 2008).

D'autres auteurs ont évoqué l'importance des processus de renforcement, positifs ou négatifs, dans la mise en place d'une différenciation entre individus. Par exemple, l'issue d'une sortie exploratoire dans le monde extérieur pourrait moduler le comportement de fourragement d'une ouvrière. Si la recherche de nourriture est couronnée de succès, la probabilité d'effectuer une nouvelle sortie pourrait éventuellement augmenter. Inversement, en cas d'échec, le délai entre deux sorties consécutives serait rallongé (Deneubourg et al. 1987, Plowright & Plowright 1988). Ce mécanisme mettant en jeu l'expérience directe des individus pourrait conduire à l'émergence d'une division du travail ainsi qu'à l'apparition de spécialistes (Théraulaz et al. 1998, Gautrais et al. 2002, Merkle & Middendorff 2004).

Ces études ne sont malheureusement que théoriques et les effets d'un tel processus restent encore à démontrer empiriquement. En effet, il est souvent délicat, dans le cadre de l'organisation de la division du travail, de tester uniquement l'influence de l'expérience individuelle au sein de colonies dans lesquelles, la plupart du temps, des paramètres aussi cruciaux que l'âge et la génétique varient d'une ouvrière à l'autre. Cependant, une étude sur *Bombus terrestris*, abonde en faveur de l'importance des processus de renforcement et donc de l'expérience dans la mise en place potentielle d'une division du travail (Weidenmüller 2004). Cette étude a porté sur le comportement de ventilation des ouvrières en réponse à une augmentation de température ou de CO₂ au sein du nid. Weidenmüller a alors non seulement montré que les ouvrières entre elles présentaient des seuils de réponse différents, mais que ces seuils diminuaient lorsqu'elles étaient soumises à des augmentations répétées de température ou de CO₂. Ce travail apporte une preuve expérimentale en faveur d'une possible

spécialisation individuelle via une modulation des seuils de réponse dans la réalisation des tâches en fonction de l'expérience vécue.

3.3) Les interactions sociales

3.3.1) Interactions sociales et division du travail reproducteur

Les différents membres d'une société d'insectes sont caractérisés par une division du travail reproducteur (Wilson 1971). Généralement une ou plusieurs reines monopolisent la reproduction. Les ouvrières, quant à elles, ne peuvent la plupart du temps s'accoupler et s'occupent par conséquent des tâches nécessaires au développement de la société (soins au couvain, fourragement, défense, etc.). Toutefois chez la majorité des espèces d'Hyménoptères sociaux, ces dernières préservent la capacité de pondre des œufs non fécondés qui se développeront en mâles (Bourke 1988). Cette capacité s'exprime généralement lors de la perte de la reine ou quand sa fertilité ne lui permet plus de produire autant de couvain que les ouvrières (Bourke & Franks 1995, Monnin & Ratnieks 2001, Wenseelers et al. 2004, Liebig et al. 2005, Denis et al. 2008). En présence d'une reine-mère suffisamment fertile, les ouvrières refreinent leur développement ovarien ou ne pondent éventuellement que des œufs trophiques. Plutôt qu'une phéromone royale inhibitrice qui permettrait à la reine de monopoliser la reproduction, la reine semble émettre un signal honnête de fertilité perçu par les ouvrières (Keller & Nonacs 1993, Tsuij et al. 1999, D'Ettorre et al. 2004, Le Conte & Hefetz 2008). La stabilité évolutive de ce signal est ici assurée puisqu'il est bénéfique tant pour la reine que pour les ouvrières qui sont généralement plus apparentées à leurs sœurs qu'à leurs fils (Trivers & Hare 1976). Lorsque la fécondité des reines est nettement supérieure à celle des ouvrières, le gain de fitness issu de l'élevage d'un grand nombre de sœurs et de frères dépasse largement celui de l'élevage de sœurs et des quelques fils et neveux produits par les ouvrières. De plus, pour des raisons ergonomiques et de productivité de la société, on ne peut exclure les coûts associés à la reconnaissance, à l'élimination et au remplacement des œufs haploïdes d'origine royale par ceux des ouvrières (Keller & Nonacs, 1993). Ces coûts impliquent non seulement les risques d'erreurs dans la reconnaissance de l'origine des mâles (éliminer un fils, un neveu au lieu d'un frère), mais également le temps et l'énergie dépensés en luttes intestines non consacrés à la productivité immédiate de la société (Ratnieks & Reeve 1992).

Par conséquent, le plus souvent, les biais initiaux dans les capacités de reproduction liées aux différences morphologiques entre castes (résultant du déterminisme génétique et de la différenciation pré-imaginale), ainsi que les liens d'apparentement entre individus, favorisent dès l'émergence des premières ouvrières la mise en place d'une division du travail reproducteur. Malgré la cohésion qui réside souvent au sein des colonies d'Hyménoptères sociaux, celle-ci n'empêche pas les membres qui les composent de faire parfois preuve de comportements agressifs, qu'ils soient physiques ou ritualisés. Ainsi, l'absence (Heinze & Hölldobler 1995) ou non d'intérêts reproductifs divergents peut favoriser la mise en place d'une hiérarchie reproductrice au travers d'interactions agonistiques. Ce phénomène est observable à plusieurs niveaux : entre reines (Trunzer et al. 1998), entre reines et ouvrières (accouplées) (Cole 1981, Sommer & Hölldobler 1992, Premnath et al. 1996) ou encore entre ouvrières (Oliveira & Hölldobler 1990, Ito & Higashi 1991, Peeters & Tsuji 1993, Heinze et al. 1996, Monnin & Peeters 1999, Powell & Tschinkel 1999, Hartmann et al. 2003, Molina & O'Donnell 2009). Classiquement, la compétition pour l'accès à la reproduction se traduit par l'émergence d'interactions agonistiques dont l'issue désigne les dominants qui assureront la reproduction et les subordonnées qui accompliront les tâches nécessaires au développement de la colonie (fourragement, défense, maintenance).

Par exemple, chez les guêpes et les abeilles primitivement eusociales, il est généralement admis que les femelles diffèrent très peu par la morphologie et qu'à l'émergence toutes sont de potentielles pondeuses. La mise en place d'une division du travail reproducteur se fait alors essentiellement au travers d'interactions sociales qui déterminent l'accès à la reproduction (résumés dans Wilson 1971, Wheeler 1986 et O'Donnell 1998b). Ainsi chez les espèces où des reines s'associent lors de la fondation (fondation pléométrique), des relations de dominance initient et maintiennent une division du travail dans laquelle les dominantes se spécialisent dans la ponte tandis que les subordonnées prennent en charge l'approvisionnement de la colonie. Par la suite, le même type d'interactions agonistiques permet à la reine de réprimer la reproduction de ses filles (Wheeler 1986). Ce type de comportements agressifs des reines envers leurs ouvrières a aussi été décrit chez des espèces de guêpes à mode de fondation indépendante (Reeve 1991, Premnath et al. 1996). Ce type de système dans lequel le contrôle s'exerce au stade adulte présente l'indéniable avantage de pouvoir faire face rapidement à d'éventuelles perturbations coloniales: une reine dominante qui disparaît peut ainsi être immédiatement remplacée soit par une jeune émergente dans les espèces à fondation indépendante soit par une des reines cofondatrices chez les espèces pléométriques (O'Donnell 1998b).

3.3.2) Interactions sociales et division du travail non reproducteur

Des interactions agressives peuvent aussi parfois réguler la répartition des tâches non reproductives. Lors de la fondation pléométrique chez *Pachydonla inversa*, la mise en place d'une division du travail basée sur des comportements agonistiques permet aux reines dominantes de s'occuper du couvain tandis que les reines subordonnées sont cantonnées au fourragement (Kolmer & Heinze 2000). Ici cependant toutes les reines ont le même taux de ponte. Il ne s'agit donc pas d'une division du travail reproducteur même si les dominantes mangent et détruisent fréquemment les œufs des subordonnées.

Des interactions agonistiques entre ouvrières non reproductrices peuvent aussi être à la base d'une différenciation comportementale. Par exemple, les ouvrières de la guêpe *Polybia occidentalis* réalisent des morsures qui influent sur la probabilité des individus à fourrager (O'Donnell 2001, 2003, 2006). De même chez certaines guêpes primitives les ouvrières modulent entre elles la réalisation de leurs tâches par le biais d'interactions agonistiques (O'Donnell, 1998c, 1998d, Jha et al. 2006). Ainsi chez *Mischocyttarus mastigophorus*, O'Donnell (1998d) a montré que des relations de dominance affectent la division du travail en assignant les ouvrières dominantes à la recherche des matériaux de construction du nid tandis que les subordonnées se consacrent davantage à la recherche de nourriture (nectar et proies). Enfin, la spécialisation dans une tâche peut être contrainte à l'extrême chez la fourmi champignoniste *Atta cephalotes* (Hart & Ratnieks 2001). Dans ce cas précis, les ouvrières qui s'occupent de la gestion des chambres à déchets sont agressées par les ouvrières de la meule si elles essaient d'en sortir. Les ouvrières du dépotoir se retrouvent alors cloisonnées dans cet espace et n'ont pas d'autre alternative que de s'occuper des déchets. La déchetterie étant un endroit propice aux pathogènes, ce type de comportement agressif semble avoir été sélectionné afin de préserver le jardin à champignon de toute contamination.

Tout comme certaines phéromones peuvent être utilisées dans la division du travail reproducteur, d'autres permettent une répartition des tâches non reproductrices (Le Conte & Hefetz 2008). Dans ce contexte, le cas de l'abeille *Apis mellifera* a particulièrement été étudié. Les sociétés d'abeilles domestiques sont caractérisées par un polyéthisme d'âge selon lequel les jeunes ouvrières passent les premières semaines de leur vie au sein du nid. Elles y réalisent les tâches associées au couvain telles que l'approvisionnement et la construction des cellules (Winston 1987). Plus tard, elles passeront aux tâches extranidales (défense et fourragement) qu'elles réaliseront jusqu'à leur mort. Cette division du travail basée sur l'âge est liée à une

maturation comportementale des ouvrières. Toutefois celle-ci n'est pas rigide et peut être modulée en fonction de l'environnement social et des besoins de la colonie (Robinson 1992), permettant ainsi d'ajuster les proportions d'individus engagés dans différentes tâches. Les relations sociales participent alors à la régulation des processus de développement comportemental des ouvrières en modulant l'éthogénèse de certains individus (Huang & Robinson 1999, Beshers et al. 2001).

Ainsi la reine, grâce à une phéromone émise par ses glandes mandibulaires, peut retarder le début du fourragement de ses ouvrières. Il a ainsi été montré que la phéromone mandibulaire royale influait sur la différenciation comportementale en activant les gènes exprimés par les nourrices et en réprimant les gènes exprimés par les fourrageuses (Grozinger et al. 2003, Whitfield et al. 2003). De plus, l'ajustement du ratio nourrice/fourrageuse dépend de la quantité de nourriture stockée dans la ruche ainsi que de la quantité de larves à nourrir. Les larves émettent alors une phéromone de couvain destinée à réguler la répartition des tâches entre ouvrières, optimisant ainsi les soins dont elles ont besoin. A faible concentration cette phéromone de couvain permet aux ouvrières de s'engager rapidement dans le fourragement, alors qu'à forte dose elle retarde l'âge auquel les ouvrières initient leur premier fourragement (Le Conte et al. 2001). Enfin les interactions entre ouvrières ont un rôle prépondérant dans la division du travail. Leoncini et al. (2004) ont ainsi démontré que l'éthyl oléate, synthétisé *de novo* et présent en grande concentration dans le jabot des vieilles fourrageuses (concentration 30 fois supérieure à celle des nourrices) permettait à celles-ci, via les trophallaxies, de retarder l'initiation du fourragement des jeunes ouvrières. L'éthyl oléate étant supposé inhiber la maturation comportementale en agissant, notamment, au niveau neuroendocrinien. Il pourrait ainsi permettre de maintenir de faibles taux d'hormone juvénile (JH), ces taux étant bas chez les ouvrières qui effectuent des tâches à l'intérieur de la ruche et élevés chez les fourrageuses (Robinson 1992). Ce type de système auto-organisé s'avère donc particulièrement adaptatif pour répondre aux besoins de la colonie. Un nombre important de fourrageuses maintient ainsi à plus ou moins long terme les jeunes ouvrières spécialisées dans les tâches internes de la ruche, tandis qu'une perte de fourrageuses entraîne la différenciation accélérée de jeunes ouvrières.

A l'image de ce dernier exemple, une approche alternative considère la colonie comme un système auto-organisé dans lequel une division du travail flexible émerge des actions et décisions indépendantes des ouvrières en réponse à des informations locales (Gordon 1996, Calderone 1998, Bonabeau & Théraulaz 1999, Beshers & Fewell 2001). Dans ce cadre théorique, la coordination des activités individuelles repose essentiellement sur des systèmes de rétrocontrôles positifs et négatifs dont les effets orientent les activités des individus structurant ainsi les activités sociales (Deneubourg et al. 1986, Bonabeau et al. 1997, Camazine et al. 2001).

3.4) Les modèles proximaux de l'organisation du travail

La coordination régnant au sein des colonies est un phénomène qui reste difficile à comprendre du fait de l'absence apparente de tout contrôle hiérarchique dans l'organisation du travail. La recherche des mécanismes proximaux impliqués dans le polyéthisme est ainsi devenue une cible majeure de la sociobiologie (Calderone 1998). Plusieurs modèles alternatifs ont alors été élaborés pour tenter d'expliquer la mise en place d'une division du travail flexible au sein d'un système auto-organisé.

Le **modèle du "Foraging For Work"** (FFW), tout d'abord, illustre comment une division flexible du travail et un polyéthisme temporel peuvent émerger à partir de règles de décision simples sans faire appel à une hypothétique influence de l'âge des ouvrières (Tofts & Franks 1992, Tofts 1993, Bourke & Franks 1995, Beshers & Fewell 2001). Selon ce modèle, les différentes tâches sont arrangées linéairement dans une série de zones distinctes et connectées fonctionnellement le long d'une chaîne d'activités. Au sein de ce schéma dans lequel il n'existe aucune variation intrinsèque entre ouvrières dans la préférence des tâches, chaque individu recherche activement des tâches à effectuer. Si tous les besoins sont remplis dans une zone donnée, une ouvrière se déplace vers une zone adjacente pour y réaliser les tâches associées. De plus, comme les réalisations et les changements de tâches ne sont incités que par les besoins de la colonie, ce modèle confère une grande plasticité à la colonie. Par ailleurs, le modèle du FFW peut théoriquement rendre compte d'un polyéthisme temporel : l'influx créé par l'émergence des nouvelles ouvrières au centre du nid poussent les individus plus âgés à se déplacer, de façon centrifuge, vers une zone adjacente. Parallèlement, les ouvrières les plus âgées, subissant une mortalité supérieure, créent une pénurie de main-d'œuvre dans les zones qu'elles laissent vacantes. Il en résulte une corrélation entre la distance par rapport au centre du nid (et donc les tâches correspondantes) et l'âge des ouvrières.

Toutefois, le modèle original du FFW présente deux inconvénients majeurs : il postule l'existence d'individus tous semblables qui n'ont aucune prédisposition sur l'accomplissement d'une tâche déterminée et ne tient compte ni des contraintes physiologiques des ouvrières ni des interactions sociales dont nous avons vu l'importance. Le modèle a donc été ensuite étayé, incluant une hétérogénéité dans les réponses des ouvrières sous l'influence de certains paramètres tels que les capacités d'apprentissage ou les différences génétiques entre individus (Tofts 1993, Franks & Tofts 1994, Bourke & Franks 1995).

Cette notion d'hétérogénéité est d'ailleurs à l'origine d'une série de modèles basés sur un concept de seuils de mise en action d'un individu en réponse à des stimulations associées à la réalisation d'une tâche.

Le **modèle de seuil de réponse** stipule que chaque ouvrière d'une colonie possède un seuil interne fixe de réponse pour chaque tâche du répertoire comportemental (Robinson 1992, Bonabeau et al. 1996, 1998, Beshers et al. 1999). Une ouvrière réalise donc une tâche dès lors que le stimulus associé dépasse son seuil interne de réponse. Ce modèle extrêmement simple et efficace prévoit que l'âge, la génétique, la taille de la colonie et la physiologie des individus sont autant de variables susceptibles de créer des variations interindividuelles dans les seuils de réponse, permettant ainsi de générer une division du travail (Robinson 1992, Beshers & Fewell 2001, Jeanson et al. 2007). Des variations interindividuelles dans les seuils de réponse ont été démontré pour de nombreuses tâches telles que la ventilation (O'Donnell & Foster 2001, Jones et al. 2004) ou le fourragement (Stuart & Page 1991, Fewell & Page 2000).

En outre, ce mécanisme incorpore une boucle de rétroaction négative dans laquelle la réalisation d'une tâche par une ouvrière diminue le niveau de stimulus associé à cette tâche. Ainsi, si une ouvrière a un seuil de réponse pour une tâche plus bas qu'une autre ouvrière, elle va non seulement réaliser cette tâche plus rapidement mais aussi réduire le niveau du stimulus de cette tâche de fait que ce stimulus n'atteindra pas le seuil de réponse de sa congénère (Page et Mitchell 1998). Du fait même de petites variations interindividuelles dans les seuils de réponse, ce modèle permet de prédire qu'un groupe d'ouvrières peut devenir spécialiste pour une tâche, tout en conférant une grande flexibilité au système. En effet, les individus disposant des seuils de réponse les plus bas pour une tâche donnée deviendront spécialistes. Mais puisque toute ouvrière est théoriquement capable d'effectuer n'importe quelle tâche si

son seuil de réponse associé est dépassé, une augmentation du niveau de stimulation aboutira inévitablement au recrutement d'individus supplémentaires.

Le **modèle d'auto-renforcement** permet, quant à lui, de générer une division du travail grâce aux effets de l'expérience. Un succès dans la réalisation d'une tâche augmente la probabilité de réaliser cette tâche de nouveau alors qu'un échec ou une absence d'opportunité à effectuer une tâche réduit la probabilité de l'accomplir ultérieurement (Deneubourg et al. 1987, Plowright & Plowright 1988). Ce mécanisme a été mis en relation avec le modèle de seuil de réponse qui comporte des seuils de réponse fixe à la base pour aboutir au **modèle de renforcement des seuils de réponse** dans lequel les seuils de réponse évoluent avec le temps et l'expérience (Theraulaz et al. 1998). Dans ce schéma, un succès dans la réalisation d'une tâche entraîne un abaissement du seuil de réponse d'une ouvrière pour cette tâche et inversement. Par conséquent, ce modèle conduit, là aussi, à l'émergence d'individus spécialistes. Toutefois Gautrais et al. (2002) puis Merkle & Middendorf (2004) ont enrichi ce modèle en théorisant que l'émergence d'individus spécialistes ne pouvaient se faire qu'au sein de colonie suffisamment grande (>30 individus) et que des facteurs tels que l'âge, la demande de travail, la compétition pour la réalisation des tâches et la durée de vie des individus influençaient le degré de spécialisation (et donc les seuils de réponse) des ouvrières au sein de la colonie.

Les relations interindividuelles participent également à la régulation des processus de développement comportemental des ouvrières (Huang & Robinson 1999). Basés sur des interactions sociales, les deux modèles suivants ont déjà été implicitement exposés plus haut au travers d'études empiriques et ne seront donc que brièvement relatés :

Le **modèle de dominance sociale** prévoit la mise en place d'une hiérarchie basée sur des interactions agonistiques entre les ouvrières et aboutissant à une division du travail au sein de la colonie : les dominantes s'occupent du couvain et peuvent avoir l'opportunité de pondre tandis que les dominées se retrouvent à effectuer les tâches les plus dangereuses comme le fourragement ou la défense du nid (Ito & Higashi 1991, Heinze & Hölldobler 1995, Powell & Tschinkel 1999). Par ailleurs, on retrouve dans ce schéma une corrélation entre âge et activité puisque, avec l'âge, le déclin des capacités ovariennes provoque une régression du statut social.

Enfin le **modèle d'inhibition sociale** interprète le polyéthisme temporel comme la résultante d'une interaction entre un processus intrinsèque (physiologique) de développement comportemental et des effets inhibiteurs de certaines phéromones transmises par contact chez les ouvrières (Beshers et al. 2001, Beshers & Fewell 2001, Le Conte & Hefetz 2008).

Globalement, les modèles de dominance sociale et d'inhibition sociale s'incorporent aisément dans le cadre du modèle global de renforcement des seuils de réponse. Par exemple, les relations de dominance peuvent faire émerger une différenciation sociale par un mécanisme analogue à celui de l'auto-renforcement (Théraulaz et al. 1998, Bonabeau et al. 1999). Le statut de dominance des individus pourrait ainsi évoluer sur la base de rencontres associées à des rétrocontrôles : à l'issue d'une interaction, l'individu dominant renforce sa dominance tandis que le subordonné réduit sa dominance. Comme cela est souvent observé en nature, ce modèle prédit que l'individu qui domine les premières interactions devient et reste l'individu dominant, le statut d'un individu étant corrélé aux tâches qu'il réalise au sein de la colonie.

En résumé, les Hyménoptères sociaux sont caractérisés par une division du travail reposant essentiellement sur des mécanismes de différenciation individuelle. Ces nombreux mécanismes peuvent influencer tout au long de l'ontogenèse de l'individu (du stade œuf à sa mort) et parfois même avant sa conception (due aux influences génétiques présentes dans les colonies à structure sociale polygyne et/ ou polyandre par exemple). Bien sûr ces mécanismes varient et interagissent différemment d'une espèce à l'autre, mais l'organisation sociale même d'une espèce permet souvent d'inférer sur les modes de différenciation qui la caractérise. En effet, plus le système de caste et la spécialisation morphologique et/ou comportementale des adultes sont importants, plus les mécanismes à l'origine de cette diversité prennent leur source tôt au cours du développement de l'individu. Ainsi la diversité morphologique entre ouvrières la plus importante s'observe chez les espèces dont les colonies sont composées de plusieurs lignées génétiques, alors que cette diversité est négativement corrélée à l'apparement chez les espèces monogynes (Fjerdingstad & Crozier 2006). A contrario, chez les espèces sociales primitives dénuées de polymorphisme rein/ouvrière, la différenciation sociale ne peut intervenir qu'au stade imaginal.

4) Objectifs de la thèse

Comme nous avons pu le voir tout au long de ce chapitre d'introduction, les études se multiplient pour tenter de comprendre l'hétérogénéité et la régulation des systèmes de différenciation exhibés par les Hyménoptères sociaux. Chez les fourmis, à la notable exception des apports considérables réalisés sur *Pheidole* (*pallidula* et *bicarinata*) notamment par Passera et Wheeler, l'ensemble des mécanismes de différenciation et de régulation qui régissent l'organisation sociale au sein d'une même espèce ont rarement été appréhendés dans leur globalité.

Le présent travail de thèse s'est donc attaché à approfondir les études réalisées par Fabien Ravary sur la fourmi parthénogénétique *Cerapachys biroi*, un hyménoptère social unique dont les nombreuses particularités, qui seront présentées au chapitre I, en font un modèle approprié à l'étude de ce genre de mécanisme. Nous verrons que les sociétés de *C. biroi* originaires de Taiwan et Okinawa sont notamment caractérisées par une absence de reine, une reproduction par parthénogénèse thélytoque obligatoire répartie entre tous les membres de la société, un cycle de vie biphasique à l'image des fourmis légionnaires, et la présence de deux castes morphologiques d'individus dont les caractéristiques reproductrices et comportementales diffèrent. D'un côté les ouvrières suivent un polyéthisme d'âge corrélé avec le déclin de leur capacité reproductrice. De l'autre les intercastes restent visiblement impliquées toute leur vie dans la reproduction et les soins au couvain.

Les intercastes sont souvent considérées comme des "erreurs développementales" dont la production erratique résulterait de perturbations environnementales lors du développement (résumés dans Peeters 1991, Heinze 1998). Cette conception pourrait tout à fait concorder avec les intercastes de *C. biroi* puisque des observations préliminaires montrent qu'elles sont présentes en faible proportion au sein des colonies. De plus, ceci tendrait à expliquer pourquoi elles sont parfois victimes d'agressions de la part des ouvrières alors que la probable homogénéité génétique induite par la parthénogénèse semble ne fournir aucune base à un conflit colonial pour l'accès à la reproduction (Ravary 2003, Ravary et Jaisson 2004). Cependant aussi bien la production accidentelle des intercastes que leur rôle potentiel au sein des colonies doivent être envisagés. Le chapitre II rapporte les études menées afin d'observer si le ratio intercastes/ouvrières est activement contrôlé par les colonies ou bien si les intercastes sont produites de manière aléatoire. Les résultats démontrent que les intercastes ne

sont pas le résultat d'un développement accidentel, aussi une étude approfondie des mécanismes (alimentation, signaux trophiques larvaire et maternelle, phéromone) potentiellement impliqués dans le déterminisme de ces intercastes a-t-elle été réalisée (chapitre III).

Par ailleurs, de par leurs caractéristiques particulières (cohortes d'individus de même âge, monotonie génétique, absence de hiérarchie sociale), les colonies de *C. biroi* apparaissent comme un modèle biologique particulièrement approprié pour tester les seuls effets de l'expérience sur la différenciation sociale à l'âge adulte. L'influence de l'expérience et des processus de renforcement sur la division du travail n'ayant, jusqu'à présent, jamais été démontré de manière empirique, le chapitre IV rapporte les travaux menés en ce sens.

Une analyse des profils cuticulaires des différentes (sous-)castes constituant les colonies de *C. biroi* sera abordée au chapitre V. Cette étude préliminaire vise à établir les bases nécessaires à l'investigation des composés cuticulaires représentatifs du niveau de fertilité des individus (ouvrières vs intercastes). Par la suite, l'objectif sera d'identifier les composés différenciant les intercastes agressées de celles qui ne le sont pas. Ceci afin de mieux appréhender les significations proximales et ultimes des agressions dont des intercastes de tout âge font parfois l'objet.

Finalement, un dernier chapitre (VI) propose de valider le concept de super-organisme et permet d'aboutir à une réflexion sur l'intérêt heuristique d'une approche transdisciplinaire entre le domaine des insectes sociaux et de l'immunologie dans le cadre d'études sur les mécanismes de différenciation.

Chapitre 1

PRESENTATION DU MODELE BIOLOGIQUE

1) Présentation phylogénétique

On considère aujourd'hui que la famille des fourmis (Formicidae) se divise en 4 groupes comprenant au total 21 sous-familles (Brady et al. 2006, Moreau et al. 2006, Rabeling et al. 2008) : le complexe Formicoïde comprenant 14 sous-familles (Aenictinae, Aenictogitoninae, Aneuretinae, Cerapachyinae, Dolichoderinae, Dorylinae, Ecitoninae, Ectatomminae, Formicinae, Heteroponerinae, Leptanilloidinae, Myrmeciinae, Myrmicinae, Pseudomyrmecinae), le complexe Ponerοïde comprenant 5 sous-familles (Agroecomyrmecinae, Amblyoponinae, Paraponerinae, Ponerinae, et Proceratiinae), le complexe Leptanilloïde ne contenant que la seule sous-famille des Leptanillinae, et enfin le récent complexe Martialis ne contenant là aussi qu'une sous-famille, les Martialinae (Figure I-1).

La sous-famille des Cerapachyinae, à laquelle appartient *C. biroi*, est actuellement rattachée aux groupes des fourmis légionnaires pour former, au sein du complexe Formicoïde, la section monophylétique des dorylomorphes (anciennement Dorylines, voir Bolton 1990, 2003). Ainsi le groupe des dolyromorphes est actuellement composé des trois sous-familles de fourmis légionnaires (Aenictinae, Dorylinae, Ecitoninae) et des sous-familles Aenictogitoninae, Cerapachyinae, et Leptanilloidinae (Brady & Ward 2005).

Sur la base de caractères abdominaux, Bolton (1990) inclut dans la sous-famille des Cerapachyinae trois tribus et cinq genres: *Acanthostichus* (Acanthostichini), *Cylindromyrmex* (Cylindromyrmecini), *Cerapachys*, *Simopone* et *Sphinctomyrmex* (Cerapachyini) et près de 200 espèces décrites.

Actuellement, la sous-famille des Cerapachyinae apparaît comme un ensemble paraphylétique, et les relations phylogénétiques entre les cinq genres de cette sous-famille laissent suggérer deux clades répartis entre (*Acanthostichus* + *Cylindromyrmex*) et (*Cerapachys* + *Sphinctomyrmex*) (Brady & Ward 2005). Les Cerapachyinae demeurent toutefois largement méconnues et de nombreux travaux taxonomiques, morphologiques et moléculaires sont encore nécessaires afin de mieux appréhender les relations phylogénétiques de cette sous-famille.

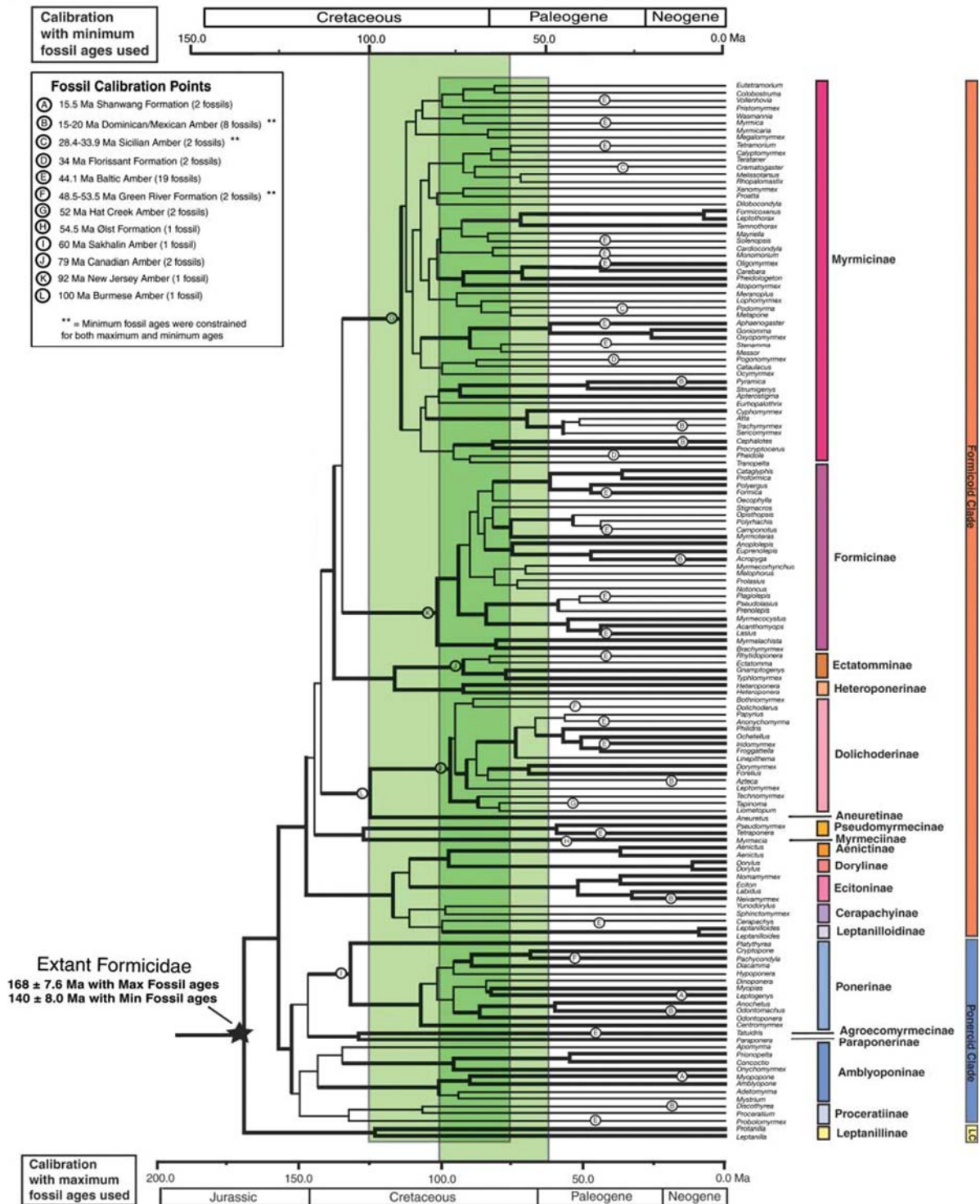


Figure I-1. Chronogramme phylogénétique des Formicidae (d'après Moreau et al. 2006) illustrant la proximité phylogénétique des Cerapachyinae et des fourmis légionnaires. On notera que le récent complexe Martialis, qui ne contient que la sous-famille des Martialinae (Rabeling et al. 2008), n'est pas répertorié sur ce chronogramme.

2) Distribution géographique et habitat

Le genre *Cerapachys* est composé d'environ 140 espèces exclusivement tropicales et subtropicales. Il est représenté sur tous les continents, mais rencontré plus particulièrement dans les zones africaines et indo-australiennes, la zone néo-tropicale étant plutôt occupée par les genres *Cylindromyrmex* et *Acanthostichus*. En particulier, l'espèce *C. biroi* est distribuée depuis le nord de l'Inde et les contreforts du Népal jusqu'au sud-est asiatique. Elle a également été introduite en Polynésie ainsi qu'aux Antilles (Brown 1975, Ogata 1983, Terayama et al. 1988).

Malgré cette large distribution, les *Cerapachys*, comme les autres genres de cette sous-famille, n'ont fait l'objet que d'un nombre très restreint d'études, tant écologiques que comportementales. Ceci est sans doute dû aux grandes difficultés rencontrées pour trouver et collecter des colonies entières, les espèces étant régulièrement cryptiques puisque hypogées.

3) Récolte et élevage en laboratoire

3.1) Bilan des récoltes

Au total quatre colonies de *C. biroi* ont été rapportées d'Okinawa, l'île au sud du Japon, en juillet 2006. Deux de ces colonies (O5 et O6) ont été récoltées par E. Lecoutey & F. Ravary en juin 2006 au niveau de la faculté d'Agriculture de l'Université des Ryukyus. Les 2 autres ont été récoltées précédemment sur ce même campus par Masaki en mars 2006 (colonie O4) et vraisemblablement sur l'île de Java en Indonésie par F. Ito en 2005 (colonie O3). Ces colonies se sont ajoutées à quatre autres colonies originaires de l'île de Taiwan et qui avaient été récoltées respectivement par Dr C.C. Lin & Prof P. Jaisson en 1997 (colonie T1), Dr C.C. Lin en 2000 (colonie T3) puis par Dr C.C. Lin & F. Ravary en 2001 (colonies T4 et T5) (Figure I-2). Le tableau I-1 donne le détail de la composition des colonies au moment de leur récolte.



Figure I-2. Localisation géographique des îles asiatiques sur lesquelles les colonies de *C. biroi* ont été récoltées.

Colonie	Lieu	Date	Composition de la colonie
T1	Taiwan	Nov. 1997	347 individus, pas de couvain
T3	Taiwan	Sept. 2000	515 individus, 83 larves
T4	Taiwan	Oct. 2001	164 individus, pas de couvain
T5	Taiwan	Oct. 2001	96 individus, pas de couvain
O3	Java, Indonésie ?	2005	< 200 individus
O4	Okinawa (Université des Ryukyus)	Mars 2006	< 200 individus
O5	Okinawa (Université des Ryukyus)	Juin 2006	236 individus, 44 larves
O6	Okinawa (Université des Ryukyus)	Juin 2006	255 individus, 37 prénymphe

Tableau I-1. Lieu, date de récolte et composition initiale des colonies présentes au laboratoire.

Toutes les colonies récoltées se trouvaient dans des milieux anthropisés relativement ouverts et dépourvus d'une épaisse litière (parcs publics ou talus en bord de route). Les colonies étaient installées sous terre (généralement sous une pierre ou dans les interstices du sol) à une profondeur de 5 à 15 cm. Les nids temporaires ne présentaient aucune structure élaborée (observations personnelles et communications de F. Ravary et K. Tsuji) et étaient connectés à quelques galeries sans doute façonnées par d'autres insectes au préalable (Figure I-3).

Avec deux colonies trouvées par mois de récolte en moyenne, la probabilité de trouver une colonie de *C. biroi* s'avère extrêmement faible. Toutefois, d'après les récoltes effectuées au niveau de la faculté d'Agriculture de l'Université des Ryukyus en juin 2006, il semble possible de relever quelques caractéristiques du site de nidification de l'espèce. Tout d'abord, une localisation sous des pierres et/ou dans un talus présentent deux caractéristiques microclimatiques communes. La première est de conférer un lieu de vie où la température est tamponnée, même lors de journée excessivement chaude comme il y en a régulièrement l'été à Okinawa. La seconde est de permettre aux fourmis de nidifier dans un endroit relativement humide et difficilement inondable (notamment durant la saison des pluies). Ainsi dans la profondeur d'un talus, une colonie évolue dans des conditions hygrométriques quasi idéales puisqu'elle profite de l'humidité accumulée par le terrain sus-jacent tout en bénéficiant d'une zone où l'eau est facilement drainée (Figure I-3).

Enfin, les espèces rencontrées à proximité des colonies de *C. biroi* récoltées peuvent aussi servir d'indicateur pour localiser cette espèce aux mœurs myrmécophages. En effet, il s'agissait pour l'essentiel des genres *Strumigenys*, *Leptogenys* et *Pheidole*, ces dernières étant susceptibles de constituer la source de nourriture principale pour les colonies de *C. biroi*. On note toutefois que la plus grande part des insectes sociaux présents sur les lieux de récoltes des *C. biroi* à Taiwan en 2001 était des termites.



Figure I-3. Zone de récolte d'une colonie de *C. biroï* trouvée à Okinawa (Faculté d'Agriculture, Université des Ryukyus, Nishihara) en juin 2006. Photos Emmanuel Lecoutey.

3.2) Conditions d'élevage

Les colonies sont maintenues en laboratoire dans des nids artificiels constitués de boîtes de plastique rectangulaires (L: 20cm x l: 15cm x h: 8cm) ou rondes (\varnothing : 8cm x H: 13cm), remplies de plâtre de Paris dans lequel est creusée une loge unique communicant avec l'aire de fourragement. Cette loge est recouverte d'une plaque de verre et d'un filtre rouge afin de faciliter les observations quotidiennes. La température est maintenue entre 25 et 29°C, et l'hygrométrie entre 60 et 80 % d'humidité. La photopériode de 12 heures commence à 09h00. Les nids sont humidifiés lors de chaque apport alimentaire. Toutes les colonies sont nourries deux fois par semaine et suivent le même régime alimentaire. Celui-ci peut être constitué de couvain (larves, prénymphe et nymphe) des myrmécines *Tetramorium bicarinatum*, *Aphaenogaster senilis*, *Aphaenogaster subterranea* et *Pheidole* sp., mais aussi exceptionnellement de termites ou de nymphe de bourdon *Bombus terrestris* lorsque le couvain disponible dans les élevages de myrmécines s'avère insuffisant.

4) Caractéristiques de l'espèce

4.1) La parthénogénèse thélytoque

La division du travail reproducteur est une caractéristique majeure des sociétés d'insectes (Oster & Wilson 1978). Ainsi les femelles fécondées (i.e. les reines) sont spécialisées dans la ponte d'œufs haploïdes et diploïdes qui seront à l'origine d'individus mâles et femelles respectivement. À côté de ces femelles reproductrices, on trouve les ouvrières qui, généralement stériles, prennent en charge l'élevage des jeunes, les tâches de maintenance, d'approvisionnement et de défense de la colonie. Dépourvues de spermathèque, elles sont incapables de s'accoupler et de produire des œufs fécondés à devenir femelle. Toutefois, chez de nombreuses espèces, les ouvrières ont conservé leurs ovaires et ont alors la capacité de produire des mâles par parthénogénèse arrhénotoque, le plus souvent en l'absence du signal royal (Keller & Nonacs 1993). Exceptionnellement, les ouvrières de cinq espèces de fourmis, dont *C. biroi*, actuellement connues pour leur parthénogénèse thélytoque, produisent une descendance femelle à partir d'œufs non fécondés.

Ainsi, chez *Cataglyphis cursor* (Cagniant 1973, 1979) et *Messor capitatus* (Grasso et al. 2000), la thélytoquie est facultative et n'est utilisée qu'en absence de la reine. Chez

Platythyrea punctata, cette thélytoquie est occasionnelle. On trouve en effet trois organisations coloniales chez cette espèce. Une première organisation où les sociétés sont pourvues d'une reine qui se reproduit par voie sexuée. Une seconde organisation où une à trois ouvrières fécondées monopolisent la reproduction à l'instar de gamergates (Schilder 1999, Hartmann & Heinze 2003). Un troisième type d'organisation sans reine où les ouvrières vierges pondent à la fois des œufs haploïdes se développant en mâles et des œufs diploïdes à l'origine d'ouvrières et aussi de reines (Heinze & Hölldobler 1995, Schilder 1999, Schilder et al. 1999a, b).

Enfin, chez *Pristomyrmex punctatus* et *C. biroi* la thélytoquie est obligatoire (Itow et al. 1984, Tsuji & Yamauchi 1995). La caste reine est absente, et toutes les femelles participent de façon asexuée à la reproduction coloniale (Tsuji 1988, 1990, 1994, Ravary & Jaisson 2004).

4.2) Le cycle reproducteur

Les colonies de *C. biroi* présentent la particularité de se développer selon un cycle reproducteur biphasique (Figure I-4) où alternent, de façon stéréotypée, deux phases distinctes d'activité synchronisées sur le développement du couvain et sa stimulation (Ravary & Jaisson 2002, Ravary et al. 2006). Ainsi, la **phase de fourragement** (Foraging Phase ou FP), qui dure en moyenne 16 jours, débute juste après l'émergence synchrone des ouvrières néonates et l'éclosion des œufs pondus 9 jours auparavant. Au cours de cette phase, les vieilles ouvrières anciennement reproductrices (âgées de plus de 4 mois) fourragent à la recherche de proies tandis que les jeunes ouvrières fertiles (âgées de moins de 4 mois) restent à l'intérieur du nid et sont impliquées dans les soins au couvain (Figures I-5 a et b). La **phase stationnaire** (Statory Phase ou SP), qui dure environ 18 jours, est déclenchée au terme du développement larvaire, c'est-à-dire lorsque les larves, de façon synchrone également, débutent leur nymphose en éjectant leur méconium (qui est totalement consommé par les adultes). A ce moment, l'ensemble des ouvrières se regroupe en agrégats denses à l'intérieur du nid et cesse de s'alimenter jusqu'à la prochaine phase de fourragement. Aucune activité extérieure n'est plus observée (Figure I-5 c), l'essentiel de cette période étant allouée aux toilettes ainsi qu'à la ponte des individus fertiles. Ainsi au quatrième jour de la phase stationnaire, les nymphes apparaissent et les œufs sont pondus de façon graduelle puis amassés en grappe parmi les nymphes (Figure I-5 d). Pendant cette période, les ouvrières restent groupées au contact du couvain, formant des agrégats relativement denses. Au 14^{ème} jour, les nymphes acquièrent une

teinte rousse, traduisant leur maturité, et les premiers œufs éclosent. Pendant les deux jours suivants, quelques cas d'oophagie effectués par les larves les plus précoces sur les œufs n'ayant pas encore éclos peuvent être observés. Puis, pendant les deux derniers jours de la phase stationnaire, les larves sont placées par les ouvrières sur les nymphes matures, dont l'émergence est imminente. Des mouvements de succion sont alors observés chez les larves, ce qui suggère une possible ingestion de sécrétions nymphales. Finalement, aidées des ouvrières pour le retrait du voile nymphal, les néonates émergent de façon synchrone, donnant naissance à une nouvelle cohorte d'ouvrières. Alors, débute une nouvelle phase de fourragement (Ravary & Jaisson 2002, Ravary 2003).

La durée totale moyenne d'un cycle d'activité (la somme des durées des deux phases d'activité) atteint donc approximativement 34 jours et le développement d'une génération de couvain, depuis la ponte des premiers œufs jusqu'à l'émergence des jeunes ouvrières correspondantes, s'étend en moyenne sur 48 jours (Ravary & Jaisson 2002, Ravary 2003).

En accord avec l'hypothèse de Schneirla (1957), il a été démontré que la phase de fourragement ne résulte pas d'un rythme endogène propre aux ouvrières mais bien d'une stimulation par le couvain incitant les ouvrières à rechercher de la nourriture (Ravary et al. 2006). Contrairement aux prédictions de Schneirla, l'étude de Ravary et al. démontre une influence prépondérante des jeunes larves dans l'initiation et le maintien de la phase de fourragement plutôt qu'une stimulation par les jeunes ouvrières nouvellement émergées. Ainsi, même si la stimulation sociale induite par les seules ouvrières nouvellement émergées apparaît suffisante pour provoquer une phase de fourragement, cette dernière s'avère amplement initiée et régulée par les stimulations émanant des larves. De plus, il apparaît que les larves inhibent la vitellogenèse des ouvrières puisque, systématiquement, la ponte n'est observée qu'à la fin du stade prénympal (Ravary 2003, Ravary et al. 2006). En plus d'être à l'origine de la phase de fourragement, les larves sont donc aussi à la base de la phase stationnaire puisqu'une fois nymphosées elles ne stimulent plus les ouvrières à fourrager et n'inhibent plus leur développement ovarien.

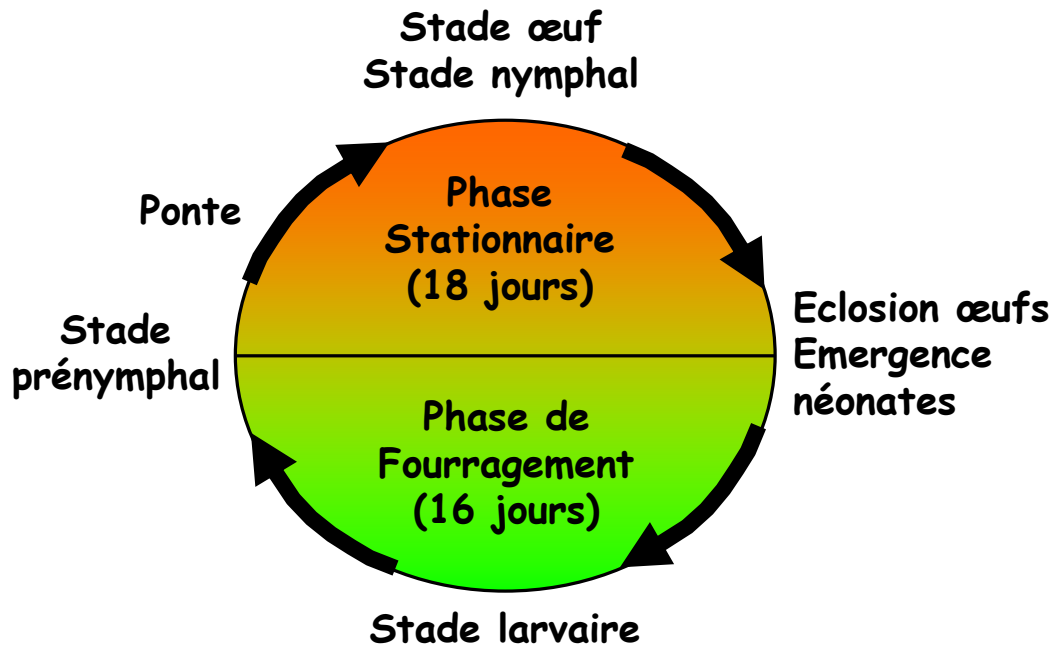


Figure I-4. Cycle reproducteur de *C. biroi* constitué de l'alternance constante deux phases d'activités synchronisées sur le développement du couvain. Le "**stade œuf**" débute à l'apparition des premiers œufs et s'achève à l'éclosion des premières larves. Il est immédiatement suivi du "**stade larvaire**" qui s'achève lorsque les premières prénymphe apparaissent parmi les larves matures, puis du "**stade prénympgal**" qui se termine à l'apparition des premières nymphes. Le "**stade nymphal**" se met alors en place pour finalement s'achever au moment de l'émergence des premières jeunes ouvrières (néonates). On note que la phase de fourragement débute juste après l'émergence synchrone des ouvrières néonates et l'éclosion des œufs pondus neuf jours auparavant (Ravary 2003). La phase stationnaire est déclenchée au terme du développement larvaire, c'est-à-dire lorsque les larves, de façon synchrone là encore, entament leur nymphose.

PHASE DE FOURRAGEMENT :



a)



b)

PHASE STATIONNAIRE :



c)



d)

Figure I-5. Caractéristiques du cycle reproducteur biphasique de *C. biroi*. En phase de fourragement, les vieilles ouvrières recherchent activement des proies pour subvenir aux besoins des larves en développement (a), tandis que les jeunes ouvrières demeurent au nid à leur prodiguer des soins (b). Lorsque les larves se nymphosent, débute la phase stationnaire. Aucune activité externe n'est plus observée (c). C'est au cours de cette période de maturation des nymphes qu'une nouvelle salve d'œufs est pondue (d). De nouveau, une phase de fourragement est alors initiée lorsque, de façon quasi synchrone, les œufs éclosent et qu'une nouvelle cohorte d'ouvrières émerge.

4.3) Comportements prédateur et alimentaire

Les Cerapachyines sont connues pour être spécialisées dans la prédation du couvain de fourmis dont elles se nourrissent exclusivement (Brown 1975, Hölldobler & Wilson 1990) ainsi que pour leur fourragement de groupe, rappelant parfois les raids caractéristiques développés par les fourmis légionnaires (Wilson 1958, Hölldobler 1982, Ravary & Jaisson 2002). Lors des raids de masse qu'elles mènent généralement à l'encontre des colonies de myrmicines, les ouvrières de *Cerapachys* tuent ou font fuir les adultes de l'espèce proie avant de s'emparer des larves et des nymphes qu'elles rapporteront à leur colonie pour s'en nourrir et rassasier leurs propres larves. Les attaques sont le plus souvent initiées par quelques scouts qui retournent à leur colonie après avoir détecté le nid d'une espèce proie. Des études détaillées de l'espèce australienne *Cerapachys turneri* ont montré que ces scouts déposent alors des pistes contenant des sécrétions de la glande à poison qui servent à la fois pour le recrutement et l'orientation (Hölldobler 1982).

Concernant *C. biroi*, les observations au laboratoire révèlent que, même si des tandems de fourrageuses peuvent parfois avoir lieu, la plupart des individus explorent seuls l'aire de fourragement. Lorsqu'une fourrageuse découvre des proies, elle augmente sa cadence de déplacement et extrude son pygidium qui entre ainsi en contact avec le substrat, laissant supposer le dépôt d'une marque odorante signalant la découverte. Des fourrageuses situées à proximité peuvent alors venir la rejoindre. Dans tous les cas, un retour au nid de la (ou des) fourrageuse(s) ayant été au contact de la proie aboutit au recrutement de fourrageuses supplémentaires. Il s'ensuit la formation de colonnes de fourrageuses, d'autant plus nombreuses que la quantité de ressources alimentaires découverte est importante. Après avoir subi quelques piqûres, les proies sont rapidement transportées à l'intérieur du nid. Plutôt qu'un moyen d'immobilisation ou de mise à mort de proies n'ayant de toute façon aucune possibilité de fuir ou de se défendre, les piqûres infligées par les fourrageuses se sont avérées être, chez une autre espèce de *Cerapachys*, un moyen de stocker durablement cette ressource à l'intérieur du nid, le venin injecté ayant la propriété de bloquer le développement des proies tout en les maintenant en vie afin d'éviter les risques de moisissure (Hölldobler 1982). Bien que les adultes facilitent généralement la prise alimentaire des larves en les plaçant sur les proies rapportées au nid, la grande autonomie de celles-ci, tant au niveau de la mobilité que du comportement alimentaire, leur permet bien souvent de se mouvoir et de se nourrir seules. De plus, bien que le cannibalisme (des ouvrières sur les larves ou entre larves) soit assez

fréquent lors de pénuries alimentaires, larves et ouvrières se nourrissent essentiellement des proies rapportées au nid lorsque les conditions sont favorables.

Il semblerait qu'en conditions naturelles, le couvain de *Pheidole* constitue la principale source de nourriture pour les colonies de *C. biroi*. En effet, des colonies de *Pheidole*, mais aussi parfois de *Strumigenys* et *Leptogenys* ont été trouvées à proximité des colonies de *C. biroi* récoltées (observations personnelles, Ravary 2003). Toutefois, au laboratoire, les *C. biroi* ont été nourries avec du couvain d'autres myrmécines telles que les *Tetramorium bicarinatum* ou les *Aphaenogaster senilis*. Compte tenu de la différence de taille entre les ouvrières de *C. biroi* et ce type de couvain, une ouvrière seule ne peut que difficilement traîner une proie vers le nid. Plusieurs fourrageuses peuvent alors s'associer et coopérer dans cette tâche. Occasionnellement, les larves de *C. biroi* peuvent, d'une façon caractéristique, être déplacées hors du nid et amenées directement sur les proies : elles sont pour cela saisies par la tête et transportées horizontalement sous le corps des ouvrières, comme cela a déjà été décrit pour d'autres espèces de Cerapachyinae (Hölldobler 1982, Buschinger et al. 1989), ainsi que pour les fourmis légionnaires (Schneirla 1971). Cet acheminement des larves directement sur le site de nourriture n'a été observé qu'en cas d'importants apports alimentaires, et notamment lorsqu'en pénurie de couvain de myrmécines, les colonies de *C. biroi* ont été nourries avec des nymphes de *Bombus terrestris*. Hormis ce cas extrême inimaginable en nature, ce comportement laisse toutefois supposer que les colonies de *C. biroi* peuvent tout à fait abandonner leur nid pour venir directement investir le nid d'une colonie proie d'où elles ont préalablement chassé les résidentes. En effet, si ce nid dispose de proies en nombre supérieur à celui de larves contenues dans la colonie de *C. biroi*, il apparaît dès lors moins coûteux et aisément envisageable pour une espèce aux mœurs nomades de transporter son propre couvain plutôt que des proies déjà acquises.

4.4) Structure et organisation sociales

Contrairement à la plupart des sociétés d'insectes, les colonies de *C. biroi* sont dépourvues de la caste reine. Les mâles, eux, ne sont produits que très rarement chez ces fourmis thélytoques et apparaissent comme des reliques, réminiscences du passé amphimictique de l'espèce. En effet, les femelles sont dépourvues de spermathèque (Tsuji & Yamauchi 1995) excluant toute forme de reproduction sexuée et traduisant par là-même le caractère accidentel de l'apparition occasionnelle de ces mâles au sein des colonies. La reproduction au sein des colonies est donc assurée par l'ensemble des individus grâce à la parthénogénèse thélytoque et ceci sans aucune hiérarchie reproductive (Tsuji & Yamauchi 1995, Ravary & Jaisson 2004) (voir ci-dessus). Toutefois, au sein de ces sociétés clonales résident deux castes morphologiques d'individus dont les capacités de reproduction et le comportement diffèrent grandement. D'un côté les **ouvrières** et de l'autre les **intercastes** qui, plus grandes et plus fécondes, sont spécialisées dans la reproduction (Ravary & Jaisson 2004, Figure I-6).

Représentant en moyenne plus de 94% de la population d'une colonie, les **ouvrières** disposent d'une fécondité réduite (2 ou 3 ovarioles) et limitée dans le temps. Celles-ci ne se reproduisent en effet que durant les trois ou quatre premiers cycles de leur vie et ne pondent à chacune de ces quelques phases stationnaires qu'un ou deux œufs (Ravary & Jaisson 2004). Durant cette période, les jeunes ouvrières demeurent au nid à pondre et à prendre soin du couvain. Plus tard, après trois à quatre cycles en moyenne, lorsque leur capacité ovarienne régresse, elles s'orientent vers des activités extérieures (principalement le fourragement) et meurent en fourrageuse. On observe donc chez les ouvrières deux castes comportementales distinctes dont les activités sont étroitement liées aux capacités reproductives : d'un côté les vieilles ouvrières stériles spécialisées dans le fourragement et, de l'autre, les jeunes ouvrières fertiles qui réalisent l'essentiel des pontes et les tâches associées à l'élevage des jeunes (Ravary & Jaisson 2004). Répandu chez les insectes sociaux, un tel polyéthisme centrifuge corrélé à l'âge (Wilson 1985) est supposé optimiser la reproduction des ouvrières (West-Eberhard 1981, Bourke 1988) car en demeurant au nid, les jeunes ouvrières, plus fertiles, cèdent le coût du fourragement aux individus ayant une espérance de vie plus faible (Tofilski 2002).

Représentant en moyenne moins de 6% de l'effectif total des colonies fraîchement récoltées (F. Ravary, communication personnelle), les intercastes sont dotées de 4 à 6 ovarioles leur octroyant des capacités de ponte supérieures et durables en comparaison des ouvrières. Elles sont capables de pondre entre 4 et 8 œufs au cours d'une même phase stationnaire (Ravary & Jaisson 2004). Elles ne sont jamais impliquées dans les tâches extérieures et demeurent selon toute vraisemblance impliquées dans la reproduction et les soins au couvain tout au long de leur vie. Outre leur nombre d'ovarioles plus important, les intercastes se distinguent aussi morphologiquement des ouvrières par la présence d'ocelles, d'yeux vestigiaux plus ou moins développés, et par des tergites plus ou moins fusionnés (Figures I-6 et I-7). Enfin les études morphométriques réalisées montrent que les intercastes sont significativement plus grandes que les ouvrières et qu'elles présentent une largeur de tête, de thorax, et de gastre plus importante (Ravary & Jaisson 2004) (Figure I-6).

Par ailleurs, les intercastes semblent ne jamais faire preuve de comportements agressifs, ce qui suggère que leur statut reproducteur n'est lié à aucune hiérarchie de dominance, comme on l'observe chez d'autres espèces telles que *Diacamma sp.* (Peeters & Tsuji 1993), *Pachycondyla sp* (Ito & Higashi 1991, Oliveira & Hölldobler 1990, Heinze et al. 1996, Dietemann & Peeters 2000), *Dinoponera quadriceps* (Monnin & Peeters 1999) ou encore dans le genre *Leptothorax* (Heinze et al. 1994).

Au contraire, des cas d'agression de la part d'ouvrières envers des intercastes ont pu être relevés dans les colonies en élevage au laboratoire (observations personnelles, Ravary 2003). Observables généralement en phase de fourragement, ces agressions peuvent impliquer de une à six ouvrières qui saisissent l'intercaste par les pattes et l'immobilisent (voir photo) ou la traînent sur quelques centimètres. Le plus souvent, l'intercaste agressée reste immobile. Lorsqu'elle essaie de s'échapper, les agresseuses tentent de la piquer. Les intercastes agressées sont alors systématiquement éconduites hors du nid et continuent d'être agressées par les fourrageuses puisqu'aucune échappatoire n'est possible en laboratoire. Ces séquences d'agression conduisent ainsi à la mort de l'intercaste ou, en nature, à son expulsion, ce qui équivaut à une mort certaine.

Ces agressions occasionnelles et imprévisibles apparaissent plutôt inattendues au sein de sociétés où la probable uniformité génétique induite par la thélytoquie ne semble fournir aucune base à un conflit colonial pour la reproduction. L'un des enjeux de cette thèse consiste à étudier les mécanismes de différenciation intercaste/ouvrière et de régulation du ratio intercastes/ouvrières au sein des colonies, afin de mieux appréhender ce phénomène.



Figure I-6. (a) Intercaste et (b) ouvrière néonates de *Cerapachys biroi*. Echelle : 1 mm. (photo Emmanuel Lecoutey)

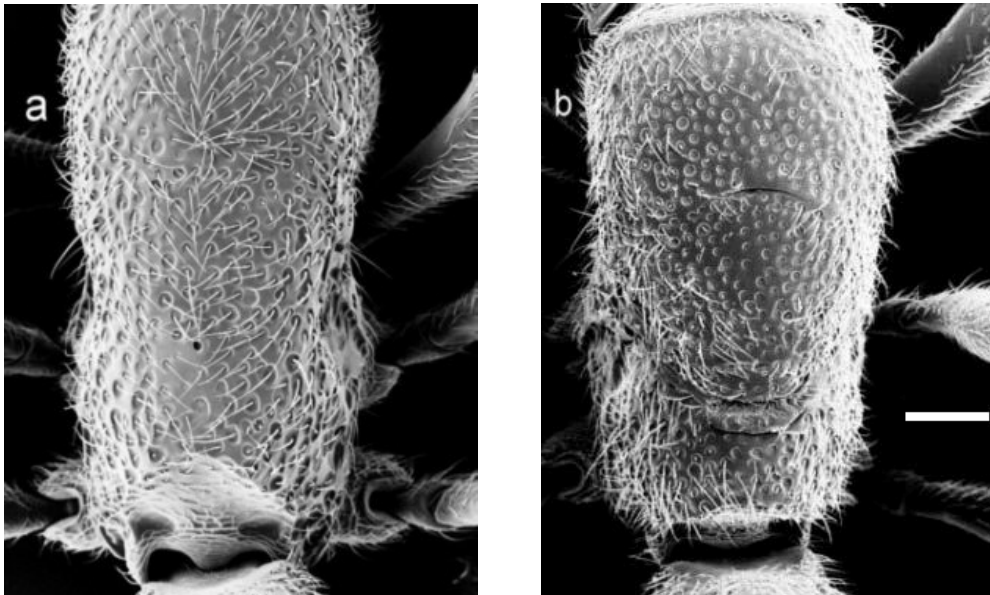


Figure I-7. Microscopie électronique du thorax chez *C. biroi* en vue dorsale, montrant des différences dans le degré de fusion des tergites thoraciques entre a) ouvrière et b) intercaste. Echelle: 0.1 mm (d'après Fabien Ravary 2003).

Chapitre 2

LA REGULATION DES INTERCASTES CHEZ *CERAPACHYS BIROI*

1) Introduction

Chez de nombreux insectes eusociaux la division du travail reproducteur est intimement liée à la spécialisation morphologique de deux castes femelles en relation avec leur rôle respectif au sein de la colonie (Oster & Wilson 1978). Typiquement, nous l'avons vu, les reines sont prédisposées à la dispersion, la fondation et à une activité de ponte permanente. Les ouvrières, quant à elles, sont spécialisées pour les soins au couvain, le fourragement et la défense de la colonie. Chez les fourmis en particulier, les différences morphologiques entre ces deux castes sont généralement très prononcées : la reine vierge dispose d'une paire d'ailes, pour la dispersion, qu'elle perdra après accouplement. Elle possède en outre un large thorax, un nombre important d'ovaires ainsi qu'une spermathèque afin de stocker pendant de nombreuses années le sperme accumulé lors de son (ou ses) accouplement(s) de début de vie. En revanche, dépourvue d'ailes et plus petite que la reine, l'ouvrière présente un thorax étroit dont les sclérites sont fusionnées. Ses capacités ovariennes sont généralement réduites et elle ne dispose pas de spermathèque chez la plupart des espèces (Wilson 1971, Hölldobler & Wilson 1990).

Toutefois, ces différences entre reines et ouvrières ne sont pas toujours aussi distinctes et des variations morphologiques entre ces deux formes peuvent être rencontrées chez un nombre important d'espèces. Il arrive ainsi que les individus reproducteurs disposent d'une morphologie semblable à celle des ouvrières (Peeters 1991, Heinze 1998, Peeters & Ito 2001). Ces reproductrices, sans ailes, dont la morphologie combine à la fois des caractéristiques de reines et d'ouvrières ont alors été référencées en tant que reines ergatoïdes, reines intermorphiques ou intercastes en fonction de leur origine développementale, de leur morphologie, de leur fonction ou encore de leur occurrence (revus par Peeters 1991 et Heinze 1998).

Globalement, les **reines ergatoïdes** sont des reines dérivées de formes royales ailées et représentent une modification évolutive permanente de cette forme royale ancestrale. Elles ont donc généralement, chez les espèces où elles sont présentes, remplacé la forme ailée. Systématiquement pourvues d'une spermathèque, elles ont toujours un rôle de reproductrice fonctionnelle au sein de la colonie. Morphologiquement, elles présentent une réduction des sclérites thoraciques et sont généralement distinguables des ouvrières par leurs ocelles, leur plus grande taille et leur capacité ovarienne. Enfin contrairement aux reines intermorphiques

et aux intercastes, toutes les reines ergatoïdes d'une espèce présentent des caractéristiques morphologiques identiques (absence de variations dans le nombre d'ovarioles, d'ocelles, etc.).

Chez les espèces qui en disposent, **les reines intermorphiques** coexistent le plus souvent avec les reines ailées et sont produites régulièrement au sein des colonies. Tout comme les reines ergatoïdes, elles sont spécialisées dans la reproduction et semblent être systématiquement pourvues d'une spermathèque et d'un nombre d'ovarioles équivalent aux reines ailées. Ces reines intermorphiques semblent alors être une réponse adaptative aux coûts importants de dispersion dans les niches écologiques distribuées en patch (ex : milieux insulaires). Enfin elles diffèrent aussi des reines ergatoïdes par le fait qu'elles présentent une morphologie variable mais dont le développement est bien coordonné (gradient développemental cohérent entre les sutures thoraciques, le nombre d'ocelles, le nombre d'ovarioles, etc.).

Enfin **les intercastes** sont, elles aussi, rencontrées au sein de colonies où les reines ailées existent et présentent des variations morphologiques importantes. Cependant, contrairement aux reines intermorphiques, elles se caractérisent par une expression non coordonnée de caractères spécifiques des reines et des ouvrières (absence de relations allométriques dans le développement du corps, de la structure thoracique, du nombre d'ocelles et du nombre d'ovarioles). Elles présentent ainsi différents degrés de simplification des sclérites thoraciques, un nombre d'ovarioles intermédiaire entre celui des reines et celui des ouvrières, et surtout bien souvent une absence de spermathèque. Ne jouant donc généralement pas un rôle reproducteur particulier, les intercastes sont considérées comme des aberrations développementales dont la production erratique résulte de perturbations environnementales au cours du développement pré-imaginal (Peeters 1991, Heinze 1998).

Au vu des différents critères morphologiques et fonctionnels, on pourrait résumer et classer ces trois types de la façon suivante:

Au niveau morphologique : pour une espèce donnée, les reines ergatoïdes sont morphologiquement identiques alors que les reines intermorphiques et les intercastes présentent des variations morphologiques importantes. Ces deux derniers types d'individus se distinguent alors par l'expression coordonnée (chez les reines intermorphiques) ou non (chez les intercastes) de caractères spécifiques des reines et des ouvrières.

Au niveau fonctionnel : pour une espèce donnée, reines ergatoïdes et reines intermorphiques se caractérisent par une spécialisation dans la reproduction, alors que les intercastes n'ont pas de rôle particulier. La reine ergatoïde et la reine intermorphique se distinguent alors par le fait que la première se substitue, d'un point de vue évolutif, à la forme ailée ancestrale, tandis que la seconde représente une forme alternative qui coexiste avec les reines ailées au sein de l'espèce.

Malgré une apparente simplicité, cette classification entre reines ergatoïdes, reines intermorphiques et intercastes n'est pas sans équivoque et, chez certaines espèces, des difficultés peuvent être rencontrées pour caractériser le type d'individus que l'on rencontre. Les intercastes de *C. biroi* en sont un exemple particulièrement illustratif. Morisita et al. (1989) avaient rapporté la présence d'individus de plus grande taille au sein des colonies japonaises de *C. biroi* en les qualifiant à l'époque de reines ergatoïdes. Or ces dernières sont caractérisées par la présence d'une spermathèque et d'une morphologie fixe ; il apparaît donc difficile de reprendre cette dénomination puisque les dissections n'ont jamais permis de mettre en évidence la présence de spermathèque et que ces individus présentent une variabilité morphologique (Tsuji & Yamauchi 1995, Ravary & Jaisson 2004, observations personnelles). Ceci a conduit Fabien Ravary à considérer ces individus comme des intercastes (Ravary 2003, Ravary & Jaisson 2004) et non comme des reines intermorphiques puisque ces dernières sont elles aussi caractérisées par la présence d'une spermathèque. Toutefois, Ravary & Jaisson (2004) ont reporté que les colonies de *C. biroi* élevées en laboratoire ne représentaient que 3,7 à 6,3% de l'effectif. Ces résultats se basent sur des données morphométriques où 50% de l'effectif analysé (n = 207) est constitué d'ouvrières extranidales. Sachant qu'au cours de ces travaux, les intercastes (n = 26) n'ont été trouvées que parmi des individus intranidaux (n = 204) et que les ouvrières extranidales ne représentent que 20% en moyenne de l'effectif total des colonies (voir ci-dessous), il semble évident que la proportion d'intercastes au sein des colonies de *C. biroi* ait été sous-estimée. Une proportion conséquente d'intercastes au sein des

colonies (au moins 10%) irait donc là aussi en faveur de reines intermorphiques puisqu'il apparaît peu probable qu'un nombre aussi important d'individus puissent avoir une origine erratique. Enfin, les intercastes de *C. biroi* présentent un développement morphologique coordonné et un rôle reproducteur indéniable, elles pourraient donc là aussi être considérées comme des reines intermorphiques.

Il apparaît que l'utilisation de simples critères morphologiques et fonctionnels n'est pas suffisante pour caractériser une reproductrice aptère. Par conséquent, la classification d'un individu au sein d'une de ces trois types devrait non seulement prendre en compte son occurrence (exclusive ou alternative) par rapport à la forme ailée, ses caractéristiques morphologiques et fonctionnelles (rôle reproducteur ou non), mais aussi considérer avant tout l'origine développementale de cet individu (est-il issu d'une production erratique ou d'un mécanisme régulé de différenciation ?).

Au vu de ces considérations, il semble possible d'établir une clé de détermination simple, non ambiguë et hiérarchisée, selon un schéma : Production → Fonction → Occurrence → Morphologie (Figure II-1). Cette clé s'avère d'ailleurs polyvalente pour l'ensemble des espèces puisque c'est le critère fonction reproductrice qui est pris en compte alors que la présence/absence d'une spermathèque n'est pas considérée. En effet, une reine peut être caractérisée avant tout par sa spécialisation dans la reproduction et non pas nécessairement par la présence d'une spermathèque puisque le recours à la parthénogénèse thélytoque permet de s'en affranchir (Himler et al. 2009).

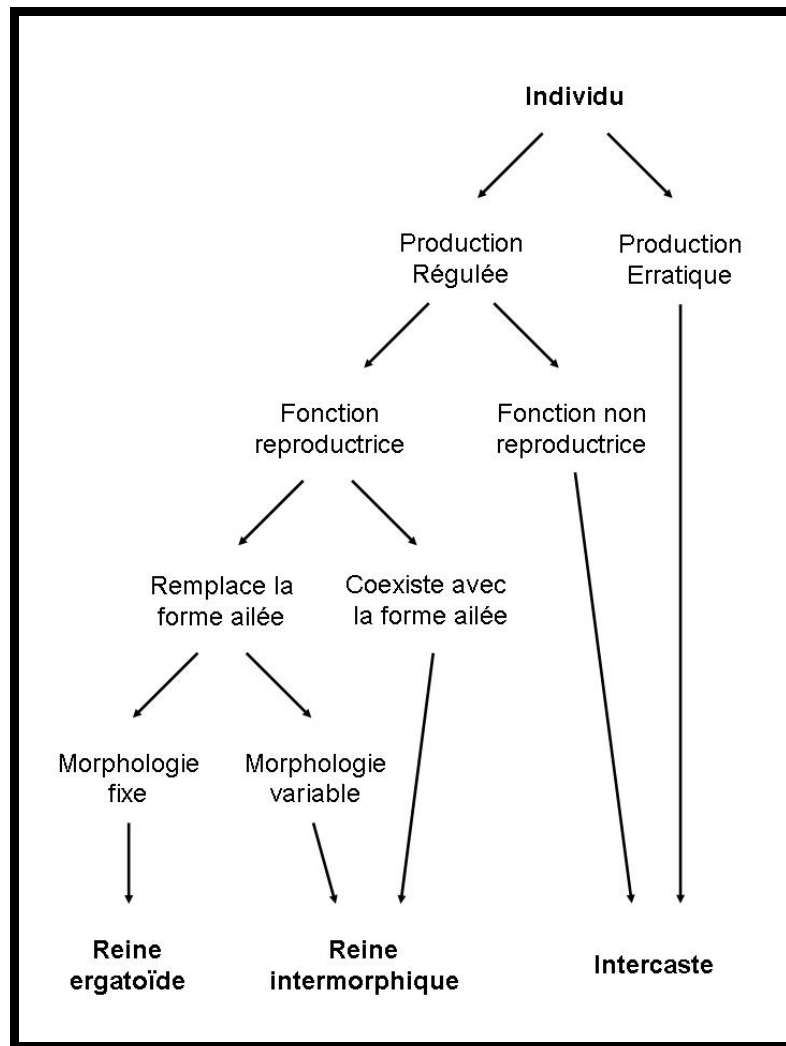


Figure II-1. Clé de détermination des différents types d'individus aptères exprimant des caractéristiques phénotypiques royales chez les Formicidae. Cette classification simple se base sur un schéma [Production → Fonction → Occurrence → Morphologie], l'idéal pour catégoriser un individu étant de connaître l'ensemble des niveaux constitutifs de la clé de détermination. Cependant, dans la majorité des cas, il est possible de classer un individu sans même savoir s'il est issu d'une production erratique ou d'un mécanisme colonial actif de régulation de la différenciation (phéromone, contrôle des apports alimentaires). Enfin cette clé de détermination présente l'avantage, chez les espèces où la forme ailée n'a jamais récoltée, d'utiliser la morphologie comme critère ultime de classification. Il faut en effet admettre que ce n'est pas parce que la forme ailée n'a jamais été rapportée chez une espèce que celle-ci n'existe pas.

Une telle clé de détermination trouve sa nécessité chez de nombreuses espèces et s'avère non négligeable pour l'étude d'une espèce parthénogénétique telle que *Cerapachys biroi*. En effet, chez cette espèce où tous les individus (ouvrières et intercastes) se reproduisent par parthénogenèse thélytoque, l'origine des intercastes demeure encore inconnue. La démonstration d'une production erratique et aléatoire de ces individus les laisserait au rang d'intercastes (voir Figure II-1). Ces individus hautement fertiles qui pondent sans jamais collaborer au fourragement et aux tâches de manutention sont susceptibles de baisser la productivité globale de la colonie (Tsuji 1995). Elles ne seraient que des fardeaux sans utilité pour les sociétés de *C. biroi*, expliquant ainsi les agressions dont elles font parfois l'objet (Ravary 2003, Ravary & Jaisson 2004). Par contre, une production activement régulée de ces individus les élèverait au rang de reines intermorphiques (voir Figure II-1) dont la fonction adaptative devra être recherchée via l'étude des conditions environnementales de développement.

L'hypothèse de travail est que, si les intercastes de *C. biroi* sont effectivement produites aléatoirement, leur production ne devrait pas varier, quel que soit le ratio colonial intercastes/ouvrières. En revanche, si ces individus atypiques sont produits de manière adaptative et régulée à des fins reproductrices, leur production devrait être ajustée en fonction de la proportion d'intercastes présente au sein des colonies expérimentales. Par ailleurs, la régulation du ratio intercastes/ouvrières pourrait aussi intervenir à l'âge adulte au travers des agressions précédemment évoquées. Il est donc prédit qu'un taux anormalement élevé d'intercastes, qu'elles soient issues d'une production erratique ou régulée, conduise à de nombreuses exécutions par les ouvrières.

Afin de tester ces hypothèses, des colonies de différents ratios intercastes/ouvrières ont été établies et suivies quotidiennement durant 5 cycles reproducteurs. Dans chaque traitement, la production et la mortalité des intercastes et des ouvrières ainsi que les agressions ont été systématiquement répertoriés afin d'évaluer l'évolution du ratio intercastes/ouvrières au cours de cinq cycles reproducteurs consécutifs.

2) Procédure

2.1) Origine et élevage des colonies expérimentales

Les colonies expérimentales utilisées pour cette expérience sont issues du bouturage de quatre colonies mères récoltées à Taiwan et Okinawa (T3A, T4, T5 et O5 ; cf. Chapitre I). Chaque colonie est installée dans un nid artificiel constitué d'une boîte plastique circulaire (\emptyset : 8cm x h: 5cm) à moitié remplie de plâtre de Paris, au centre duquel une loge unique est creusée (L: 2cm x l: 1cm x h: 0,6cm), communiquant avec l'aire de fourragement. Cette loge est recouverte d'une lame de verre et d'un filtre rouge en Plexiglas qui font office de toit et qui permettent d'observer la colonie. La paroi de la boîte est enduite de Fluon® pour éviter toute évasion des fourmis. La température est maintenue entre 26 et 28°C et l'hygrométrie entre 65 et 75%. La photopériode de 12 heures commence à 09h00.

2.2) Protocole expérimental

Pour chaque colonie mère utilisée ($N = 4$), trois colonies expérimentales sont obtenues par bouturage. La première consiste en une colonie dépourvue d'intercaste (0X). La seconde colonie est composée d'un pourcentage d'intercastes identique à celui de la colonie mère (X). La troisième colonie est constituée d'un pourcentage d'intercastes deux fois supérieur à celui observé dans la colonie mère (2X).

Chaque colonie mère est dénombrée en début de phase de fourragement afin de pouvoir distinguer les ouvrières intranidales (jeunes ouvrières fertiles) des ouvrières extranidales (vieilles ouvrières stériles). Les extranidales, les intranidales et les intercastes sont alors séparées sous loupe binoculaire puis comptées pour la constitution des groupes expérimentaux. Le dénombrement de l'ensemble des individus de chaque colonie mère révèle alors que les ouvrières extranidales représentent environ 20% de l'effectif colonial.

Chaque colonie expérimentale est ensuite initialement constituée de 20 larves de premier stade et de 100 individus dont la proportion de chaque (sous-)caste est fonction de celle initialement présente dans la colonie mère ainsi que du lot expérimental (0X, X, 2X intercastes) (Tableau II-1).

	lot 0 intercaste				lot X intercastes				lot 2X intercastes			
colonies	OE	OI	I	% I	OE	OI	I	% I	OE	OI	I	% I
T3A	20	79	1	1	12	48	40	40	4	16	80	80
T4	20	80	0	0	17	66	17	17	17	49	34	34
T5	20	80	0	0	16	64	20	20	12	48	40	40
O5	20	80	0	0	18	70	12	12	18	58	24	24

Tableau II-1. Composition des colonies de chaque lot expérimental en fonction du pourcentage initial d'intercastes présent dans chaque colonie mère (encadré en noir). Une fois le pourcentage d'intercaste déterminé, chaque colonie est composée de la façon suivante : N intercastes + $0.2(100-N)$ ouvrières extranidales + $0.8(100-N)$ ouvrières intranidales. On remarque que la colonie T3A sans intercaste contient une intercaste. Il s'agissait en fait d'une fourmi initialement considérée comme une ouvrière mais les agressions puis la dissection dont elle a fait l'objet ont révélé qu'elle était une intercaste.

Les fourmis de chaque colonie sont marquées à l'aide de peintures issues de stylos Uni Paint Marker PX-20 (Mitsubishi). Les ouvrières sont marquées d'une tâche jaune sur l'abdomen, tandis que les intercastes sont individuellement marquées d'une tâche sur l'abdomen et sur le thorax pour être identifiées tout au long de l'expérience (Figure II-2). Afin d'estimer l'évolution de la population et la régulation potentielle des intercastes, les individus morts et les agressions sur les intercastes sont relevés au cours des cinq cycles reproducteurs de l'expérience. La production d'ouvrières et d'intercastes est également évaluée au début de chaque phase de fourragement. Les jeunes fourmis émergentes sont alors prélevées le temps d'être comptabilisées puis répertoriées et marquées en fonction de leur caste.

Enfin, l'activité de fourragement est systématiquement notée afin d'évaluer les besoins alimentaires de la colonie : en phase de fourragement, les colonies sont nourries deux fois par semaine et la quantité de proies apportées est fonction du nombre moyen de fourrageuses observées le jour précédent et le jour-même de l'apport alimentaire. A chaque fois, trois nymphes de *Tetramorium bicarinatum* sont apportées pour une moyenne de dix fourrageuses. Par exemple, si lors des deux observations précédant l'apport alimentaire une moyenne de 33 fourrageuses est observée, la colonie reçoit dix nymphes de *T. bicarinatum*.



Figure II-2. Exemple de colonie de *C. biroi* où les individus sont marqués. Les ouvrières sont toutes marquées d'une tâche jaune sur l'abdomen. Cependant, contrairement à l'expérience décrite, les intercastes sont sur cette photo tantôt marquées d'une tâche orange sur l'abdomen tantôt individuellement marquées d'une tâche sur le thorax et d'une ou deux tâches sur l'abdomen.

3) Résultats

3.1) Les agressions et exécutions d'intercastes

Sur un total de 477 intercastes que regroupait l'ensemble des colonies expérimentales, seules 19 intercastes ont été agressées (4%) (Tableau II-2). Ces agressions pouvant être assimilées à des exécutions puisque 16 d'entre elles y ont trouvé la mort (84%). Contrairement aux prédictions envisagées, la proportion d'intercastes présentes au sein des colonies n'a eu aucun effet significatif sur le nombre d'agressions observées pour les souches T5, O5 et T3A (voir statistiques tableau II-3). Tous traitements confondus, ces différentes souches n'ont en effet présenté respectivement que 0, 1 et 4 intercastes agressées au cours des cinq cycles reproducteurs. Seule la souche T4 présente un effet hautement significatif de la proportion d'intercastes sur les agressions observées ($P < 0.001$, voir tableau II-3). Précisément, l'effet observé concerne la colonie composée de X intercastes qui a révélé un nombre d'agressions plus important que les colonies initialement constituées de 0 et 2X intercastes. Globalement, les quatre souches étudiées ne permettent pas de conclure à une régulation du ratio intercastes/ouvrières au travers des phénomènes d'exécution d'intercastes qui demeurent toujours imprévisibles en l'état actuel de nos connaissances.

	T3A			T4			T5			O5		
	0X	X	2X	0X	X	2X	0X	X	2X	0X	X	2X
intercastes agressées	2	0	2	0	10	4	0	0	0	1	0	0
intercastes non agressées	47	64	106	16	21	49	13	23	51	26	17	25

Tableau II-2. Nombre d'intercastes victimes ou non d'agressions au sein des différents traitements expérimentaux de chaque souche de *C. biroi*.

colonies	Test exact du Chi ² Effet traitement (0X, X, 2X)			Méthode de Bonferroni seuil $\alpha = 0,05$, 3 comparaisons		
	X ²	d.l.	P	0X vs 2X	X vs 2X	0X vs X
T3A	2,60	2	0,259	-	-	-
T4	13,02	2	2x10⁻³	N.S	S	S
T5	0,70	2	1	-	-	-
O5	1,57	2	1	-	-	-

Tableau II-3. Analyses statistiques de l'influence de la proportion d'intercastes au sein des colonies sur les agressions d'intercastes. Analyses réalisées à l'aide du logiciel StatXact-8.

3.2) L'évolution du ratio intercastes/ouvrières

Quels que soient le traitement et la souche d'origine, on constate que les colonies ont essentiellement produit des ouvrières tout au long des cinq cycles reproducteurs (Tableau II-4). Toutefois, tandis que les colonies originaires dépourvues d'intercastes en augmentent la proportion au cours du temps, les colonies présentant initialement X ou 2X intercastes diminuent progressivement leur proportion d'intercastes en favorisant le développement de la caste ouvrière et/ou, à l'image de la souche T4, en exécutant des intercastes (Figure II-3).

Ainsi, alors qu'en début d'expérience les effectifs ouvrières/intercastes des traitements de chaque souche différaient les uns des autres (Tableaux II-4, 5), aucune différence significative n'est plus observée entre les lots 0X et X intercastes au bout des cinq cycles reproducteurs. La différence initiale entre les lots X et 2X intercastes disparaît d'ailleurs aussi pour trois des quatre souches coloniales (T4, T5, O5). Concernant la souche T3A, les écarts initiaux entre traitements étant très élevés du fait de la présence, dans la colonie souche, d'une grande proportion d'intercastes (40%, Tableau II-1), il est à supposer qu'un nombre plus conséquent de cycles reproducteurs eût été nécessaire au lot 2X intercastes pour rétablir une proportion d'intercastes équivalente à celle des deux autres lots. Cette hypothèse est d'ailleurs confortée par le fait que seuls les traitements de la souche O5, qui présentait initialement le taux d'intercastes le plus faible (12%), ne montrent plus de différences significatives dans leurs effectifs coloniaux en fin d'expérience (Tableau II-5).

Ces résultats sembleraient aller dans le sens d'une régulation active du ratio intercastes/ouvrières en fonction de la composition initiale des colonies en intercastes. Toutefois, il pourrait s'agir aussi d'une régulation passive puisque une production biaisée en faveur des ouvrières et une production aléatoire d'intercastes pourrait rendre compte de l'évolution du ratio intercastes/ouvrières observé dans les différents traitements expérimentaux. En effet, de telles productions ne peuvent à long terme qu'augmenter le ratio intercastes/ouvrières dans les lots 0X et diminuer la proportion d'intercastes présentes dans les lots X et 2X intercastes, et ceci jusqu'à un pourcentage d'équilibre qui serait dépendant de la quantité d'ouvrières produite à chaque cycle et de la probabilité d'apparition d'intercastes erratiques.

Par conséquent, l'étude de la production nette (= production - mortalité) d'ouvrières et d'intercastes au sein de chaque traitement est rendue indispensable pour juger du caractère actif ou non de la régulation qui s'opère sur le ratio intercastes/ouvrières.

		T3A			T4			T5			O5		
		0X	X	2X	0X	X	2X	0X	X	2X	0X	X	2X
Début	ouvrières	99	60	20	100	83	66	100	80	60	100	88	76
Expérience	intercastes	1	40	80	0	17	34	0	20	40	0	12	24

Fin	ouvrières	181	161	101	212	133	200	261	221	211	247	223	182
Expérience	intercastes	43	53	77	15	21	46	12	21	37	26	17	23

Tableau II-4. Effectifs ouvrières/intercastes des traitements expérimentaux de chaque souche en début et fin d'expérience.

		Test du chi2, méthode exacte Effet traitement (0X, X, 2X)			Méthode de Bonferroni seuil alpha = 0,05 et 3 comparaisons		
	colonie	X2	d.l.	P	0X vs 2X	X vs 2X	0X vs X
Début Expérience	T3A	129,7	2	6,6x10⁻³¹	S	S	S
	T4	40,96	2	1x10⁻⁹	S	S	S
	T5	50	2	1x10⁻¹¹	S	S	S
	O5	27,27	2	1,2x10⁻⁶	S	S	S
Fin Expérience	T3A	30,22	2	2,4x10⁻⁷	S	S	N.S
	T4	15,24	2	4,4x10⁻⁴	S	N.S	N.S
	T5	17,38	2	1,6x10⁻⁴	S	N.S	N.S
	O5	2,32	2	0,32	N.S	N.S	N.S

Tableau II-5. Analyses statistiques des différences d'effectifs ouvrières/intercastes entre traitements de chaque souche au début et en fin d'expérience. Analyses réalisées à l'aide du logiciel StatXact-8.

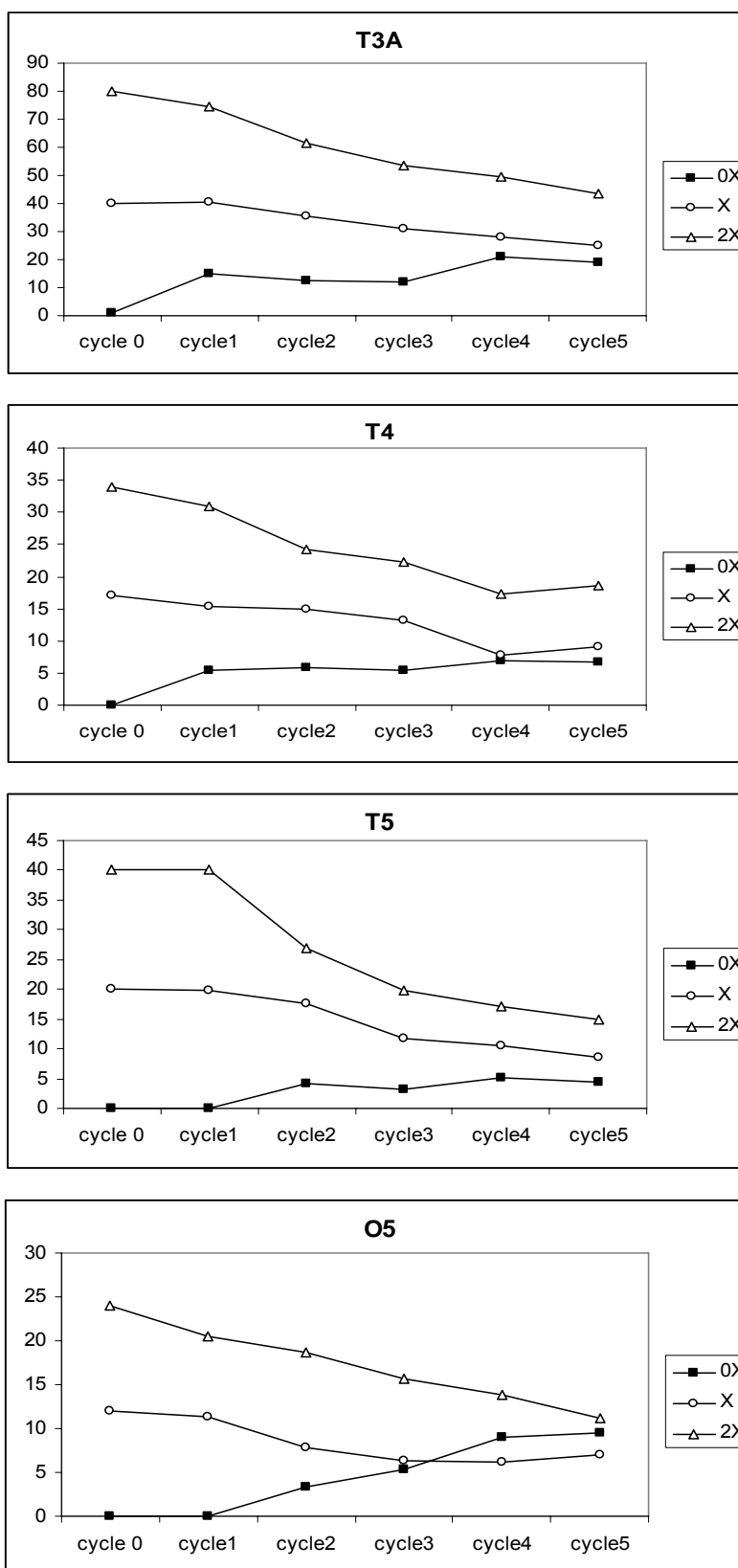


Figure II-3. Evolution du pourcentage d'intercastes en fonction des différents traitements expérimentaux de chaque souche de *C. biroi*.

3.3) La production d'ouvrières et d'intercastes

Les différents traitements (0X, X, 2X) se sont avérés influencer significativement sur la production nette (= production - mortalité) d'intercastes et d'ouvrières au cours des cinq cycles reproducteurs ($p < 0.05$ pour chaque souche, voir Tableaux II-6, 7). Pour chaque souche, la production nette d'intercastes a été statistiquement plus importante au sein du lot initialement dépourvu d'intercaste que dans le lot constitué d'une proportion d'intercastes identique à la colonie mère (X). A l'exception de la souche T4, cette production nette d'intercastes a aussi été significativement plus importante pour le lot 0X que pour le lot 2X intercastes. Enfin seules les souches T3A et O5 présentent pour le traitement X intercastes une production nette d'intercastes supérieure à celle du traitement 2X intercastes (voir Tableaux II-6, 7).

		T3A			T4			T5			O5		
		0X	X	2X	0X	X	2X	0X	X	2X	0X	X	2X
Production	ouvrières	113	129	96	127	169	158	184	159	199	187	189	141
	intercastes	48	30	28	16	14	19	12	4	11	27	6	2
-													
Mortalité	ouvrières	31	28	15	15	39	24	23	18	48	40	49	35
	intercastes	6	11	31	1	10	7	1	2	14	1	0	2
=													
production nette	ouvrières	82	101	81	112	130	134	161	141	151	147	140	106
	intercastes	42	19	- 3	15	4	12	12	2	- 3	26	6	0

Tableau II-6. Production nette (production – mortalité) d'ouvrières et d'intercastes au sein des différents traitements expérimentaux de chaque souche de *C. biroi*. Notons que les données négatives sont substituées par la valeur 0 pour l'analyse statistique résumée dans le tableau II-7.

Colonies	Test exact du Chi ² Effet traitement (0X, X, 2X)			Méthode de Bonferroni seuil $\alpha = 0,05$, 3 comparaisons		
	χ^2	d.l.	P	0X vs 2X	X vs 2X	0X vs X
T3A	34,94	2	8,7x10⁻⁹	S	S	S
T4	7,33	2	0,025	N.S	N.S	S
T5	15,15	2	3,8x10⁻⁴	S	N.S	S
O5	25,06	2	4,5x10⁻⁶	S	S	S

Tableau II-7. Analyses statistiques de l'influence de la proportion d'intercastes au sein des colonies sur la production nette d'intercastes et d'ouvrières. Analyses réalisées à l'aide du logiciel StatXact-8.

4) Discussion

L'ensemble des résultats démontre que les intercastes ne sont pas produites de manière aléatoire et erratique puisque que les colonies de *C. biroi* contribuent activement à réguler le ratio intercastes/ouvrières. Par conséquent, au vu des critères établis précédemment pour classer les reproductrices aptères, il apparaît que les intercastes de *C. biroi* doivent à l'avenir être considérées comme des reines intermorphiques.

Bien que cette régulation du ratio intercastes/ouvrières s'opère essentiellement au niveau de la production des individus, indiquant par là-même que le déterminisme des larves est activement contrôlé, celle-ci semble aussi pouvoir s'effectuer via les exécutions d'intercastes.

Ces exécutions ne semblent toutefois pas être liées à la proportion d'intercastes présentes dans les colonies, les rendant ainsi imprévisibles. Néanmoins, on remarque que pour la seule souche T4, 8 des 10 intercastes agressées dans le lot X (dont 7 ont été exécutées) et 3 des 4 intercastes agressées dans le lot 2X (les 3 ayant été exécutées) l'ont été durant une période unique d'un mois (du 6/2/08 au 14/3/08). Cette période d'exécution n'ayant pas concerné l'ensemble des colonies, il semble difficile d'invoquer une influence externe telle que les conditions de pressions, de température ou d'humidité sur l'initiation de ces agressions. Ces deux lots expérimentaux étant issues d'une même souche, il pourrait s'agir d'un processus endogène aux colonies qui, à certaines périodes de l'année et sous certaines conditions coloniales, pourraient initier ces exécutions d'intercastes. Cette idée est renforcée par le fait que, au laboratoire, les colonies mères maintenues en élevage présentent parfois inopinément une salve d'exécutions (observations personnelles).

Un phénomène analogue a été rapporté au sein des colonies polygynes de *Linepithema humile* (Keller et al. 1989). Chez cette fourmi, 90% des reines sont exécutées en mai au début de la saison de reproduction. L'hypothèse invoquée serait un mécanisme visant à supprimer l'inhibition royale pour permettre l'élevage des sexués (mâles et reines). L'inhibition royale étant généralement considérée comme liée à la fertilité (Keller & Nonacs 1993) et toutes les jeunes ouvrières et les intercastes de *C. biroi* étant fertiles, une telle hypothèse semble difficilement envisageable pour *C. biroi*. En effet, dans ce cas, les agressions devraient aussi être orientées vers les jeunes ouvrières fertiles. Par ailleurs, même si l'on considère que seules les intercastes sont à l'origine d'une inhibition, trop peu d'entre elles sont chaque année

exécutées pour permettre à la colonie de s'affranchir d'une inhibition qui permettrait la production de nouvelles intercastes.

Un autre argument pourrait alors être avancé et concernerait une production excessive d'intercastes qui résulterait d'un conflit dans le déterminisme de caste. La théorie du conflit de destin de caste prévoit en effet que les larves d'une colonie doivent tenter de se développer en reine plutôt qu'en ouvrière afin de bénéficier d'une plus grande reproduction directe (Bourke & Ratnieks 1999). Ainsi dans les situations où les larves femelles peuvent déterminer leur propre destin de caste, une surproduction de reines est prédite. Ceci a déjà été observé chez *Melipona beecheii* (Wenseleers et al. 2004a). Chez ces abeilles, les reines et les ouvrières sont de tailles similaires et se développent dans des cellules de tailles identiques. Puisque des différences alimentaires ne peuvent influencer sur le déterminisme des castes, les larves contrôlent totalement leur destin et jusqu'à 16% d'entre elles se développent « égoïstement » en reine. Cette production excessive de reines conduit alors les ouvrières à les exécuter dès leur émergence (Wenseleers et al. 2004a).

Le dimorphisme ouvrière/intercaste étant très faible chez *C. biroi* (Ravary & Jaisson 2004), une telle interprétation aurait pu être envisagée, d'autant plus que des exécutions d'intercastes émergentes sont régulièrement observées au laboratoire (observations personnelles). Cependant, nous avons constaté qu'un mécanisme actif de régulation du ratio intercastes/ouvrières s'exerçait via un contrôle du type d'individus produits. Par conséquent, les larves ne semblent pas être en mesure de déterminer leur caste par elles-mêmes.

De plus, la compétition pour l'accès à la reproduction entre des membres d'un même clone est un phénomène étonnant car, dans ces conditions, les individus peuvent améliorer leur fitness autant à travers leur propre reproduction qu'à travers celle d'un tiers. On devrait donc s'attendre à ce que les interactions agonistiques, susceptibles de réduire la productivité de la colonie, soient réfrénées. Dans cette optique, les agressions et les exécutions dont font l'objet les intercastes semblent pouvoir être interprétées comme un moyen de supporter une forte pression de sélection au niveau colonial (liée par exemple à la limitation des ressources disponibles). Telle est l'hypothèse émise par Fabien Ravary (2003). Selon lui, les agressions observées pourraient avoir lieu dans un contexte de compétition intraspécifique et se rapporter aux capacités des colonies de *C. biroi* à exploiter leur milieu. Selon cette théorie, le ratio colonial entre le nombre d'ouvrières et d'intercastes résulterait d'un compromis. D'un côté, la sélection intracoloniaire favoriserait le développement d'intercastes dont les capacités ovariennes plus importantes permettent une production abondante de couvain, ce qui assurerait à la colonie un fort taux de croissance. Cependant, la présence d'un nombre trop

important d'intercastes qui pondent sans jamais collaborer au fourragement ou aux tâches de manutention serait susceptible de baisser la productivité globale de la colonie qui, faute de main-d'œuvre suffisante, ne pourrait exploiter efficacement le milieu environnant. La concurrence des colonies voisines opèrerait ainsi contre la prolifération des intercastes (sélection interdémique: Tsuji 1994, 1995). Dès lors, les agressions apparaîtraient comme un mécanisme actif de régulation du ratio intercastes/ouvrières face aux pressions environnementales.

En apparence cette hypothèse semble difficilement envisageable puisque de nombreuses agressions auraient dû logiquement se produire dans les lots composés de 2X intercastes. Toutefois la fertilité des intercastes est demeurée inconnue. Il est donc possible que de nombreuses vieilles intercastes aux capacités de ponte réduites aient été utilisées pour les expériences. Par conséquent, les colonies n'ont peut-être pas eu à avoir recours à des agressions coûteuses énergétiquement pour exécuter des individus dont la production réduite de couvain n'était pas susceptible de générer de forts besoins alimentaires, eux aussi coûteux en fourragement. Enfin, les colonies disposant visiblement d'un mécanisme actif de contrôle de la différenciation des larves, celles-ci ont sans doute favorisé une production ouvrière plutôt que des exécutions d'intercastes afin de diminuer progressivement le ratio intercastes/ouvrières.

Globalement, les agressions sembleraient donc pouvoir essentiellement survenir dans la situation où une colonie de *C. biroi* se trouve dans l'incapacité à élever l'ensemble du couvain produit à chaque cycle reproducteur. Cette condition critique peut se produire si la force de fourragement et/ou les ressources alimentaires sont insuffisantes. Chez cette espèce aux mœurs nomades, des déménagements et/ou des fissions coloniales sont alors prédites en nature afin de pallier ces contraintes coloniales. Par contre, en laboratoire, aucune échappatoire n'est possible. Les colonies n'auraient pas d'autres moyens que d'exécuter les individus les plus fertiles, qu'ils soient déjà présents dans la colonie depuis des mois ou qu'ils viennent d'émerger après avoir échappé au mécanisme actif de contrôle lors de leur développement larvaire (cas d'une phéromone inhibitrice de contact par exemple).

Même si les agressions peuvent être utilisées afin de réguler le ratio intercastes/ouvrières, il apparaît clairement que les colonies de *C. biroi* ont eu recours à un autre mécanisme actif de contrôle de la population. Les résultats obtenus concernant la production nette d'individus démontrent ainsi que le destin des larves est contrôlé par la colonie. Deux interprétations semblent alors envisageables et non exclusives l'une de l'autre. La première considère l'influence des apports alimentaires sur le destin des larves. Alors que le protocole expérimental prévoit que l'activité de fourragement reflète les besoins alimentaires de la colonie, les différents lots expérimentaux (0X, X, 2X) ne présentent pas, à la base, une force ouvrière de fourragement identique. La quantité de proies apportées aux colonies ayant été fonction du nombre d'individus mobilisés dans le fourragement lors de chaque apport alimentaire, il est tentant de penser que les lots expérimentaux initialement dépourvus d'intercastes (0X) ont bénéficié d'apports alimentaires plus importants que les lots X et surtout 2X intercastes. Etant donné l'impact considérable de la nourriture dans le déterminisme des larves (Oster & Wilson 1978, Hölldobler & Wilson 1990), une différence d'apports alimentaires pourrait avoir influé sur la proportion d'ouvrières et d'intercastes produites à chaque cycle reproducteur. Toutefois, on constate que pour chaque traitement (0X, X, 2X intercastes), il n'existe aucune corrélation entre le nombre de proies qu'a reçu une colonie au cours d'un cycle reproducteur et le pourcentage d'intercastes produites à l'issue de ce cycle (Test de corrélation de Pearson, $N = 20$ pour chaque traitement (5 cycles reproducteurs par souche), 0X : $R = -0,33$, $P = 0,15$; X : $R = -0,33$, $P = 0,14$; 2X : $R = -0,11$, $P = 0,65$). Par conséquent, même si cette étude n'était pas menée dans ce sens, il semble que les apports alimentaires ne jouent pas un rôle prépondérant dans le déterminisme des larves de *C. biroi*.

La deuxième voie possible pour les colonies de *C. biroi* de contrôler le destin des larves pourrait être liée à une phéromone inhibitrice. En effet, les colonies supposées les plus fertiles (2X intercastes) ont progressivement diminué leur ratio intercastes/ouvrières en favorisant essentiellement une production ouvrière, tandis que les colonies supposées les moins fertiles (0X intercaste) ont progressivement augmenté ce ratio. Il serait donc fort probable qu'une phéromone inhibitrice émise par les intercastes, et peut-être aussi par les ouvrières fertiles, contraigne la plupart des larves à s'orienter vers un développement ouvrière.

Un tel mécanisme autorégulé permettrait aux colonies hautement fertiles de favoriser une production ouvrière afin d'optimiser la productivité coloniale. Cependant, les colonies de *C. biroi* sont dépourvues de reine et la reproduction est essentiellement assurée par les ouvrières dont les capacités de ponte sont réduites et éphémères (Ravary & Jaisson 2004). Aussi, ce processus faciliterait au sein des colonies peu fertiles ou sur le déclin la production d'intercastes dont les capacités ovariennes permettraient de refertiliser et de repeupler rapidement la colonie.

Bien qu'adaptative, l'existence d'une phéromone inhibitrice contrôlant le destin des larves de *C. biroi* n'est pour l'instant qu'hypothétique. En outre, d'autres mécanismes tels que des effets maternels, l'influence de signaux alimentaires spécifiques, ou encore des morsures peuvent orienter le destin des larves chez de nombreux insectes sociaux (voir Introduction). C'est donc logiquement que le chapitre suivant s'intéresse aux différents mécanismes potentiellement impliqués dans le déterminisme des intercastes chez *C. biroi*.

Chapitre 3

LA DIFFERENCIATION PRE-IMAGINALE CHEZ *CERAPACHYS BIROI*

1) Introduction

Le précédent chapitre a permis de constater que le ratio intercastes/ouvrières était activement régulé par les colonies de *C. biroi*. Il est apparu que les colonies les moins fertiles produisaient le plus d'intercastes, suggérant ainsi l'influence potentielle d'une phéromone inhibitrice émise par les individus fertiles et qui induirait un développement ouvrière chez les larves. Même si les apports alimentaires n'ont, semble-t-il, pas joué un rôle dans la différenciation des intercastes, il apparaît préférable de vérifier cette hypothèse à l'aide d'un protocole adapté. Par conséquent, les influences potentielles d'une **phéromone inhibitrice** et de la **quantité d'apports nutritifs** sont abordées dans la deuxième partie de ce chapitre.

Au préalable, d'autres facteurs susceptibles d'influer sur le déterminisme de caste doivent être envisagés. Nous avons en effet déjà évoqué le fait que la différenciation reine/ouvrière pouvait fortement dépendre **d'apports alimentaires qualitatifs** spécifiques (exemple de la gelée royale chez les abeilles, Winston 1987), ainsi que d'**effets maternels** ou de la **température** (cf. Introduction générale, paragraphes *Influence de la reine au stade œuf* et *Influence de la température*).

Il semble peu probable que la température intervienne dans le déterminisme intercaste/ouvrière tant en influant sur le type d'œufs pondus par les ouvrières que sur les larves. En effet, les populations de *C. biroi* de Taiwan et Okinawa évoluent en nature dans un environnement subtropical ne favorisant pas une période de vernalisation (température rarement inférieure à 15°C en hiver). De plus, intercastes et ouvrières sont régulièrement produites au laboratoire alors que les colonies sont maintenues dans des conditions d'hygrométrie et de température standardisées.

Par contre, au vu du cycle reproducteur particulier de *C. biroi*, un effet maternel majeur ainsi qu'un signal trophique larvaire spécifique pourraient avoir évolué chez cette espèce. La phase stationnaire est déclenchée au terme du développement larvaire, c'est-à-dire lorsque les larves, de façon synchrone, débutent leur nymphose en éjectant leur méconium (Ravary 2003). Ce méconium, totalement consommé par les ouvrières, pourrait déterminer le type d'œufs pondus quelques jours plus tard par les individus qui l'ont ingurgité. Bien que surprenant, un tel mécanisme à effet maternel pourrait avoir une valeur adaptative puisqu'une absence totale de méconium traduit une absence de larve dans la colonie, et donc l'absence de production d'une nouvelle cohorte d'ouvrières fertiles au cycle suivant. Dans cette hypothèse, le méconium agirait comme un signal trophique indicateur de l'état de la colonie. Il est alors

prédit que la consommation de méconium reflète une colonie bien pourvue en futurs individus fertiles et pourrait donc orienter les œufs pondus vers un développement en ouvrières afin d'optimiser la croissance coloniale. A l'inverse, l'absence de consommation de méconium reflète une colonie dont la fertilité va décroître du fait de l'absence du renouvellement des générations. Dans ce cas, les individus qui n'ont pas accès à une source de méconium pourraient pondre des œufs orientés vers un destin intercaste afin de pallier cette diminution de fertilité coloniale.

Par ailleurs, un tel signal trophique indicateur de fertilité à venir de la colonie pourrait aussi se retrouver dans les exsudats du voile nymphal produits lors de l'émergence de la nouvelle cohorte d'individus. En effet, pendant les deux derniers jours de la phase stationnaire, les larves sont placées par les ouvrières sur les nymphes matures et consomment les exsudats du voile nymphal des néonates à leur émergence. Là encore, la consommation d'exsudats pourrait déterminer de façon précoce l'orientation développementale des larves. La consommation d'exsudats reflèterait alors une colonie pourvue en futur individus fertiles et pourrait donc orienter les larves vers la voie ouvrière. En revanche, la non-consommation d'exsudat serait un signal pour la larve d'une colonie dont le renouvellement des générations n'est pas assuré, signal qui pourrait initier chez elle une différenciation en intercaste.

Enfin, il existe une probabilité certaine pour qu'une ouvrière et une larve n'aient respectivement pas eu accès à du méconium et à des exsudats alors que larves et néonates sont présentes dans la colonie. On peut alors envisager que ces deux mécanismes potentiels de différenciation agissent en synergie : une larve ne pourrait se différencier en intercaste que si elle n'a pas consommé d'exsudat et si elle est issue d'une mère qui n'a pas eu accès à du méconium.

La première partie de ce chapitre se propose donc de tester les influences, supposées inhibitrices, du méconium (au niveau maternel) et des exsudats (au stade larvaire) sur le déterminisme des intercastes de *C. biroi*.

2) Effet maternel et précoce sur le destin des larves

2.1) Procédure

2.1.1) Origine et élevage des colonies expérimentales

Les colonies expérimentales utilisées pour cette expérience sont issues du bouturage de trois colonies mères récoltées à Okinawa et Taiwan (O5, T4 et T5 ; cf. Chapitre I). Chaque colonie est installée dans un nid artificiel constitué d'une boîte plastique circulaire (Ø: 8cm x h: 5cm) à moitié remplie de plâtre de Paris au centre duquel une loge unique est creusée (L: 2cm x l: 1cm x h: 0,5cm) communicant avec l'aire de fourragement. Cette loge est recouverte d'une lame de verre et d'un filtre rouge en Plexiglas qui font office de toit et permettent d'observer la colonie. La paroi de la boîte est enduite de Fluon® pour éviter toute évasion de fourmis. Les colonies sont maintenues entre 26 et 28°C et à une hygrométrie comprise entre 65 et 75%. La photopériode de 12 heures commence à 09h00. Les apports alimentaires sont constitués de nymphes blanches de *Tetramorium bicarinatum*.

2.1.2) Protocole expérimental

Pour chaque colonie mère utilisée (N = 3), quatre boutures expérimentales sont réalisées en phase de fourragement. Chaque bouture est constituée de 50 ouvrières intranidales (et donc pondeuses) accompagnées de 20 larves de deuxième stade. Chaque bouture de chaque colonie mère est ensuite soumise à un traitement différent afin d'évaluer les influences potentielles sur le déterminisme des castes quant à l'ingestion de méconium chez les ouvrières pondeuses et à l'ingestion d'exsudat chez leur descendance (Figure III-1) :

- Traitement « **témoin** » : il consiste en une colonie dont les ouvrières peuvent manger le méconium des larves à leur nymphose. Les larves filles de ces ouvrières ont ensuite accès aux exsudats des néonates émergentes.
- Traitement « **absence de méconium** » : il consiste en une colonie dont le retrait des larves de troisième stade, en fin de phase de fourragement, empêche les ouvrières de se nourrir de méconium. L'ajout de nymphes blanches durant la phase stationnaire permet toutefois aux larves filles de ces ouvrières d'avoir ensuite accès aux exsudats des néonates émergentes.

- Traitement « **absence d'exsudat** » : ici, les ouvrières de la colonie peuvent manger le méconium des larves à leur nymphose. Cependant le retrait des nymphes blanches en phase stationnaire évite que les jeunes larves puissent se nourrir des exsudats des néonates émergentes. Afin de compenser l'absence d'ouvrières émergentes, des jeunes ouvrières sont ajoutées à la colonie en début de deuxième phase de fourragement, et ceci dans le but d'obtenir des conditions d'élevage des larves similaires entre traitements.

-Traitement « **absences de méconium et d'exsudat** » : le retrait des larves de troisième stade empêche les ouvrières de se nourrir de méconium et évite par la suite que les jeunes larves aient accès à une ressource d'exsudats. Là encore, l'ajout d'ouvrières est réalisé afin de pallier l'absence d'ouvrières émergentes lors de la deuxième phase de fourragement.

Afin de limiter les perturbations au cours de ces différents traitements, les colonies sont systématiquement endormies au CO₂ avant toute intervention de l'expérimentateur. On note, d'une part, que le CO₂ est chaque fois utilisé et que, d'autre part, les colonies sont systématiquement manipulées avec une pince, même s'il n'y a ni retrait ni ajout de couvain. Ces précautions permettent de s'affranchir des effets éventuels du CO₂ et de la manipulation de la colonie lors du retrait ou de l'addition de couvain.

Les larves, dont l'avenir développemental est l'objet de l'étude, sont ensuite élevées au sein de leur colonie lors d'un second cycle reproducteur (phase de fourragement et phase stationnaire). A leur émergence, au début de la troisième phase de fourragement, les individus néonates sont prélevés puis isolés dans un nid avec du couvain. Au début de la phase stationnaire suivante, lorsque le développement ovarien permet de dénombrer aisément les ovarioles, les jeunes individus sont disséqués puis répertoriés en tant qu'ouvrière ou intercaste.

Tout au long de l'expérience, les colonies sont nourries deux fois par semaine en phase de fourragement. Les colonies étant composées d'ouvrières intranidales qui ne fourragent pas ou peu, les proies sont déposées directement à l'entrée du nid. La quantité de proies apportées est alors fonction du nombre de larves présentes dans la colonie au moment de l'apport alimentaire : pour cinq larves présentes, une nymphe de *Tetramorium bicarinatum* est apportée. Par exemple, si 28 larves sont présentes dans la colonie, celle-ci reçoit alors 6 nymphes de *T. bicarinatum*.

	Témoin	Ø méconium	Ø exsudat	Ø méconium + Ø exsudat
Fin FP	CO ₂	CO ₂ + Retrait L ₃	CO ₂	CO ₂ + Retrait L ₃
Milieu SP	CO ₂	CO ₂ + Ajout Nymphes	CO ₂ + Retrait Nymphes	CO ₂
Début FP	CO ₂	CO ₂	CO ₂ + ouvrières	CO ₂ + ouvrières
SP	—	—	—	—
↓ Début FP	Prélèvement et isolement des néonates. Dissection en début de SP suivante pour déterminer ouvrières et intercastes			

Figure III-1. Chronogramme des traitements expérimentaux réalisés afin d'évaluer les influences potentielles sur le déterminisme de caste de l'ingestion de méconium chez les ouvrières pondueuses et de l'ingestion d'exsudat chez leur descendance. Ø = absence, L₃ = larve de 3^e et dernier stade, FP = Phase de fourragement, SP = Phase stationnaire.

2.2) Résultats

Aucun des quatre traitements alimentaires spécifiques appliqués sur les boutures de *C. biroi* n'a permis de montrer un effet sur le type d'individus (ouvrière ou intercaste) produits (Tableaux II-1 et II-2). Par conséquent, ni la privation de méconium pour les ouvrières pondeuses, ni la privation d'exsudats pour leurs larves n'influencent le déterminisme ouvrière/intercaste au sein des colonies de *C. biroi*.

Colonie O5 :

	témoin	absence méconium	absence exsudat	absences méconium et exsudat
ouvrières	36	23	34	43
intercastes	3	0	0	5
total	39	23	34	48

Colonie T4 :

	témoin	absence méconium	absence exsudat	absences méconium et exsudat
ouvrières	24	18	37	7
intercastes	4	3	3	0
total	28	21	40	7

Colonie T5 :

	témoin	absence méconium	absence exsudat	absences méconium et exsudat
ouvrières	27	18	14	5
intercastes	0	0	0	0
total	27	18	14	5

Tableau II-1. Nombre d'ouvrières et d'intercastes produites en fonction des traitements trophiques maternels et larvaires chez *C. biroi*.

	Test exact du χ^2		
	Effet traitement (T, abs M, abs E, abs M+E)		
colonies	χ^2	d.l.	P
O5	5,85	3	0,107
T4	1,96	3	0,654
T5	1,56	3	0,779

Tableau III-2. Analyses statistiques de l'influence des différentes sources trophiques sur le type de caste produite pour chaque colonie de *C. biroi*. Analyses réalisées à l'aide du logiciel StatXact-8. T = Témoin, abs M = absence de méconium, abs E = absence d'exsudat, abs M+E = absence de méconium et d'exsudat.

2.3) Discussion

Cette étude révèle que le méconium excrété par les larves juste avant leur nymphose et ingéré par les ouvrières de la colonie n'a aucune influence sur le déterminisme des œufs pondus quelques jours plus tard par celles-ci. De même, la consommation ou la non consommation des exsudats du voile nymphal des émergentes par les larves de premier stade n'a aucun effet sur leur orientation développementale. Il apparaît donc qu'aucune substance trophique spécifique de *C. biroi* (méconium et exsudat) ne semble favoriser à un niveau maternel et larvaire la différenciation des castes. Cependant, aucune conclusion définitive ne peut être tirée, et ceci pour plusieurs raisons.

Premièrement si, comme suggéré, une phéromone inhibitrice du développement des intercastes est émise par les individus fertiles, son action a alors prédominé lors de l'expérience masquant ainsi l'influence potentielle de facteurs trophiques qualitatifs. Dans ce cas, le contrôle inhibiteur a favorisé la perte de bipotentialité de la plupart des larves, les conditionnant ainsi à un développement ouvrière (*cf.* Introduction générale, voir aussi Wheeler 1986).

Par ailleurs, les apports alimentaires des larves ont été standardisés au cours de leur développement. Dans la plupart des cas, même si la bipotentialité développementale d'une larve est maintenue, un déclic alimentaire est nécessaire pour permettre à celle-ci d'emprunter

la voie royale (cf. Introduction générale, Wheeler 1986). Par conséquent, même si l'un des traitements avait pu favoriser un développement intercaste chez les larves, il est fort possible que les apports alimentaires n'aient pas été suffisants pour permettre une telle différenciation chez la plupart des larves.

Dans tous les cas, qu'une phéromone inhibitrice ait agi ou que des apports alimentaires importants soient requis pour favoriser le développement des intercastes, cette étude démontre à l'évidence que, dans de telles conditions (fertilité coloniale et apports alimentaires moyens), le méconium et/ou les exsudats ne présentent pas une influence prépondérante sur le déterminisme de caste chez *C. biroi*.

Afin de conclure définitivement sur l'influence potentielle de ces deux substances trophiques, il serait nécessaire de réaliser à nouveau cette étude en augmentant les apports alimentaires des larves en développement et en remplaçant les ouvrières fertiles par de vieilles ouvrières stériles lors de la première phase stationnaire (si tant est qu'une phéromone inhibitrice existe et qu'elle ne soit produite que par les individus fertiles !).

Enfin, l'âge des reproductrices est un facteur susceptible d'influencer l'orientation de la descendance. Ainsi chez la fourmi moissonneuse *Pogonomyrmex*, seuls les œufs pondus par des reines âgées d'au moins 2 ans (et préalablement exposées au froid) sont capables d'emprunter la voie royale. (Schwander et al. 2008). Chez *C. biroi*, les ouvrières ne se reproduisant qu'entre l'âge de 1 et 4 mois, l'influence de l'âge sur le déterminisme des œufs peut sembler négligeable. Bien que des expériences n'aient pas été conduites en ce sens au cours de cette thèse, il serait intéressant d'envisager ce paramètre d'âge, notamment chez les intercastes, dont l'activité de ponte durable pourrait dévoiler une influence de l'âge sur l'orientation caste-spécifique des œufs pondus.

Les influences de facteurs maternels et alimentaires qualitatifs n'ayant pas été révélées, la suite de cette étude sur les mécanismes de différenciation pré-imaginale chez *C. biroi* va logiquement se concentrer maintenant sur des paramètres plus répandus au sein des sociétés d'insectes. Ainsi notamment les impacts de la quantité d'apport alimentaire et/ou d'une phéromone inhibitrice vont à présent être envisagés et résumés dans l'article qui suit.

3) Modulations adaptatives du ratio intercastes/ouvrières dans des sociétés de fourmis clonales

3.1) Résumé de l'article 1

L'existence de castes différenciées est souvent à l'origine d'une division du travail reproducteur chez les insectes sociaux. Typiquement, les sociétés d'insectes sont composées d'une ou plusieurs reines fécondées qui assurent la reproduction, tandis que les ouvrières, dont la fertilité est réduite, prennent en charge les tâches nécessaires au développement de la colonie. De façon originale, l'évolution a favorisé la disparition de la caste reine chez la fourmi *Cerapachys biroi*. Une reproduction asexuée par parthénogenèse thélytoque est alors assurée par l'ensemble des ouvrières et des intercastes qui composent les colonies de *C. biroi*. Représentant plus de 94% de la colonie en nature, les ouvrières présentent des capacités de ponte réduites (4 à 8 œufs) qu'elles exploitent durant les quatre premiers mois de leur vie avant de devenir fourrageuses. Les intercastes, minoritaires quant à elles, présentent des capacités ovariennes nettement supérieures et demeurent impliquées dans la reproduction tout au long de leur vie (jusqu'à 8 œufs à chaque cycle, Ravary & Jaisson 2004).

Au sein de colonies où tous les individus se reproduisent, l'existence d'intercastes hautement fertiles se révèle encore énigmatique. La théorie prédit que les différentes castes morphologiques d'une espèce ont évolué afin d'optimiser le succès reproducteur des membres de la société. Le caste ratio reflèterait alors les besoins de la colonie et devrait varier en réponse à des contraintes environnementales telles que la prédation, la compétition ou les ressources alimentaires (Wilson 1971; Oster & Wilson 1978; Herbers 1980; Lumsden 1982; Wilson 1985; Schmid-Hempel 1992, Hasegawa 1997). L'objectif de cet article a donc été d'envisager la fonction adaptative potentielle des intercastes de *C. biroi* à travers l'étude des conditions environnementales favorisant leur production et donc une modulation du caste ratio.

Pour cela, des larves ont été élevées soit par des ouvrières néonates (pas encore fertiles), soit par des jeunes ouvrières fertiles, soit par des vieilles ouvrières stériles, ou par des intercastes hautement fertiles. Dans chaque situation, les larves ont été soumises à deux régimes alimentaires opposés : bien nourries ou sous-alimentées.

Il ressort de ces huit conditions expérimentales que les larves élevées par des individus fertiles (jeunes ouvrières et intercastes) sont globalement inhibées et contraintes à se

différencier en ouvrières, et ceci quelle que soit la quantité d'aliments reçue. Des expériences complémentaires montrent que cette inhibition est liée à une phéromone non volatile qui serait probablement transmise par contact lors des soins aux larves.

En revanche, lorsque l'inhibition est absente en condition de stérilité, les sociétés de *C. biroi* augmentent considérablement la production d'intercastes dans deux contextes coloniaux diamétralement opposés. En effet plus de 75% des larves se différencient en intercastes lorsqu'elles sont élevées au sein de colonies bien nourries d'ouvrières néonates ou au sein de colonies sous-alimentées de vieilles ouvrières.

Ces résultats révèlent qu'en l'absence d'inhibition, les apports alimentaires ne sont pas déterminants pour la production d'intercastes et que la forme intercaste est la voie de différenciation par défaut chez *C. biroi*. Par conséquent, un mécanisme actif de contrôle a évolué chez cette espèce, favorisant ainsi au sein des sociétés fertiles la production d'ouvrières dont les prédispositions pour le fourragement optimisent le développement colonial.

Les conditions expérimentales particulières ayant permis à un grand nombre de larves de se différencier en intercastes trouvent alors un contexte adaptatif particulier.

Tout d'abord, bien que vraisemblablement rare en nature, les colonies bien nourries d'ouvrières néonates sont assimilables à des colonies dont la fertilité est très importante et dont les apports alimentaires sont abondants durant deux cycles consécutifs. Dans ce cas, du fait d'un simple polyéthisme centrifuge, les larves de la colonie se retrouvent essentiellement élevées par de nombreuses néonates issues d'un précédent cycle prolifique. Si les proies sont toujours aussi abondantes au cours du nouveau cycle, les larves se développent alors rapidement et se nymphosent avant même que les ouvrières néonates n'aient eu le temps de développer leur fertilité et donc leur inhibition.

Lors de périodes exceptionnellement favorables, un tel polyéthisme centrifuge permet ainsi de limiter l'inhibition des larves et d'orienter leur développement vers la voie intercaste. Il apparaît d'ailleurs envisageable que ce genre d'événement soit à l'origine de la dispersion coloniale par bourgeonnement chez *C. biroi*.

De plus, une différenciation importante des larves en intercastes a également été observée dans les colonies composées de vieilles ouvrières stériles. Ce type de situation représente en nature des colonies sur le déclin, dont les conditions environnementales n'ont pas permis d'obtenir un renouvellement des générations durant trois ou quatre mois. Effectivement, se nourrissant presque exclusivement de couvain de myrmicine, les colonies de *C. biroi* peuvent

parfois faire face à de longues périodes de disette. Néanmoins, la répartition des tâches chez *C. biroi* est étroitement liée aux capacités reproductrices des individus : les jeunes ouvrières fertiles et les intercastes s'occupent des soins au couvain tandis que les vieilles ouvrières, sénescences d'un point de vue reproductif, prennent en charge le fourragement (Ravary & Jaisson 2004). La probabilité que les larves de colonies vieillissantes soient nettement moins soignées et moins inhibées que les larves de colonies fertiles est donc grande, et d'autant plus que les stimulations émanant des larves affamées favorisent le fourragement des vieilles ouvrières. En effet, les larves sont à l'origine de l'activité de fourragement chez *C. biroi* (Ravary & Jaisson 2006). Des larves rassasiées ne stimulent que peu les ouvrières à fourrager (Ravary 2003) et semblent plus enclines à être soignées et donc inhibées que des larves affamées qui inciteront la majorité des vieilles ouvrières à négliger les soins au couvain à la faveur du fourragement.

En l'absence d'individus fertiles qui demeurent au nid pour s'occuper du couvain, un tel mécanisme autorégulé s'avère hautement adaptatif puisqu'il favorise une production d'intercastes d'autant plus importante que les conditions alimentaires sont critiques pour la colonie.

Par conséquent, chez cette espèce où l'essentiel de la reproduction repose sur des ouvrières à fertilité réduite et limitée dans le temps, cette autorégulation du caste ratio permet aux vieilles colonies de *C. biroi* de recouvrer rapidement une fertilité via la production d'intercastes. Là encore, il est tout à fait probable qu'en réponse à des conditions de vie critiques, la production d'un grand nombre d'intercastes permette également de favoriser la dispersion coloniale vers d'autres niches écologiques.

En conclusion, la différenciation en intercaste apparaît comme la voie développementale par défaut chez les larves de *C. biroi*. Cette différenciation n'est cependant induite que lors de conditions extrêmement favorables ou critiques pour la colonie, lui permettant vraisemblablement de favoriser la dispersion coloniale et/ou de restaurer la fertilité de la société. Hors de ces contextes extrêmes, les larves sont contraintes à se différencier en ouvrières, ce qui optimise le développement colonial. Ce contrôle développemental semble alors réalisé via une phéromone non volatile qui serait transmise lors des soins au couvain.

3.2) Article 1

Clonal ant societies exhibit adaptive shifts in caste ratios

-Soumis à la revue Behavioral Ecology (10/09/2009)-

Emmanuel Lecoutey, Nicolas Châline and Pierre Jaisson

*Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée, EA4443, Université Paris 13,
99 avenue J.B. Clément, 93430 Villetaneuse, France*

Keywords: caste differentiation, polyphenism, developmental plasticity, inhibitory pheromone, *Cerapachys biroi*, thelytokous parthenogenesis

3.2.1) Abstract

Caste differentiation leading to reproductive division of labour is the hallmark of insect societies. Insect colonies typically contain mated queens that reproduce and workers with reduced fertility that undertake the tasks required for colony maintenance and development. Far from this typical social organization, the ant *Cerapachys biroi* has evolved in an extraordinary way, in that there is neither queen caste nor sexual reproduction. All workers reproduce in their youth, through thelytokous parthenogenesis, until they become foragers. Moreover some slightly larger individuals, displaying higher and lasting laying capacities also occur at low rates within colonies. Despite the prediction that the proportion of morphological castes should vary to enhance the fitness of colony members in response to environmental constraints, adaptive shifts in caste ratios have so far only been reported in a competitive situation. Here we show that, faced with colonial sterility and food shortage or with persisting plentiful resources, societies of *C. biroi* alter caste ratios by considerably increasing the production of larger individuals. In the absence of these opposite conditions, larval development is constrained towards worker fate by a contact pheromone probably applied during brood care. In this species in which reproduction mainly relies on young workers with finite fertility, an adaptive self-regulated mechanism of caste regulation thus allows to restore colonial fertility or to enhance colony growth.

3.2.2) Introduction

An important transition in the evolution of insects was the shift from a solitary life to societies of organisms exhibiting a division of labour based on specialized castes. This adaptive division of labour is at the basis of the ecological success of insect societies and is achieved either by nestmates assuming temporary behavioural functions and/or by the evolution of permanently differentiated morphological castes (Oster & Wilson 1978; Hölldobler & Wilson 1990). Even if genetic influences on female caste determination or task specialization have been demonstrated (reviewed in Smith *et al.* 2008), female eggs are usually totipotent and a developmental switch during the larval stage controlled by nutritional, social and others environmental factors results in pronounced physical and physiological specializations among female castes (Wilson 1971; Oster & Wilson 1978; Wheeler 1986; Hölldobler & Wilson 1990; Vargo & Passera 1991; Wheeler 1991; O'Donnell 1998; Karsai & Hunt 2002). In ants, particularly, queens are typically adapted for dispersal, mating, colony founding and are specialized in egg laying. In contrast, wingless and generally smaller than queens, workers exhibit reduced ovaries and lack a spermatheca in most species. They rarely reproduce and mostly care for the brood, forage and defend the colony (Wilson 1971; Hölldobler & Wilson 1990).

Far from the social organization commonly observed in insect societies, colonies of *Cerapachys biroi* have lost sexual reproduction. The queen caste is absent and egg-laying is distributed among all nestmates without any social hierarchy (Ravary & Jaisson 2004). Devoid of spermatheca, they reproduce through obligatory thelytokous parthenogenesis (asexual production of diploid females, Tsuji & Yamauchi 1995). Moreover, individuals of these clonal societies are divided into two morphological castes. On the one hand, workers which lay eggs, care for the brood in their youth, and later cease to reproduce as they become foragers (after 3-4 months on average, Ravary & Jaisson 2004). On the other hand, some slightly larger individuals (hereafter referred to as the L-type versus normal S-type) display higher laying capacities. These L-types, which occur at low rates within field colonies (less than 6%, F. Ravary, personal communication), are only involved in reproduction and brood care (Ravary & Jaisson 2004).

Because natural selection acts both at the individual and the colony level, it has been suggested that the various physical castes exhibited by social insects have evolved to enhance the inclusive fitness of colony members with the prediction that caste ratios reflect the colony's needs and should vary with environmental factors such as predation, competition or

food availability (Wilson 1971; Oster & Wilson 1978; Herbers 1980; Lumsden 1982; Wilson 1985; Schmid-Hempel 1992, Hasegawa 1997). However, this prediction for adaptive shifts in caste ratios has received little evidence and has so far only been reported in a competitive situation (Passera *et al.* 1996; Harvey 2000; McGlynn & Owen 2002; Yang *et al.* 2004). Since the organization of every social insect species has evolved in response to the complex environmental pressures and opportunities unique to its evolutionary history, we hypothesized that L-types of *C. biroi* colonies could play an adaptive role. By manipulating internal (fertility) and external (food resources) colonial parameters, we therefore sought to determine whether L-types production could be a response to particular environmental conditions.

3.2.3) Material and Methods

(a) Study species

As for most Cerapachyinae ants (Hölldobler & Wilson 1990), colonies of *C. biroi* are specialized predators of the brood of myrmicine ants on which they prey through massive raids. In Okinawa (Japan) and Taiwan, colonies of *C. biroi* are characterized by a phasic reproductive cycle composed of two alternating phases of activity: during the foraging phase (16.07 ± 2.27 days), old S-types explore for prey while a single cohort of larvae develop synchronously, nursed by young S-types and L-types. Then, during the following statary phase (17.92 ± 0.97 days) larvae pupate, all workers stay in the nest and new eggs are laid by young S-types and L-types. After the eggs hatch and the young workers emerge, also synchronously, a new foraging phase begins (Ravary & Jaisson 2002, Ravary *et al.* 2006).

S-type workers of *C. biroi* therefore separate into two behavioural subcastes according to age and thus to reproductive capacities: old extranidal S-types, with no or weak ovarian activity, are specialized in foraging and rarely care for larvae whereas young intranidal S-types remain inside the nest and perform most of the egg laying as well as most of the nursing activities (Ravary & Jaisson 2004). Finally, L-types differ morphologically from S-types by a higher ovariole number (4 to 6 instead of 2 or 3 for S-types), the presence of ocelli, more or less developed vestigial eyes and an alitrunk with variable degree of fusion of the thoracic tergites (Ravary & Jaisson 2004) (figure 1).

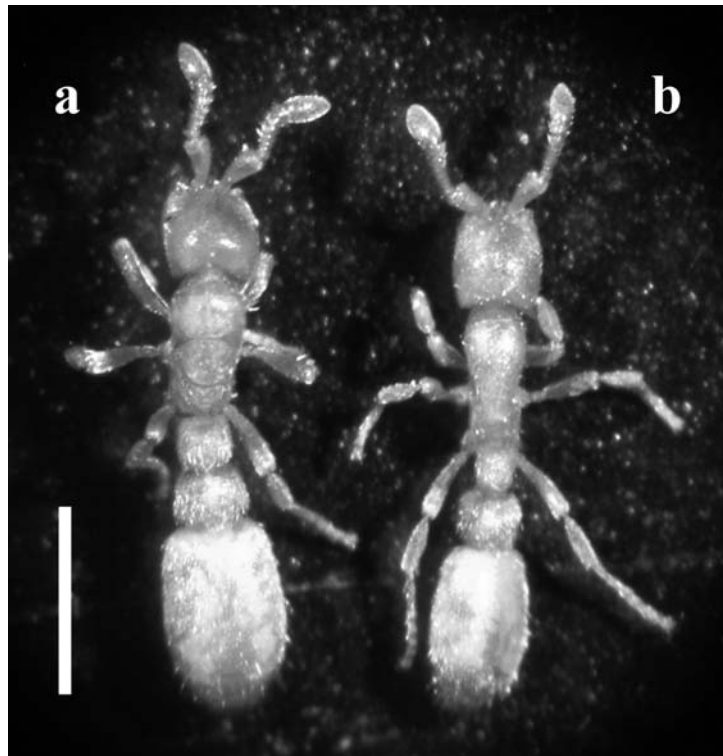


Figure 1. (a) L-type and (b) S-type of the parthenogenetic ant *Cerapachys biroi*. Scale bar, 1 mm.

(b) Rearing conditions of larvae

In many social insects, the amount of the food given by workers to developing larvae profoundly influences the future adult morphology, including the features critically correlated with fecundity. Well-fed larvae usually differentiate into gyne or soldier, while in the absence of sufficient nutrition larvae will develop as workers (Wilson 1971; Oster & Wilson 1978; Wheeler 1986; Hölldobler & Wilson 1990; Wheeler 1991; O'Donnell 1998; Karsai & Hunt 2002). To test for the potential effect of food on caste differentiation, larvae of *C. biroi* were subjected to two feeding conditions: well-fed or undernourished.

Moreover, in many species, larvae are exposed to an inhibitory queen pheromone which commits them to the worker caste (Wheeler 1986; Hölldobler & Wilson 1990; Vargo & Passera 1991; Keller & Nonacs 1993). However, such an inhibitory pheromone can also originate from unfertile individuals, since adult soldiers of *Pheidole bicarinata* ant produce a contact pheromone preventing soldier development among larvae (Wheeler & Nijhout 1984). The influence of a potential inhibitory pheromone produced by fertile (young S-types) or highly fertile (L-types) individuals was therefore investigated. We used old sterile S-types as

control. However, because we cannot rule out potential behavioural manipulation by adults in larval fate (Bourke & Ratnieks 1999, Hammond *et al.* 2002) and since old S-types do not care for the brood as much as young S-types and L-types (Ravary & Jaisson 2004), we also used callow S-types as a second control (which exhibit nursing activities but are considered as unfertile since they have not yet developed ovaries) to avoid any possible misleading conclusions about the respective influence of feeding and nursing. This second control also mimics a colony where larvae are almost exclusively reared by callow S-types following a previous foraging cycle with plentiful resources.

(c) *Experimental procedure*

Colonies of *C. biroi* were set up in nests consisting of a single rectangular (l: 2cm x w: 1cm x h: 0.6cm) chamber dug in the centre of a circular plastic box (8cm in diameter and 5cm in height) half filled with a layer of plaster. Nests were covered and closed with a glass plate and a red-coloured Plexiglas to allow observations. The plaster was humidified three times a week to keep the nests damp. Colonies were kept at 28°C, 70% humidity and a 12/12 LD photoperiod.

(i) *Food and caste influence*

Each of the 32 experimental colonies (eight different conditions performed with experimental colonies originating from four wild colonies collected in Taiwan in 1997, 2000 and 2001) was composed of 28.6 ± 7.2 (mean \pm s.d.) first instar larvae of the same age and 50 individuals of one of the four following types: one day old callow S-types, intranidal S-types (1-2 months old), extranidal S-types (old foragers) or L-types. For each of these four types of individuals, two colonies were set up with alternate diets: either well-fed or undernourished. During the foraging phase of the cycle, colonies were fed three times a week with white nymphs of *Tetramorium bicarinatum*. Before supplying food, larvae were counted. For every ten larvae, well-fed colonies received four nymphs of *T. bicarinatum* while undernourished colonies only got one. For instance, if a well-fed colony contained 25 larvae, it was supplied with 10 prey items. Since cannibalism regularly occurs in this myrmecophagous species (unpublished data), this could be a mean for larvae to selfishly influence their caste development towards L-types (Bourke & Ratnieks 1999; Faustino *et al.* 2002; Wenseelers & Ratnieks 2004; Wenseelers *et al.* 2005; Ribeiro *et al.* 2006; Rüger *et al.* 2008). Counting larvae throughout the experiment therefore also allowed us to monitor a potential effect of cannibalism on caste differentiation.

Because old S-types tend to forage more than care for the brood (Ravary & Jaisson 2004), nests of all colonies were closed to limit differences in feeding and nursing levels between experimental conditions.

(ii) Volatile inhibitory pheromone

The results showed (see below) that, in well-fed conditions, colonies of intranidal S-types strongly prevent L-types development in larvae while colonies of callow S-types do not. To investigate whether this inhibition was due to a contact or a volatile pheromone, we replicated these two experimental conditions in a new experiment with colonies this time set up side by side in a special nest composed of two chambers (1cm x 2 cm each, one for each condition), separated by a fine mesh.

(d) Determination of the caste ratio

The potential influence of the rearing caste, food resources and volatile inhibitory pheromone on larval fate was assessed in each colony at the emergence of the new cohort of individuals. Callow workers were then isolated in a separate nest and dissected two weeks later under a stereomicroscope to assign them as S or L-types according to the morphological characteristics of each caste (see above and figure 1).

(e) Statistical analyses

(i) Food and caste influence

For each of the eight treatments, the data for the different colonies were pooled since they did not differ significantly (Chi-square test for independence; all $P > 0.13$). Treatments were then compared with a Chi-square test for independence followed by a Bonferroni ($\alpha = 0.05$, 28 comparisons).

(ii) Correlation between L-type production and cannibalism

For each of the 32 colonies, the proportion of cannibalism was measured with the following ratio: (initial number of larvae - number of prenymphe) / initial number of larvae. Correlations between the proportion of intercastes produced and the proportion of cannibalism were performed using Pearson's correlation test. Statistical significance was accepted at $\alpha = 0.05$.

(iii) *Volatile inhibitory pheromone*

Since experimental colonies did not statistically differ in the proportion of castes produced (Chi-square test for independence; $P = 0.56$), results of the four colonies were also pooled. Results of this experimental condition (well-fed colony of callow S-types separated by a mesh from a well-fed colony of young S-types) were then compared to those obtained in well-fed colonies of callow S-types using a Chi-square test for independence. All statistical analyses were implemented in StatXact-7 software.

3.2.4) Results and Discussion

C. biroi larvae highly differ in their caste fate according to their rearing conditions (Chi-Square Test for Independence, $\chi^2 = 336.8$, d.f. = 7, $P < 10^{-8}$): larvae reared either in undernourished colonies of old S-types or in well-fed colonies of callow S-types both resulted in significantly higher proportions of L-types (mean \pm s.d.: $79.8\% \pm 14$ and $75.8\% \pm 10.7$ respectively, $n = 4$ for each condition) compared with the 6 other conditions (figure 2). On the contrary, undernourished colonies of callow S-types, as well as well-fed and undernourished colonies of young S-types or L-types did not significantly differ and yielded low proportions of L-types (mean \pm max s.d.: $0.8.1\% \pm 5.7$, $n = 4$ for each condition). These low rates of L-types were similar to the ones observed in field colonies (F. Ravary, personal communication) and in colonies reared in the laboratory (3.7 to 6.3%, Ravary & Jaisson 2004). Between these extremes, well-fed colonies of old S-types statistically differed from the seven other conditions since a fifth of the larvae developed into L-types ($21.2\% \pm 11.2$, $n = 4$).

Our study clearly demonstrates that larvae hardly ever differentiate into L-types under the influence of young fertile S-types or highly fertile L-types and that there is no food effect on caste differentiation in these cases. However, if callow S-types are indeed not fertile yet, how can we explain that undernourished colonies of callow S-types did not significantly differ from colonies of young fertile S-types or highly fertile L-types in their production of L-types? A candidate explanation lies in the fact that the duration of larval development is influenced by the colonies' diet. Indeed, well-fed and undernourished conditions lead respectively to a decrease (mean \pm s.d.: $12.6 \text{ days} \pm 1.7$, $n = 16$) and an increase ($24.5 \text{ days} \pm 6.8$, $n = 16$) of the typical duration of the larval stage. Therefore in less than 13 days callow S-types may not achieve their behavioural and/or physiological maturity while they could with twice as much time. Indeed, 20 days old S-types usually lay eggs during their first statary phase (E.

Lecoutey, personal observation). Therefore, larvae developing within 13 days in colonies composed of still immature S-types may have been submitted to a still incomplete behavioural and/or pheromonal control and thus differentiate into L-types. Reared by “fully mature callow” S-types during their last larval instar, undernourished larvae mostly developed into S-type workers.

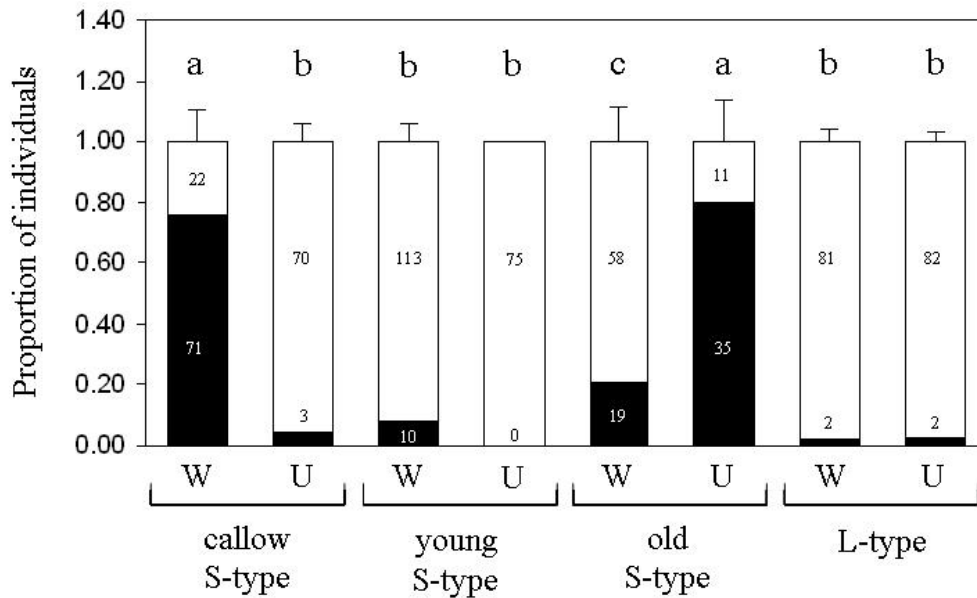


Figure 2. Caste differentiation in larvae of *C. biroi* according to different rearing and feeding conditions. Data for each experimental condition are mean proportions (\pm s.d.) of larvae that developed into S-type (white) or L-type (black) in the four replicates. Sizes of each caste produced are given in columns. Different letters represent the rearing conditions that differ significantly (Chi-Square Test for Independence, followed by Bonferroni method for multiple comparisons). Feeding conditions: W = Well-fed, U = undernourished.

Consequently, our results suggest that only fertile individuals (fertile S-types and L-types) prevent larval differentiation into L-types. However, if an inhibition induced by fertile individuals is the sole control of caste fate, how then can we explain that colonies of old sterile S-types significantly differed between undernourished and well-fed conditions for the production of L-types? Could then food resources directly influence larval fate in the absence of inhibition from fertile workers? It clearly appears that this is not the case since the highest proportions of L-types were obtained in opposite feeding conditions within sterile colonies (well-fed colonies of callow S-types and undernourished colonies of old S-types; see figure 2). An alternative hypothesis could be that, in the absence of control from sterile adults and thanks to their high mobility and active feeding behaviour, larvae of this myrmecophageous

species could selfishly influence their caste development towards L-types by securing more food through cannibalism. Nevertheless, L-types production was not correlated with cannibalism in sterile conditions (Pearson's correlation test, $N = 12$, $R = -0.017$, $P = 0.954$).

To disentangle the apparent paradoxical results obtained in sterile colonies (old S-types colonies and well-fed colonies of callow S-types), the nature of the control on caste differentiation in *C. biroi* has to be considered. In social insects, adults could actually compel worker fate in larvae either by producing a (contact or volatile) inhibitory pheromone (Wheeler & Nijhout 1984; Wheeler 1986; Hölldobler & Wilson 1990; Vargo & Passera 1991; Keller & Nonacs 1993) and/or by actively manipulating the larvae. In this latter case, adults starve, bite or cannibalize queen-fated larvae, either killing or forcing them to develop as workers (reviewed in Bourke & Ratnieks 1999).

However, L-types production was neither correlated with cannibalism within colonies of *C. biroi* (Pearson's correlation test, $N = 32$, $R = 0.033$, $P = 0.853$) nor in undernourished conditions ($N = 16$, $R = 0.172$, $P = 0.530$), nor in well-fed conditions ($N = 16$, $R = -0.006$, $P = 0.980$), nor in fertile conditions ($N = 20$, $R = -0.294$, $P = 0.209$), nor in sterile conditions ($N = 12$, $R = -0.017$, $P = 0.954$). Moreover, behavioural observations during experiments also revealed that adults do not starve or attack larvae and that these latter never present scars. These data suggest that the control on L-types differentiation could be due to a volatile inhibitory pheromone produced by fertile individuals. Nevertheless, when separated by a single fine mesh from a well-fed colony of young fertile S-types, a well-fed colony of callow S-types still reared high proportion of L-types ($64.7\% \pm 10$, $N = 4$). Because this rate did not differ from well-fed colonies of callow S-types (Chi-Square Test for Independence, $\chi^2 = 2.485$, d.f. = 1, $P = 0.13$), this result disproves the hypothesis of an inhibition of L-types development by a volatile pheromone produced by fertile individuals.

In the light of all these results, we therefore propose that L-types differentiation is probably inhibited by fertile individuals via a contact pheromone applied directly on larvae during brood care. The action of this possible inhibitory pheromone is likely to be dose-dependent and not an all-or-nothing mechanism: the less care a larva receives, the more pronounced the L-type differentiation will be. This is coherent with the fact that L-types exhibit a graded series of morphological characteristics ranging from different ovariole numbers to variable degrees of fusion of the thoracic tergites (see study species in Material and Methods).

This is thus the only hypothesis which can parsimoniously account for all the results obtained. In well-fed colonies of callow S-types, larvae reach the nymph stage in a few days, before S-types have achieved their behavioral and/or physiological maturity. Since callow S-types

almost exclusively care for the larvae, we assume that a high rate of larvae develop into L-types because of a weak synthesis of inhibitory pheromone. Furthermore, whatever the amount of food received, the production of the inhibitory pheromone may decrease in old S-types due to their ovarian/physiological senescence, which could explain the increased production of L-types. It has also been reported that, with age, a behavioural shift occurs in old workers which then hardly ever exhibit brood care (Ravary & Jaisson 2004). Therefore, as foraging activity is regulated by brood satiety in insect societies (Pankiw 2004; Ravary *et al.* 2006; Pankiw 2007; Mas & Kölliker 2008) and mainly performed by old S-types in *C. biroi* (Ravary & Jaisson 2004), the caste ratio difference observed between the two feeding conditions in colonies of old S-types can be interpreted according to the amount of brood stimulation: in starving conditions, high brood stimulation may have led most of the old S-types to neglect nursing activities for foraging (i.e. nest exploration in our experiment since the nest was closed to limit differences in feeding and nursing levels between experimental conditions) whereas in well-fed conditions, old S-types may have provided more care to satiated larvae and hence more inhibitory pheromone.

In most social insect species, allocating egg-laying to one or a few reproductives has some obvious advantages (Oster & Wilson 1978; Hölldobler & Wilson 2008). However, every rose has its thorn: the queens' death usually leads the colony to dwindle to its death. In contrast, as thelytokous reproduction is distributed among all workers (Ravary & Jaisson 2004), colonies of *Cerapachys biroi* are virtually everlasting. In natural colonies of *C. biroi* composed of L and S-types of different ages, brood care is performed by young individuals (callow and fertile individuals) and foraging activities by old sterile S-types (Ravary & Jaisson 2004). Consequently, whatever the food resources, fertile colonies hardly ever produce L-types thus promoting colonial productivity by compelling most larvae to develop into S-types. However, S-types of *C. biroi* only reproduce in their youth (approximately 1 or 2 eggs each month during 3 months on average, Ravary & Jaisson 2004) and this species, specialized in myrmicine brood predation, may sometimes have to face long periods of food shortage resulting in a weak generation turnover. In that case, senescent colonies are then mainly composed of old sterile individuals who are not much involved in brood care. This allows many larvae to differentiate into L-types, especially when foraging stimulation is high. Therefore, in old sterile colonies of *C. biroi*, food resources may regulate brood stimulation, which in turn indirectly controls caste ratio through a modulation of the nursing activities due

to a modulation of the foraging activity. This mechanism thus allows to restore colonial fertility and may promote budding towards more favourable ecological niches.

In addition, a high proportion of L-types is also obtained when well-fed larvae are reared by callow S-types. Although rarer, this situation can occur when colonies experience two consecutive cycles of foraging bonanza. In this flourishing condition, a L-type biased caste ratio is also adaptive as it will promote colony growth and possible dispersion through budding during the following cycles.

We have therefore shown that a self-regulated mechanism of caste differentiation emerges from the uncommon reproductive division of labour of *C. biroi* in which young individuals with finite fertility care for the brood and old sterile individuals forage. This leads to an unprecedented ability to modulate the caste ratio in response to environmental conditions, the production of highly and lastingly fertile individuals providing an adaptive response to extreme conditions.

The social organization exhibited by *C. biroi* is rare and only occurs in the myrmicine ant *Pristomyrmex punctatus* (Itow *et al.* 1984; Tsuji 1988, 1990; Sasaki & Tsuji 2003). In this species, L-types do not spread within the colony and only represent on average less than 4% of the colonies workforce (Dobata *et al.* 2009). The reason for this low proportion seems to be the cost associated with an increase in the proportion of L-types which lowers the reproductive success of the whole colony Tsuji (1995). It is therefore likely that an active caste control compelling L-type larvae to develop into S-types has also evolved in *P. punctatus* and that this mechanism limits L-types expansion in normal conditions.

This suggests possible similarities in the genetic determinism associated with caste polyphenism in response to environmental conditions in both species. Indeed, in *C. biroi* and *P. punctatus*, the evolution of thelytoky among workers cumulated with drastic changes in their life history traits and living conditions (queen loss, food resources and the fact, for instance, that larvae of *P. punctatus* are only reared during the typhoon season; Itow *et al.* 1984) may have initially released large amount of previously cryptic genetic polymorphism among workers and hence increased phenotypic plasticity, especially in adults morphology. This developmental plasticity (i.e. worker polyphenism) can afterwards have become itself the target of natural selection and lead to the adaptive stabilisation of a discrete phenotypic plasticity among workers in response to ecological pressures.

This well-known evolutionary mechanism wherein a novel phenotype introduced through mutations or environmental changes is moulded into an adaptive phenotype through

quantitative genetic changes is known as genetic accommodation (West-Eberhard 2003; Crispo 2007; Moczek 2007). This phenomenon which can result in the increased environmental sensitivity of a plastic phenotype (West-Eberhard 2003; Moczek 2007) may increase the fitness of organisms living in heterogeneous environments and be favoured when plasticity is beneficial and when the maintenance of the ability to respond to environmental cues is not costly (see Crispo 2007). It seems therefore that life history traits and living conditions of *C. biroi* and *P. punctatus* may have favoured the evolution of polyphenism (L and S type) by genetic accommodation.

Interestingly, it has been recently suggested that L-types, can form a distinct lineage isolated from S-types (Dobata *et al.* 2009). Since, like in *C. biroi*, they are more fertile than S-types and hardly take part in cooperative tasks, the authors considered those discrete lineages of L-types of *P. punctatus* as “cheater” genotypes. Nevertheless, S-type lineages also have the potential to develop into L-types and whether the “cheater” L-type lineage can produce S-type in the face of some environmental conditions has not been yet investigated. The L-type lineage described by Dobata *et al.* (2009) thus probably represents a lineage with very low threshold for L-type differentiation. Indeed, many studies have shown that the threshold for the switch between alternative phenotypes can evolve in response to external selective pressures (Moran 1992; Roff 1994; Emlen 1996; Moczek & Nijhout 2002; Moczek 2003; Tomkins & Brown 2004; Suzuki & Nijhout 2008) and it is likely that *C. biroi* and *P. punctatus* colonies are composed of lineages with low and high thresholds for L-type differentiation, that is to say lineages with different environmental sensitivity during larval development (Nijhout 2003). It is possible that the lineage reported in *P. punctatus* may additionally have evolved new behavioural characteristics or taken advantage of relaxed colonial defences which allow it to move to new colonies. Such lineage could afterwards become specialised intra-specific parasite, as has been described in other social insect species recently (Lopez-Vaamonde *et al.* 2004; Beekman & Oldroyd 2008). This could lead to sympatric speciation as clonal lineages of *P. punctatus* are genetically separated.

Even if genetic analyses are needed, such parasitic traits do not seem to have evolved in *C. biroi*. This could be because of differences in the ecology of the two species. Indeed, *C. biroi* and *P. punctatus* highly differ in the length of their reproductive cycle (1 month and 1 year long respectively) and in their diet (specialized predators of brood of myrmicine ants and polyphagous respectively). This implies that *C. biroi* colonies may be more exposed to fluctuating food resources and thus more likely to experience reduced fertile individuals' turnover than *P. punctatus*. Consequently, it is highly likely that ecological pressures may

have favoured the maintenance of a phenotypic plasticity in all lineages of *C. biroi* while a more stable environment may have selected for a developmental canalization in some *P. punctatus* lineages (Crispo 2007). The cheater lineage emphasized by Dobata *et al.* (2009) may therefore have evolved through genetic assimilation, a particular case of genetic accommodation where one of the alternate phenotypes is genetically canalized and no longer affected by environmental variation because of its higher fitness (West-Eberhard 2003; Crispo 2007), presumably thanks to the intra-specific parasitism. This higher fitness will be maintained only if an equilibrium exists in the proportion of cheater and cooperative lineages (Frank 1998; Keller 1999; Ross-Gillespie *et al.* 2007; Gilbert *et al.* 2007; Hughes & Boomsma 2008). Nevertheless, these genetic mechanisms accompanying evolutionary changes have seldom been investigated in social insects and further studies are needed to understand whether caste polyphenism, intra-specific parasitism and ultimately the evolution of cheating and the appearance of new parasitic species are linked with the selective pressures linked with the adaptive responses to changes in environmental conditions.

Acknowledgments

We thank Fabien Ravary for comments on the manuscript, as well as Jean-François Hamel for statistical advices. This work was supported by a grant from the French Ministry of Research to E.L., and the Ecole Doctorale Galilée of the University Paris 13.

3.2.5) References

- Beekman M, Oldroyd BP. 2008. When workers disunite: intraspecific parasitism by eusocial bees. *Annu Rev Entomol.* 53:19–37.
- Bourke AFG, Ratnieks FLW. 1999. Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. *Behav Ecol Sociobiol.* 46:287–297.
- Crispo E. 2007. The Baldwin effect and genetic assimilation: revisiting two mechanisms of evolutionary change mediated by phenotypic plasticity. *Evolution.* 61:2469–2479.
- Dobata S, Sasaki T, Mori H, Hasegawa E, Shimada M, Tsuji K. 2009. Cheater genotypes in the parthenogenetic ant *Pristomyrmex punctatus*. *Proc R Soc B.* 276:567–574.
- Emlen DJ. 1996. Artificial selection on horn length body size allometry in the horned beetle *Onthophagus acuminatus* (Coleoptera : Scarabaeidae). *Evolution* 50:1219–1230.
- Faustino CD, Silva-Matos EV, Mateus S, Zucchi R. 2002. First record of emergency queen rearing in stingless bees (Hymenoptera, Apinae, Meliponini). *Insect Soc.* 49:111–113.
- Frank SA. 1998. Foundations of social evolution. Princeton, Princeton Univ Press.
- Fraser VS, Kaufmann B, Oldroyd BP, Crozier RH. 2000. Genetic influence on caste in the ant *Camponotus consobrinus*. *Behav Ecol Sociobiol.* 16:188–194.
- Gilbert OM, Foster KR, Mehdiabadi NJ, Strassmann JE, Queller DC. 2007. High relatedness maintains multicellular cooperation in a social amoeba by controlling cheater mutants. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104:8913–8917.
- Hammond RL, Bruford MW, Bourke AFG. 2002. Ant workers selfishly bias sex ratios by manipulating female development. *Proc R Soc B.* 269:173–178.
- Harvey JA, Corley LS, Strand MR. 2000. Competition induces adaptive shifts in caste ratios of a polyembryonic wasp. *Nature.* 406:183–186.
- Hasegawa E. 1997. The optimal caste ratio in polymorphic ants: estimation and empirical evidence. *Am Nat.* 149:706–722.
- Herbers JM. 1980. On caste ratios in ant colonies: population responses to changing environments. *Evolution.* 34:575–585.
- Hölldobler B, Wilson EO. 1990. The ants. Cambridge, MA: Belknap Press.
- Hölldobler B, Wilson, EO. 2008. The superorganism: the beauty, elegance, and strangeness of insect societies. New York: W.W. Norton and Company.
- Hughes WHO, Boomsma JJ. 2008. Genetic royal cheats in leaf-cutting ant societies. *Proc Natl Acad Sci USA.* 105:5150–5153.

- Itow T, Kobayashi K, Kubota M, Ogata K, Imai HT, Crozier RH. 1984. The reproductive cycle of the queenless ant *Pristomyrmex pungens*. *Insect Soc.* 31:87–102.
- Karsai I, Hunt JH. 2002. Food Quantity Affects Traits of Offspring in the Paper Wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Environ Entomol.* 31:99–106.
- Keller L, Nonacs P. 1993. The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal? *Anim Behav.* 45:787–794.
- Keller L. 1999. Levels of selection in evolution. Princeton: Princeton Univ Press.
- Lopez-Vaamonde C, Koning JW, Brown RM, Jordan WC, Bourke AFG. 2004. Social parasitism by male-producing reproductive workers in a eusocial insect. *Nature.* 430:557–560.
- Lumsden CJ. 1982. The social regulation of physical castes: the superorganism revived. *J Theor Biol.* 95:749–781.
- Mas F, Kölliker M. 2008. Maternal care and offspring begging in social insects: chemical signalling, hormonal regulation and evolution. *Anim Behav.* 76:1121–1131.
- McGlynn TP, Owen JP. 2002. Food supplementation alters caste allocation in a natural population of *Pheidole flavens*, a dimorphic leaf-litter dwelling ant. *Insect Soc.* 49:8–14.
- Moczek AP. 2007. Developmental capacitance, genetic accommodation, and adaptive evolution. *Evol Dev.* 9:299–305.
- Moczek AP, Nijhout HF. 2002. Developmental mechanisms of threshold evolution in a polyphenic beetle. *Evol Dev.* 4:252–264.
- Moczek AP. 2003. The behavioral ecology of threshold evolution in a polyphenic beetle. *Behav Ecol.* 14:841–854.
- Moran NA. 1992. The evolutionary maintenance of alternative phenotypes. *Am Nat.* 139:971–989.
- Nijhout HF. 2003. Development and evolution of adaptive polyphenisms. *Evol Dev.* 5:9–18.
- O'Donnell S. 1998. Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annu Rev Entomol.* 43:323–346.
- Oster GF, Wilson EO. 1978. Caste and ecology in the social insects. Princeton: Princeton University Press.
- Passera L, Roncin E, Kaufmann B, Keller L. 1996. Increased soldier production in ant colonies exposed to intraspecific competition. *Nature.* 397:630–631.
- Pankiw T. 2004. Brood pheromone regulates foraging activity of honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J Econ Entomol.* 97:748–751.

- Pankiw T. 2007. Brood pheromone modulation of pollen forager turnaround time in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *J Insect Behav.* 20:173–180.
- Ravary F, Jaisson P. 2002. The reproductive cycle of thelytokous colonies of *Cerapachys biroi* Forel (Formicidae, Cerapachyinae). *Insect Soc.* 49:114–119.
- Ravary F, Jaisson P. 2004. Absence of individual sterility in thelytokous colonies of the ant *Cerapachys biroi* Forel (Formicidae, Cerapachyinae). *Insect Soc.* 51:67–73.
- Ravary F, Jahyny B, Jaisson P. 2006. Brood stimulation controls the phasic reproductive cycle of the parthenogenetic ant *Cerapachys biroi*. *Insect Soc.* 53:20–26.
- Ribeiro M de F, Wenseleers T, Santos-Filho PS, Alves DA. 2006. Minature queens in stingless bees: basic facts and evolutionary hypotheses. *Apidologie.* 37:191–206.
- Roff DA. 1994. The evolution of dimorphic traits – predicting the genetic correlation between environments. *Genetics.* 136:395–401.
- Ross-Gillespie A, Gardner A, West SA, Griffin AS. 2007. Frequency dependence and cooperation: Theory and a test with bacteria. *Am Nat.* 170:331–342.
- Rüger MH, Fröba J, Foitzik S. 2008. Larval cannibalism and worker-induced separation of larvae in *Hypoponera* ants: a case of conflict over caste determination? *Insect Soc.* 55:12–21.
- Sasaki T, Tsuji K. 2003. Behavioral property of unusual large workers in the ant *Pristomyrmex pungens*. *J. Ethol.* 21:145–151.
- Schmid-Hempel P. 1992. Worker castes and adaptive demography. *J Evol Biol.* 5:1–12.
- Smith CR, Toth AL, Suarez AV, Robinson GE. 2008. Genetic and genomic analyses of the division of labour in insect societies. *Nat Rev Genet.* 9:735–748.
- Suzuki Y, Nijhout HF. 2008. Genetic basis of adaptive evolution of a polyphenism by genetic accommodation. *J Evol Biol.* 21:57–66.
- Tomkins JL, Brown GS. 2004. Population density drives the local evolution of a threshold dimorphism. *Nature.* 431:1099–1103.
- Tsuji K. 1988. Obligate parthenogenesis and reproductive division of labor in the Japanese queenless ant *Pristomyrmex pungens*: comparison of intranidal and extranidal workers. *Behav Ecol Sociobiol.* 23:247–255.
- Tsuji K. 1990. Reproductive division of labour related to age in the Japanese queenless ant, *Pristomyrmex pungens* Mayr (Hymenoptera, Formicidae). *Anim Behav.* 39:843–849.
- Tsuji K. 1995. Reproductive conflicts and levels of selection in the ant *Pristomyrmex pungens*: contextual analysis and partitioning of covariance. *Am Nat.* 146:586–607.

- Tsuji K, Yamauchi K. 1995. Production of females by parthenogenesis in the ant *Cerapachys biroi*. Insect Soc. 42:333–336.
- Vargo EL, Passera L. 1991. Pheromonal and behavioral queen control over the production of gynes in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). Behav Ecol Sociobiol. 28:161–169.
- Wenseleers T, Ratnieks FLW. 2004. Tragedy of the commons in *Melipona* bees. Proc R Soc B. 271:S310–S312.
- Wenseleers T, Ratnieks FLW, Ribeiro M de F, Alves D de A, Imperatriz-Fonseca VL. 2005. Working-class royalty: Bees beat the caste system. Biol Lett. 1:125–128.
- West-Eberhard MJ. 2003. Developmental plasticity and evolution. Oxford, U.K: Oxford Univ. Press.
- Wheeler DE. 1986. Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. Am Nat. 128:13–34.
- Wheeler DE. 1991. The developmental basis of worker caste polymorphism in ants. Am Nat. 138:1218–1238.
- Wheeler DE, Nijhout HF. 1984. Soldier determination in *Pheidole bicarinata*: inhibition by adult soldiers. J Insect Physiol. 30:127–135.
- Wilson EO. 1971. The insect societies. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Wilson EO. 1985. The sociogenesis of insect colonies. Science. 28:1489–1495.
- Yang AS, Christopher M, Nijhout HF. 2004. Geographic variation of caste structure among ant populations. Curr Biol. 14:514–519.

Chapitre 4

LA DIFFERENCIATION IMAGINALE CHEZ *CERAPACHYS BIROI*

1) Introduction

Le chapitre précédent a permis d'évaluer les mécanismes mis en jeu dans le processus de différenciation ouvrière/intercaste. Il est clairement apparu que les intercastes ne sont généralement produites que dans des circonstances particulières. Par conséquent, les ouvrières de *C. biroi* représentent bien souvent l'essentiel des individus qui composent la colonie. La division du travail reproducteur s'effectue alors en phase stationnaire, période durant laquelle seules les jeunes ouvrières fertiles se reproduisent (Ravary & Jaisson 2002). La division du travail non reproducteur a plutôt lieu, quant à elle, au cours de la phase de fourragement. Celle-ci s'opère en fonction d'un polyéthisme d'âge où les jeunes ouvrières demeurent au nid à s'occuper du couvain tandis que les ouvrières les plus âgées prennent en charge le fourragement (Ravary & Jaisson 2004).

Ceci étant dit, de par son cycle reproducteur et son mode de reproduction particuliers, la fourmi *C. biroi* offre un terrain propice à l'étude des effets de l'expérience individuelle sur la division du travail. Comme nous l'avons vu dans l'introduction générale, l'importance des processus de renforcement dans la mise en place de la division du travail a souvent été évoquée et modélisée. Par exemple, l'issue d'une sortie exploratoire dans le monde extérieur pourrait moduler le comportement de fourragement d'un individu. Si la recherche de nourriture est fructueuse, la probabilité d'effectuer une nouvelle sortie pourrait éventuellement augmenter. Inversement, en cas d'échec, le délai entre deux sorties consécutives augmenterait (Deneubourg et al. 1987, Plowright & Plowright 1988). Ce mécanisme mettant en jeu l'expérience directe des individus pourrait conduire à l'émergence de spécialistes (Théraulaz et al. 1998). Toutefois, les effets d'un tel processus restent encore à démontrer empiriquement (Beshers & Fewell 2001). Il est en effet souvent délicat de tester uniquement l'influence de l'expérience individuelle au sein d'espèces dans lesquelles, le plus souvent, des paramètres aussi cruciaux que l'âge, la génétique, la morphologie ou les interactions sociales sont impliqués dans la division du travail (*cf.* Introduction générale).

C'est dans ce contexte théorique qu'une étude sur l'influence de l'expérience individuelle sur la division du travail chez *C. biroi* a été entreprise. Cette espèce permet en effet de s'affranchir de l'ensemble des facteurs connus pour être à la base de la répartition des tâches au sein des sociétés d'insectes. Tout d'abord, les colonies de *C. biroi* sont dénuées de relations de dominance pouvant être à l'origine d'une répartition des tâches entre ouvrières

(Ravary 2003). Le mode même de reproduction de cette espèce permet de prédire une variabilité génétique extrêmement faible entre membres de la société. Par ailleurs, l'absence de dimorphisme entre ouvrières permet d'avoir recours à des individus morphologiquement semblables. Enfin le cycle reproducteur de *C. biroi* offre la possibilité de travailler avec des cohortes d'ouvrières de même âge, ayant en outre rencontré des conditions développementales identiques (Ravary & Jaisson 2002).

L'article suivant rapporte le travail mené sur le rôle de l'expérience individuelle, artificiellement contrôlée et modulée par des processus de renforcement, dans le développement comportemental et la mise en place de la division du travail chez *C. biroi*.

2) L'expérience individuelle peut générer, à elle seule, une division du travail durable chez les fourmis

2.1) Résumé de l'article 2

La division du travail entre ouvrières contribue grandement au succès écologique des insectes sociaux (Oster & Wilson 1978, Hölldobler & Wilson 1990). La morphologie, les variations génétiques et d'âges entre ouvrières, ainsi que les interactions sociales sont autant de facteurs à l'origine de la division du travail (*cf.* Introduction générale). Par ailleurs, l'expérience individuelle a souvent été suggérée comme pouvant influencer la décision d'une ouvrière à réaliser une tâche, mais son impact potentiel sur l'organisation des sociétés d'insectes reste encore à démontrer (résumé dans Beshers & Fewell 2001).

Dans ce but, des colonies de *C. biroi* composées d'ouvrières identiques à tout point de vue ont été constituées. Au travers d'une succession de sorties de fourrage, la moitié des ouvrières de chaque colonie a alors été systématiquement conditionnée à trouver des proies tandis que l'autre moitié était vouée à l'échec dans cette même tâche.

Au fil des sessions de renforcement, il s'est avéré que les individus obtenant systématiquement des succès dans la recherche de nourriture sortaient du nid plus rapidement et plus fréquemment que les individus ne réalisant que des sorties infructueuses. Le type de renforcement subi par un individu entraînant une modification de son seuil de réponse aux stimulations de fourrage.

Un mois plus tard, lors de la phase de fourrage suivante, les comportements de chaque ouvrière ont été observés afin de déterminer si l'expérience retirée de l'issue positive, ou négative, des sorties exploratoires antérieures pouvait modifier à long terme la trajectoire ontogénétique des individus et ainsi se répercuter sur la répartition des tâches. Les observations ont révélé que les ouvrières s'impliquaient dans des tâches relatives à leur expérience passée : les individus qui n'avaient auparavant obtenu que des expériences positives dans la recherche de nourriture s'occupaient préférentiellement du fourrage tandis que les individus qui n'avaient jamais rencontré de succès dans cette tâche s'étaient orientés vers les soins au couvain.

Pour la première fois, une étude révèle donc comment l'expérience individuelle peut, à elle seule, en orientant l'éthogénèse des ouvrières, générer une répartition durable des tâches chez les insectes sociaux. Basé sur de simples processus de renforcement, un tel système auto-

organisé d'attribution des tâches semble particulièrement robuste et pourrait jouer un rôle important dans l'efficacité dont font preuve les sociétés d'insectes.

2.2) Article 2

Individual experience alone can generate lasting division of labor in ants

-Publié dans la revue *Current Biology* (2007) vol. 17 : 1308–1312

Fabien Ravary^{1*}, Emmanuel Lecoutey^{2*}, Gwenaël Kaminski³,
Nicolas Châline² and Pierre Jaisson²

¹ Laboratory of Sub-Tropical Zoology, Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus
903-0213 Okinawa - Japan.

² Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée, CNRS UMR 7153, Université Paris 13
93430 Villetaneuse - France.

³ Centre de Biologie du Comportement, Université Pierre Mendès France, 38040 Grenoble –
France.

***These authors contributed equally to this work.**

2.2.1.) Abstract

Division of labor, the specialization of workers on different tasks, largely contributes to the ecological success of social insects [1, 2]. Morphological, genotypic and age variations among workers as well as their social interactions all shape division of labor [1-12]. In addition, individual experience has been suggested to influence workers in their decision to execute a task [13-18], but its potential impact on the organization of insect societies has yet to be demonstrated [19, 20]. Here we show that, all else being equal, ant workers engaged in distinct functions in accordance with their previous experience. When individuals were artificially led to discover prey at each of their foraging attempts, they showed a high propensity for food exploration. Conversely, foraging activity progressively decreased for individuals who always failed in the same situation. One month later, workers that previously found preys kept on exploring for food, while those who always failed specialized in brood care. It thus appears that individual experience can strongly channel the behavioral ontogeny of ants to generate a lasting division of labor. This self-organized task attribution system, based on an individual learning process, is particularly robust and may play an important role in colony efficiency.

2.2.2) Results and Discussion

Learning, the experience-dependent modulation of individual behavior, affects various traits of animal ecology and evolution such as habitat and resource selection, predator avoidance, mate choice and social behavior [21-24]. Here, we explored the behavioral processes possibly linking individual learning and social organization. The decentralized work system [4, 25, 26] and the learning abilities [27-30] of social insects make them excellent candidates to investigate whether and how individual experience can lead to behavioral specialization. To date, a few theoretical studies have suggested that the experience gained from previous performances could influence individual decisions to engage in a particular task [13-16]. According to these studies, success would increase the worker's propensity for that task, whereas failure or the lack of opportunity would reduce it. Would this hypothesis be proven, we can expect a division of labor to emerge from a worker population with varied experiences.

The ant *Cerapachys biroi* exhibits two singular traits, namely phasic reproduction, whereby each new generation of workers emerge synchronously every 34 days [31, 32], and parthenogenesis [33, 34]. This allowed us to circumvent the other typical factors involved in labor division (see Experimental Procedures, Study Organism): in our four experimental colonies, all individuals belonged to a same cohort of newly-eclosed workers and were therefore exactly the same age, size and shape and shared identical rearing conditions. Moreover, as parthenogens, they also displayed an extremely low inter-individual genetic diversity. This exceptional colonial homogeneity offers an optimal ground to test the sole effect of individual experience on task specialization and its consequences on work organization.

First, we conducted training sessions on these naive workers who never had the opportunity to get out of the nest-chamber, and therefore had never experienced any foraging activity (defined here as the act of searching for food). During this period, half of the workers of each experimental colony (referred to as “successful explorers” for brevity) were artificially presented with preys at every foraging attempt. The second half (referred to as “unsuccessful explorers”) never found any prey (see Experimental Procedures, Training Period). To evaluate the immediate effects of training on ant behavior, we compared the evolution of (i) the mean foraging rate (*i.e.* number of foraging attempts / number of training sessions) and (ii) the mean exit delay (*i.e.* the time elapsed between the opening of the nest-

chamber and the exit of the workers) between the two experimental groups, throughout the training period. The analyses revealed significant differences between the two groups of workers (Table 1). In all colonies, individual worker behavior progressively diverged, depending on the experience gained from foraging performance. Successful explorers exhibited higher exit rates than workers who systematically explored in vain (GEE with Proc GENMOD, interaction experimental session x colony nested within group, $\chi^2 = 181.31$ df = 126, $P = 0.0009$, Figure 1a). Moreover, the exit delay also diverged increasingly between the two types of individuals (GLM with Proc GLM, interaction experimental session x colony nested within group, $F_{126, 5187} = 3.93$, $P < 0.0001$, Figure 1b). While successful explorers presented low exit delay, the unsuccessful ants were less and less likely to leave the nest with repeated foraging failures. The treatment we applied on this homogeneous worker population effectively led to inter-individual variability in foraging propensities (Figures 1a & 1b). Here, workers differed only in the outcome of their exploration for food, even though none of them ever retrieved any food into the nest (prevented by the compartment's walls coated with fluon). Successful explorers always found preys after an active search for food outside the nest, whereas unsuccessful explorers, although motivated, never did, even if they all had access to food when the colony was fed. Therefore, it is very likely that the internal state of workers when discovering the food influences their tendency to forage. Besides, had they been able to retrieve the preys, their behavior would probably have diverged even more rapidly.

Interestingly, effects associated with the two treatments appeared relatively early in the training period, despite the fact that we only performed two sessions per day. Seven sessions (3.5 days) were sufficient to generate a significant difference between individuals in the mean exit delay (Tukey *post-hoc* comparison, session 8: $P < 0.0001$, $N = 125$ and $N = 130$ for successful and unsuccessful explorers, respectively). These *post-hoc* differences were significant ($P < 0.05$) for all subsequent sessions, except session 11 ($P = 0.99$) which immediately followed the second food supply, and session 13 ($P = 0.32$) for undetermined reasons. This delay may be overestimated since workers have probably more foraging opportunities under natural conditions.

Foraging experience may not be the only factor involved in the diverging functional orientation observed among workers. As workers who always explored in vain progressively renounced to get out and *a fortiori* spent more time in the nest-chamber than the others, they were also more exposed to the brood. They could thus respond to brood stimulation and care for it more, another type of experience that in turn may have modulated their propensity to

nurse. It is very likely that both kinds of stimuli were at work at the same time and in synergy to generate heterogeneity among workers.

	Model	Effets	Statistics		
			Chi ²	df	P
Foraging rate	GEE	group	10.96	1	<0.0001
		colony(group)	20.45	6	0.0023
		time	113.67	21	<0.0001
		time*group	45.24	21	0.0016
		time*colony(group)	181.31	126	0.0009
Exit delay	GLM		F	df	P
		group	20.84	1, 247	<0.0001
		colony(group)	3.41	1, 247	0.0030
		time	12.65	21, 5187	<0.0001
		time*group	5.31	21, 5187	<0.0001
		time*colony(group)	3.93	126, 5187	<0.0001
Long term effects	Manova-GLM		Wilks	df	P
		group	10.32	5, 197	<0.0001
		colony(group)	9.06	30, 790	<0.0001

Table 1. Summary of all effects as revealed by the statistical procedures used in the analyses of the immediate (foraging rate and exit delay) and long term effects of the training. The factor session was used as the repeated measure in the GEE and GLM procedures. Five behaviors (exploration, brood care and immobility at three different locations) were considered in the Manova-GLM.

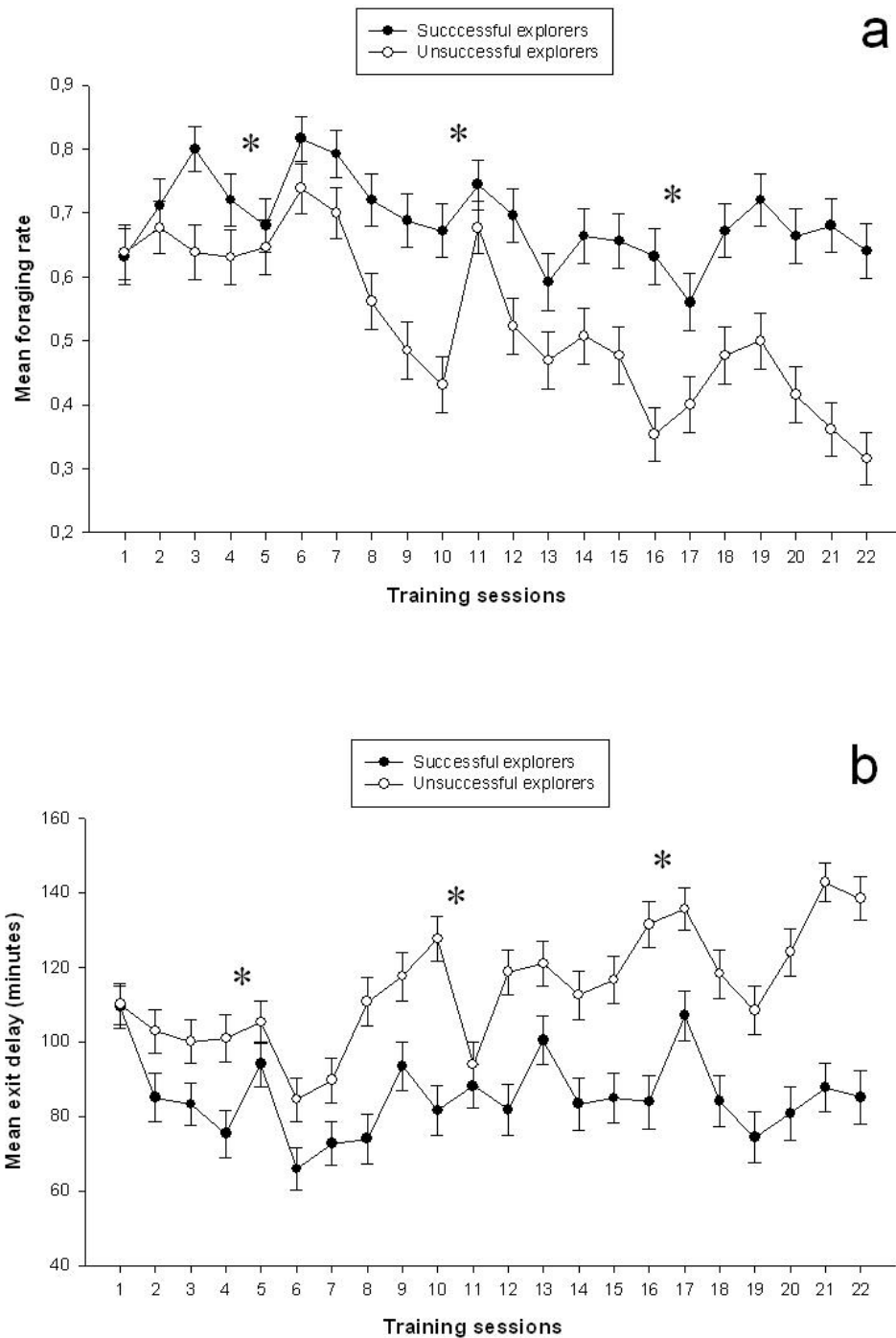


Figure 1. Evolution of (a) the mean foraging rate (\pm SE) and (b) the mean exit delay (\pm SE) according to foraging experience. Successful explorers kept a high foraging rate (a) and presented low exit delay (b) while unsuccessful explorers were less and less likely to leave the nest with repeated foraging failures (a, b). The curves illustrate the group * session interaction effects (for (a): $\chi^2 = 45.24$, $df = 21$, $P = 0.0016$, for (b): $F_{21, 5187} = 5.31$, $P < 0.0001$, successful explorers: $N=125$; unsuccessful explorers: $N=130$). * illustrates days of food supplies.

We then evaluated the long-term effect of the treatment on labor division by characterizing the behavioral profile of the same workers from the 18th to the 32nd day after the end of the training sessions (see Experimental Procedures, Long-term Effects of Training). As individuals were free to search for food, a significant difference in the task allocation of both groups of workers was observed (MANOVA with Proc GLM, effect of colony nested within group, Wilks' lambda $F_{30, 790} = 9.06$, $P < 0.0001$, Figure 2). Workers previously led to discover preys explored both their nest-chamber and the surrounding area more than the unsuccessful ones ($F_{6, 201} = 9.35$, $P < 0.0001$, $N = 107$ and $N = 102$ for successful and unsuccessful explorers, respectively). Conversely, the latter performed most of the nursing activity ($F_{6, 201} = 2$, $P = 0.067$). This difference in individual task allocation was further illustrated by the location occupied by the resting workers of both groups: successful explorers rested further from the brood (Immobility away from the brood: $F_{6, 201} = 18.11$, $P < 0.0001$) and were more likely to forage. Workers who always explored in vain during the training period were located closer to the brood (Immobility in the brood vicinity: $F_{6, 201} = 2.87$, $P = 0.011$, Immobility upon the brood: $F_{6, 201} = 9.73$, $P < 0.0001$) and were thus more likely to perform nursing activities [35]. Finally, experimental colonies succeeded in rearing a new generation of pupae, showing that a stable division of labor can emerge among workers differing only in early foraging experience.

In insect societies, a worker is presumed to engage in a particular task as soon as the associated stimulus exceeds its internal response threshold. Inter-individual variability in response thresholds, and thus in task selection, arises through many factors (*i.e.* age, size, genotype and social interactions [1-12]). Consequently, a flexible, self-organized division of labor can emerge from a heterogeneous worker population. Here we have shown that individual experience also can affect the dynamics of task specialization by shaping ants behavior, probably through a lasting modification of their internal response thresholds. The strength of experience lies in the fact that workers allocate their efforts according to their task performance, modulating division of labor through simple reinforcement mechanisms. This work, combined with others emphasizing the role of experience in improving individual and collective performance [18, 36, 37], suggests that individual experience can play a prominent role in colony efficiency through its effects on the task attribution system.

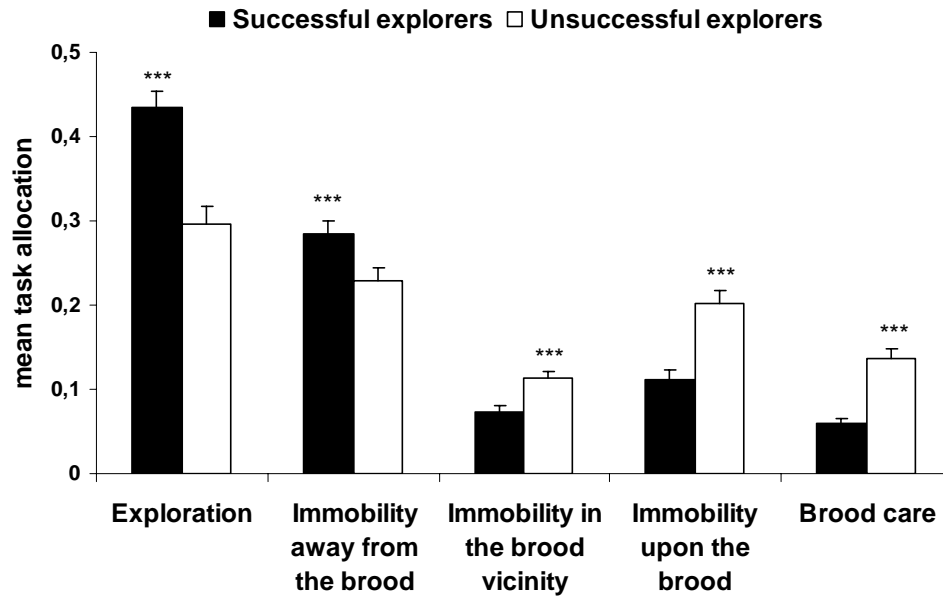


Figure 2. The ants *Cerapachys biroi* generate a long-term division of labor based on individual experience of foraging (mean task allocation (\pm SE) of the two groups of workers according to their respective experience). The results show a simple effect of the factor group for the five behaviors, as revealed by the Manova (Wilks' lambda = 10.32, df = 5, 197, $P < 0.0001$, successful explorers: N=107; unsuccessful explorers: N=102). Scanning observations revealed that, long after the end of the training sessions (18-32 days later), workers who previously found preys at every foraging attempts presented higher exploratory activity, and were more distant from brood than workers who always explored in vain. Conversely, the latter performed most of the brood care and stood closer to the brood (GLM with Proc. GLM (SAS), ***: $P < 0.001$).

The present study further suggests that, to achieve resilience, insect colonies can also benefit from quick task re-allocations by experienced individuals with lower response thresholds. Results show that workers can use their experience to select task after only few attempts. Under natural conditions, a few opportunities may thus be sufficient to select a new set of specialized individuals and counterbalance a sudden change in the colony needs or the selective death of individuals engaged in risky labor. This mechanism whereby a worker population diversifies its task propensities through the process of individual experience appears therefore to be a stable and robust way to organize labor division.

Moreover, a large amount of studies on various animal taxa, including insects, demonstrated a causal link between experience and modifications of the brain structure [38, 39]. In ants, age-related changes in biogenic amines, as well as in synaptic structure, have

been suggested to underlie repertoire expansion, the ontogenetic extension of the list of behaviors exhibited by a worker [40, 41]. We therefore suggest that experience-dependent changes in the worker brain can be a major force in modulating individual responses to task stimuli, shaping in turn the colony task allocation system. Considering that the probability to gain experience increases with age, it could thus explain most patterns of temporal polyethism without the need of a deterministic age-based model to account for changes in individual response thresholds [16].

2.2.3) Experimental Procedures

Study Organism.

In Taiwan and Okinawa (Japan), colonies of *Cerapachys biroi* are characterized by a phasic reproductive cycle composed of two alternating phases of activity: during the foraging phase (16 days), workers explore for food (brood of myrmicine ants) and a single cohort of larvae develop synchronously. Then, during the following statary phase (18 days) larvae pupate and a new cohort of eggs are laid. After the eggs hatch and the young workers emerge, also synchronously, a new foraging phase begins [31, 32]. Thus, individuals from a same cohort are rigorously the same age and developed in the same conditions during pre-imaginal stages (*cf.* Supplemental Data and Figure S1 for more details on the species). Moreover, in these queenless colonies, diploid eggs are laid by unmated female individuals through obligatory thelytokous parthenogenesis [33, 34]. There is no sterile caste: egg-laying is evenly distributed among all individuals, with no social hierarchy. Reproduction is linked to a temporal polyethism in which older workers stop laying eggs as they become foragers, after 3-4 reproductive cycles on average [33]. As a consequence of thelytokous parthenogenesis, an extremely low genetic diversity is expected to occur between nestmates, even though unequivocal estimation of genetic variance within colonies is still lacking for this species.

The entire experiment (maturation, training and observation) took place over an 84-day period (Figure S2).

Maturation Period (from day 0 to day 34).

Four experimental colonies were prepared using the following procedure: on the day prior to their synchronous emergence, 80 pupae from each of four stock-colonies (three collected in Taiwan and one in Okinawa) were settled in plastered nests. They were confined in a closed nest-chamber, together with 25 workers from their respective stock-colony who helped with the emergence process by licking the pupal velum. Three days later, the 80 newly-emerged workers were individually color-labeled for subsequent identification and transferred in a new nest, together with 15 larvae from their respective stock-colony. Older foragers were discarded. During an entire reproductive cycle (i.e. the current foraging phase and the following statary phase, around 30 days in total), nest-chambers remained completely closed to prevent any foraging experience and provide young workers with time for physiological/behavioral maturation. Food was provided directly into the nest-chamber through a special trapdoor. Before the onset of the next foraging phase, pupae developing from the introduced larvae were removed before emergence to prevent the set up of an age-based polyethism: only the focal cohort of workers remained in the nest. The pupae were replaced by 15 young larvae, as workers cannot lay eggs on their first cycle [33]. In addition, 10 older foragers originating from the respective stock-colonies were introduced in the nest-chamber to elicit recruitments and stimulate foraging activity during the training procedure.

Training Period (from day 35 to day 50).

In the four experimental nests, a single exit, experimentally controlled, allowed workers to leave the chamber and explore the surrounding area (Figure S3). Two training compartments were placed in this area. These compartments were made of a small plastic cup half-filled with plaster and coated with fluon to avoid escapes. One contained abundant prey (brood of myrmicine ants) whereas the second was empty. Additional prey was placed in a part of the foraging area. Once older foragers discovered this subsidiary food resource, they could elicit the recruitment of nestmates within the nest-chamber.

Training sessions started with the opening of the nest-chamber. Older foragers were always prone to get out, explore the foraging area for food and recruit nestmates. Every color-labeled worker leaving the nest-chamber was withdrawn with soft forceps and assigned to one of the two compartments, the same at every new foraging attempt, becoming either

"successful explorers" or not thereafter. Since older foragers always lacked the necessary workforce to retrieve preys, they gradually recruited most of their nestmates. This allowed to fully control the foraging activity of the treated workers. After three hours, the nest-chamber was closed again and all individuals were reintroduced through the trapdoor. During all the foraging phase, we performed two training sessions per day, with a minimum of two hours between consecutive sessions. Neither old foragers (lacking sufficient workforce) nor successful explorers (prevented by the compartment's wall) could retrieve preys into the nest-chamber. This allowed us to carry out several training sessions on experimental colonies that remained motivated for foraging. Instead, the colony was fed on every three days (i.e. after training sessions 4, 10 and 16) directly through the trapdoor (during these periods, workers were not actively searching for food). No session was performed on the day following the food supplies, to take into account the resulting decrease in colony foraging motivation. Compartments and preys were replaced after each training session. The treatment ceased at the end of the foraging phase, after 22 sessions. The older foragers were discarded and the nest-chamber remained closed during the following statary phase (18 days) to prevent any uncontrolled foraging attempt.

Long-term effects of training (from day 68 to day 84).

Since workers were then reproductively mature, a new batch of eggs was laid during the statary phase. At the end of this period, all pupae ensuing from the introduced larvae were removed before emergence to retain only the trained cohort of workers. At the onset of the following foraging phase, the nest-chamber was re-opened. It was never closed again until the end of the experiment. In each experimental colony, worker activity was recorded by performing 40 scanning observations throughout the entire foraging phase. Five behaviors were observed: exploration (both in and out of the nest-chamber), brood care and immobility at three different locations (= spatial fidelity zones [35]): away from the brood, in the brood vicinity and upon the brood. The time interval between two consecutive scans was at least one hour. Food was supplied directly into the nest-chamber *via* the trapdoor to prevent uncontrolled foraging experience. No observation was performed on the day following feeding.

Statistical Analyses.

To evaluate the immediate effects of training on ants' behaviour, we compared the evolution of (i) the mean foraging rate and (ii) the mean exit delay between successful and unsuccessful explorers. The foraging rate was analysed using a logistic regression with repeated-measures design, by generalised estimating equations (GEE). This model was fitted using the GENMOD procedure of SAS 9.14 (SAS Institute Inc. 2005). Since the dependant variable was binary (exit or not), a logit link function with binomial errors was chosen. The exit delay was analysed using repeated measures models in Proc. GLM of SAS. For each analysis, we assessed the relationship between the dependant variables and the factors: group, session (the repeated variable), colony nested within group, as well as interactions.

Then, the behavioural profiles of successful and unsuccessful explorers during the next foraging phase were compared using a multivariate analysis of variance (MANOVA, SAS, Proc. GLM). The Manova included group and colony nested within group as explanatory variables, and exploration, brood care and immobility at three different locations as response variables. Post-hoc analyses were performed with a Tukey-Kramer procedure. (SAS Institute. Cary; NC, USA: 2005. SAS/STAT Software Version 9.1).

2.2.4) Supplemental Data

Supplemental Experimental Procedures

Species. In Taiwan and Okinawa (Japan), colonies of *Cerapachys biroi* are characterized by a phasic reproductive cycle composed of two alternating phases of activity: during the foraging phase (16 days), workers explore for food and a single cohort of larvae develop synchronously. Then, during the following statary phase (18 days) larvae pupate and a new cohort of eggs are laid. After the eggs hatch and the young workers emerge, also synchronously, a new foraging phase begins (Figure S1). As most cerapachyine ants, they are specialized predators of other ants brood on which they prey through massive raids of foragers recruited by scouts (Ravary & Jaisson 2002). Prey are stored in the nest where they are consumed by both the developing larvae and the workers.

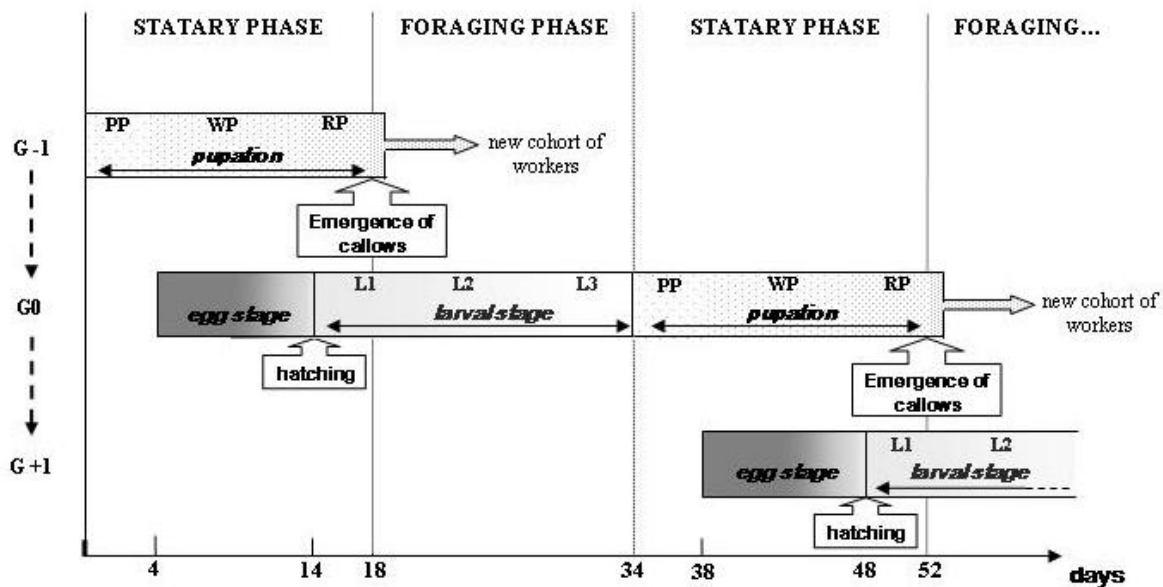


Figure S1. Reproductive cycle of *C. biroi* showing two alternating phases of activity synchronized with the brood stages. PP = prepupae, WP = white pupae, RP = reddish pupae, L1 = 1st larval instar, L2 = 2nd larval instar, L3 = 3rd larval instar, G = brood generation. (Reprinted with authorization from Ravary & Jaisson 2002).

The entire experiment (training and observation) took place on an 84-day period. A synopsis of the successive experimental procedures is illustrated in Figure S2.

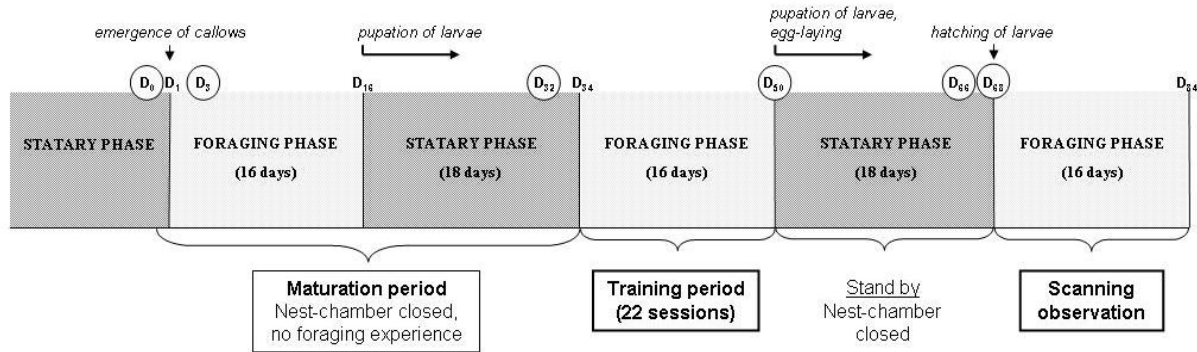


Figure S2. Sequence of the 84 days experiment, showing the timing of the experimental procedure with details on some key dates.

The experiment progressed as follows: on the day prior to their synchronous emergence (D0), 80 pupae were confined in a closed nest-chamber with 25 workers who helped with the emergence process. On Day 3, the 80 young workers were color-labeled and transferred in a new nest-chamber with 15 larvae. The 25 older workers were discarded. The nest-chamber remained closed until the onset of the following foraging phase, on day 34, to allow for behavioral maturation of young workers. On Day 32, pupae emerging from the introduced larvae were removed so that only the cohort of color-labeled workers remained in the nest. Since workers cannot lay eggs on their first statary phase, 15 new young larvae were introduced to stimulate foraging in workers. In addition, 10 older foragers were also introduced to elicit recruitments and stimulate workers' foraging activity during the training procedure. From Day 34 to Day 50, 22 training sessions were done. Half of the workers discovered prey at every foraging attempt. The other half always explored in vain. On Day 50, the 10 older foragers were discarded and the nest-chamber was closed. It remained closed during all the statary phase to avoid uncontrolled foraging experience. On Day 66, before the onset of the next foraging phase, pupae were removed before emergence to prevent the set up of an age-based polyethism: only the trained cohort of workers remained in the nest. The nest-chamber was opened on Day 68 and all individual behavioral profiles were determined by scanning observations throughout the foraging phase. The experiment stopped on Day 84.

Number of individuals tested during this experiment.

During this 84 days experiment, some workers died or lost their color-marking. Thus, 255 out of 320 labeled individuals were taken into account for the analysis of the immediate effects of the training, and 209 individuals remained for the analysis of the long term effects (Table S1).

Colony	Tested workers		total
	successful	unsuccessful	
T3	35 / 30	35 / 23	70 / 53
T4	33 / 26	35 / 28	68 / 54
T5	29 / 27	28 / 25	57 / 52
O2	28 / 24	32 / 26	60 / 50
total	125 / 107	125 / 102	255 / 209

Table S1. Detail of the number of successful and unsuccessful explorers in each experimental colony during the training period (a) and the scanning observation period (b) (a/b respectively).

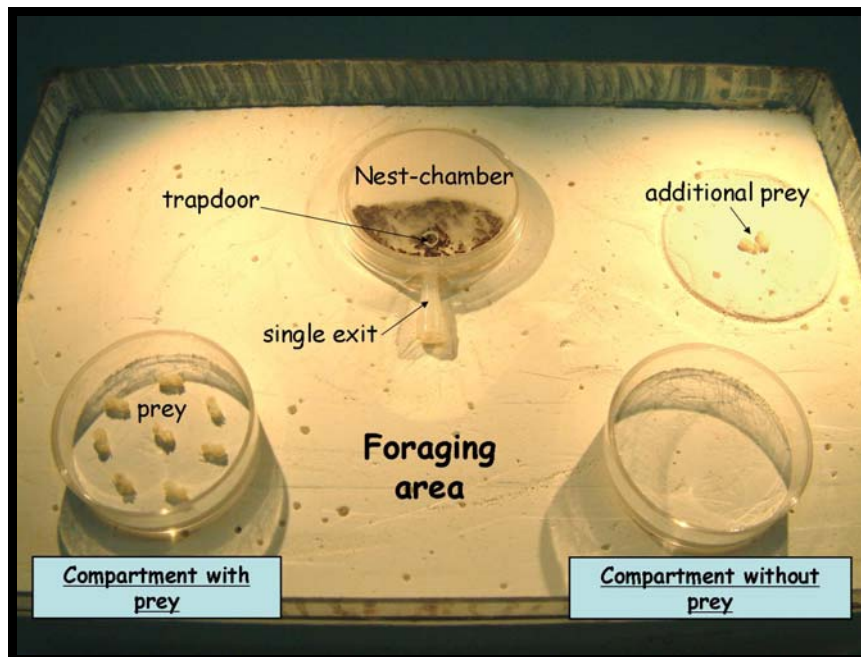


Figure S3. Experimental device used during the training sessions.

Acknowledgements

We thank S.N. Beshers, V. Fourcassié, D. Jackson, G.E. Robinson, G. Théraulaz and three anonymous referees for helpful comments. This work was supported by grants from the Japanese Society for the Promotion of Science (to F.R.) and the French Research Ministry (to E.L.).

F.R. designed the project. E.L. realized the experiments. F.R., E.L. and G.K. performed the statistical analyses. F.R., E.L. and N.C. wrote the paper. All authors discussed the results and commented on the manuscript.

2.2.5) References

1. Hölldobler, B., and Wilson, E.O. (1990). *The Ants* (Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press).
2. Oster, G.F., and Wilson, E.O. (1978). *Caste and Ecology in the Social Insects* (Princeton: Princeton University Press).
3. Calderone, N.W. (1998). Proximate mechanisms of age polyethism in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie* 29, 127-158.
4. Gordon, D.M. (1996). The organization of work in social insect colonies. *Nature* 380, 121-124.
5. Greene, M.J., and Gordon, D.M. (2003). Social insects: Cuticular hydrocarbons inform task decisions. *Nature* 423, 32.
6. Huang, Z.-Y., and Robinson, G.E. (1999). Social control of division of labor in honey bee colonies. In *Information Processing in Social Insects*, C. Detrain, J.-L. Deneubourg and J.M. Pasteels, eds. (Basel, Switzerland: Birkhäuser), pp. 165-186.
7. Jones, J.C., Myerscough, M.R., Graham, S., and Oldroyd, A.P. (2004). Honeybee nest thermoregulation: diversity promotes stability. *Science* 305, 402-404.
8. Leoncini, I., Le Conte, Y., Costagliola, G., Plettner, E., Toth, A.L., Wang, M.W., Huang, Z., Becard, J.M., Crauser, D., Slessor, K.N., et al. (2004). Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 101, 17559-17564.

9. Pankiw, T., and Page Jr, R.E. (1999). The effect of genotype, age, sex, and caste on response thresholds to sucrose and foraging behavior of honey bees (*Apis mellifera* L.). *J. Comp. Physiol. A* 185, 207-213.
10. Powell, S., and Tschinkel, W. (1999). Ritualized conflict in *Odontomachus brunneus* and the generation of interaction-based task allocation: a new organizational mechanism in ants. *Anim. Behav.* 58, 965-972.
11. Robinson, G.E. (1992). Regulation of division of labor in insect societies. *Ann. Rev. Entomol.* 37, 637-665.
12. Robinson, G.E., and Page Jr, R.E. (1988). Genetic determination of guarding and undertaking in honey bee colonies. *Nature* 333, 356-358.
13. Deneubourg, J.L., Goss, S., Pasteels, J.M., Fresneau, D., and Lachaud, J.P. (1987). Self-organization mechanisms in ant societies. II. Learning in foraging and division of labor. In *From Individual to Collective Behavior in Social Insects: les Treilles Workshop*, J.M. Pasteels and J.L. Deneubourg, eds. (Basel: Birkhauser), pp. 177-196.
14. Merkle, D., and Middendorf, M. (2004). Dynamic polyethism and competition for task in threshold reinforcement models of social insects. *Adapt. Behav.* 12, 251-262.
15. Plowright, R.C., and Plowright, C.M.S. (1988). Elitism in social insects: A positive feedback model. In *Interindividual Behavioral Variability in Social Insects*, R.L. Jeanne, ed. (Boulder, CO. 456 p.: Westview Press), pp. 419-431.
16. Theraulaz, G., Bonabeau, E., and Deneubourg, J.-L. (1998). Response threshold reinforcements and division of labour in insect societies. *Proc. R. Soc. London B. Biol. Sci.* 265, 327-332.
17. Tripet, F., and Nonacs, P. (2004). Foraging for work and age-based polyethism: The roles of age and previous experience on task choice in ants. *Ethology* 110, 863-877.
18. Weidenmuller, A. (2004). The control of nest climate in bumblebee (*Bombus terrestris*) colonies: interindividual variability and self reinforcement in fanning response. *Behav. Ecol.* 15, 120-128.
19. Beshers, S.N., and Fewell, J.H. (2001). Models of division of labor in social insects. *Ann. Rev. Entomol.* 46, 413-440.
20. Beshers, S.N., Robinson, G.E., and Mitternath, J.E. (1999). Response thresholds and division of labor in insect colonies. In *Information Processing in Social Insects*, C. Detrain, J.-L. Deneubourg and J.M. Pasteels, eds. (Basel, Switzerland: Birkhäuser), pp. 115-139.

21. Dukas, R. (2004). Evolutionary biology of animal cognition. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35, 347-374.
22. Galef, B.G., and Giraldeau, L.A. (2001). Social influences on foraging in vertebrates: causal mechanisms and adaptive functions. *Anim. Behav.* 61, 3-15.
23. Galef, B.G., and Laland, K.N. (2005). Social learning in animals: Empirical studies and theoretical models. *Bioscience* 55, 489-499.
24. Shettleworth, S.J. (1998). *Cognition, Evolution and Behavior* (New York: Oxford University Press).
25. Bourke, A.F.G., and Franks, N.R. (1995). *Social Evolution in Ants* (Princeton: Princeton University Press).
26. Fewell, J.H. (2003). Social insects networks. *Science* 301, 1867-1870.
27. Collett, T.S., and Collett, M. (2002). Memory use in insect visual navigation. *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 542 -552.
28. Franks, N.R., and Richardson, T. (2006). Teaching in tandem-running ants. *Nature* 439, 153.
29. Menzel, R., and Giurfa, M. (2001). Cognitive architecture of a mini-brain: the honeybee. *Trends Cogn. Sci.* 6, 62-71.
30. v Frisch, K. (1967). *The dance language and orientation of bees* (Cambridge: Harvard Univ. Press).
31. Ravary, F., Jahyny, B., and Jaisson, P. (2006). Brood stimulation controls the phasic reproductive cycle of the parthenogenetic ant *Cerapachys biroi*. *Insect. Soc.* 53, 20-26.
32. Ravary, F., and Jaisson, P. (2002). The reproductive cycle of thelytokous colonies of *Cerapachys biroi* Forel (Formicidae, Cerapachyinae). *Insect. Soc.* 49, 114-119.
33. Ravary, F., and Jaisson, P. (2004). Absence of individual sterility in thelytokous colonies of the ant *Cerapachys biroi* Forel (Formicidae; Cerapachyinae). *Insect. Soc.* 51, 67-73.
34. Tsuji, K., and Yamauchi, K. (1995). Production of females by parthenogenesis in the ant *Cerapachys biroi*. *Insect. Soc.* 42, 333-336.
35. Sendova-Franks, A.B., and Franks, N.R. (1995). Spatial relationships within nests of the ant *Leptothorax unifasciatus* (Latr.) and their implications for the division of labour. *Anim. Behav.* 50, 121-136.
36. Franks, N.R., Hooper, J.W., Dornhaus, A., Aukett, P.J., Hayward, A.L., and Berghoff, S.M. (2007). Reconnaissance and latent learning in ants. *Proc. R. Soc. London B. Biol. Sci.* 274, 1505 - 1509.

37. Langridge, E.A., Franks, N.R., and Sendova-Franks, A.B. (2004). Improvement in collective performance with experience in ants. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 56, 523-529.
38. Farris, S.M., Robinson, G.E., and Fahrbach, S.E. (2001). Experience- and age-related outgrowth of intrinsic neurons in the mushroom bodies of the adult worker honeybee. *J. Neurosci* 21, 6395-6404.
39. Kolb, B., and Whishaw, I.Q. (1998). Brain plasticity and behavior. *Ann. Rev. Psychol* 49, 43-64.
40. Seid, M.A., Harris, K.M., and Traniello, J.F.A. (2005). Age-related changes in the number and structure of synapses in the lip region of the mushroom bodies in the ant *Pheidole dentata*. *J. Comp. Neurol.* 488, 269-277.
41. Seid, M.A., and Traniello, J.F.A. (2006). Age-related repertoire expansion and division of labor in *Pheidole dentata* (Hymenoptera: Formicidae): a new perspective on temporal polyethism and behavioral plasticity in ants. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 60, 631-644.

Chapitre 5

ANALYSES DES PROFILS CUTICULAIRES INTER ET INTRA-COLONIAUX CHEZ *CERAPACHYS BIROI*

1) Introduction

Une des caractéristiques des animaux vivant en groupe réside bien souvent dans leur capacité à distinguer les membres de leur groupe ainsi que les membres d'autres groupes pouvant représenter une menace pour eux. Cette discrimination repose généralement sur des indices visuels (Tibbetts 2002, Tate et al. 2006), auditifs (Jouventin & Aubin 2002) et/ou chimiques (Brennan 2008). Chez les insectes sociaux, ce dernier type d'indice est particulièrement répandu et présent sur la cuticule des individus (Howard & Blomquist 2005). Celle-ci est en effet recouverte d'une fine couche lipidique composée majoritairement d'hydrocarbures dont la fonction première est de prévenir la dessiccation et l'infiltration de micro-organismes (Gibbs & Crockett 1998, Gibbs 2002, Martin et al. 2009). Or ces hydrocarbures cuticulaires sont également impliqués dans les mécanismes de reconnaissance (Lenoir et al. 1999, Howard & Blomquist 2005). Ainsi, chaque colonie d'insectes tend à présenter une signature chimique unique (odeur coloniale ou gestalt) qui assure habituellement la fermeture de la société et dont l'origine résulte du brassage de l'ensemble des odeurs individuelles (Crozier & Dix 1979, Crozier & Pamilo 1996). Ce "visa colonial" est restitué sous forme d'hydrocarbures au niveau de la cuticule de chaque individu et maintenu au sein de la société via les échanges trophallactiques (Boulay et al. 2000), les contacts et les toilettes entre congénères (Lenoir et al. 2001, Soroker et al. 1998). Outre cette reconnaissance coloniale (Nielsen et al. 1999, Wagner et al. 2000, Liu et al. 2001, Kaib et al. 2002), des variations qualitatives et quantitatives dans les profils d'hydrocarbures cuticulaires peuvent aussi être associées à des mécanismes de reconnaissance individuelle (D'Ettorre et al. 2004, D'Ettorre and Heinze 2005), de parenté (Arnold et al. 1996), de patrilignées (Boomsma et al. 2003) et d'espèces (Lockey & Metcalfe 1988, Neems & Butlin 1995, Dapporto 2007). Par ailleurs, des corrélations ont aussi été établies entre le type de profils cuticulaires et l'âge (Cuvillier-hot et al. 2001, Ichinose & Lenoir 2009), la caste (Ayasse et al. 1999, Tentschert et al. 2002), les tâches réalisées (Greene and Gordon 2003, Martin & Drijfhout 2009), la dominance (Ayasse et al. 1995, Heinze et al. 2002, Monnin et al. 2002), et la fertilité (Liebig et al. 2000, Monnin 2006, Le Conte & Hefetz 2008, Smith et al. 2008). Dans ce dernier cas, différents composés sont pressentis comme pouvant jouer un rôle de signal de fertilité chez les fourmis. Il s'agirait d'hydrocarbures cuticulaires tels que le 3,11-diméthylheptacosane chez *Pachycondyla inversa* (Heinze et al. 2002, D'Ettorre et al. 2004 a et b), le 13,23-diméthylpentatriacontane chez *Harpegnathos saltator* (Liebig et al. 2000), le 9-hentriacontène

chez *Dinoponera quadriceps* (Peeters et al. 1999, Monnin & Ratnieks 2001), le 9-pentacosène et le 3-méthylpentacosane chez *Myrmecia gulosa* (Dietemann et al. 2003), ou encore le n-C₂₇ et n-C₂₉ chez *Temnothorax unifasciatus* (Brunner et al. 2009).

Toutes ces études ne restent malheureusement que corrélatives et l'unique démonstration empirique qu'un de ces composés est réellement perçu comme un signal du statut reproducteur a été réalisée via l'étude du contrôle mutuel ("policing") de la reproduction entre ouvrières. En effet, des travaux avaient fortement suggéré que les hydrocarbures cuticulaires étaient un moyen pour la police des ouvrières de détecter et d'attaquer les ouvrières tentant de se reproduire égoïstement au sein de la colonie (Liebig et al. 1999, 2000, Monnin & Peeters 1999, Peeters et al. 1999, Cuvillier-Hot et al. 2004a, b, Endler et al. 2004, Dietemann et al. 2005). Smith et al. (2009) l'ont à présent clairement démontré chez *Aphaenogaster cockerelli*. Ils ont pour cela mimé des ouvrières reproductrices en appliquant un composé caractéristique des individus fertiles de cette espèce (le pentacosane; Smith et al. 2008) sur des ouvrières non reproductrices. Les ouvrières ayant subi ce traitement sont aussitôt agressées dans les colonies où la reine est présente alors qu'elles ne le sont pas dans les colonies dénuées de reines où les ouvrières se reproduisent librement. Cette étude a donc permis de mettre en évidence qu'un hydrocarbure cuticulaire peut être perçu comme un indice du statut reproducteur d'un individu et utilisé pour prévenir la reproduction entre ouvrières.

Dans la veine des nombreux travaux réalisés ces dernières années, ce chapitre se propose donc d'aborder de manière préliminaire les caractéristiques chimiques coloniales et individuelles de *Cerapachys biroi*.

La première partie de l'étude consiste à étudier les différences de signatures chimiques entre colonies. La fermeture coloniale étant importante chez *C. biroi*, il est prédit que les différentes colonies testées diffèrent significativement dans leur proportion d'hydrocarbures cuticulaires.

Par ailleurs, l'objectif majeur de ce travail consiste à analyser les différences chimiques propres aux castes (ouvrière et intercastes) et aux sous-castes comportementales (ouvrières néonates, jeunes ouvrières nourrices, vieilles ouvrières fourrageuses). En effet, l'espèce *C. biroi* semble être un modèle intéressant pour identifier les hydrocarbures révélateurs de la fertilité d'un individu. Les néonates étant des individus dont l'activité ovarienne n'est pas encore développée et les fourrageuses représentant des individus anciennement fertiles, les nourrices et les intercastes, dont les capacités de ponte sont pleinement exprimées, se placent entre ces deux types « stériles ». Des comparaisons entre ces

deux classes d'individus fertiles et non-fertiles pourraient donc permettre d'isoler des composés cuticulaires potentiellement impliqués dans la fertilité. En outre, les intercastes ayant des capacités ovariennes supérieures aux ouvrières (Ravary & Jaisson 2004), la comparaison de l'abondance relative des différents hydrocarbures cuticulaires liés à la fertilité pourrait permettre de réduire le nombre de composés candidats.

Enfin demeure toujours irrésolue la signification des agressions dont sont victimes certaines intercastes. L'intérêt de cette étude préliminaire est donc d'acquérir les informations nécessaires permettant ultérieurement de comparer les profils cuticulaires des intercastes agressées de celles qui ne le sont pas. Ceci pourrait permettre d'isoler le ou les composés responsables des agressions. La nature de ces composés pourrait alors révéler la fonction de ces agressions.

2) Procédure

2.1) Identification des composés chimiques de *C. biroi*

Deux cents individus ont été prélevés aléatoirement dans l'aire de fourragement et au sein du nid de la colonie T5. Deux échantillons de 100 individus ont ensuite été extraits dans du pentane pendant une heure. Les extraits concentrés ont alors été remis à Abraham Hefetz et Alain Lenoir qui ont réalisé l'analyse chimique initiale du profil de *C. biroi* grâce à une GC/MS (VGM250Q pour A. Hefetz ; Turbomass system, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA pour A. Lenoir) équipée d'une colonne capillaire DB-5 (longueur : 30m, diamètre : 0.32mm, épaisseur de film : 0.25µm, J&W scientific column, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Le gaz porteur était de l'hélium dont le débit était réglé à 28.57 cm/s. L'extrait a été analysé selon un programme de température maintenu initialement à 150°C durant 2 min, puis élevé de 5°C/min jusqu'à 300°C et enfin maintenu 30 min à 300°C. Le port d'injection a été maintenu à 200°C. Le détecteur du spectromètre de masse était un Fisons MD 800 (Foremost Equipment, Rochester, NY, USA) réglé à 70eV. L'identification des composés a ensuite été déduite à partir de leur schéma de fragmentation.

2.2) Origine et préparation des échantillons

L'étude a été réalisée sur quatre colonies mères originaires de Taiwan (T1, T3, T4 et T5; cf. Chapitre I). Pour chaque colonie, 4 types d'individus ont été analysés : des ouvrières néonates âgées de 5 à 7 jours et qui n'ont pas encore développé leurs ovaires, des nourrices fertiles âgées de 1 à 1,5 mois, des fourrageuses stériles âgées de plus de 3 mois et des intercastes très fertiles dont l'âge est d'au moins 1 mois. Pour cela, 80 néonates, 40 fourrageuses et 40 intercastes ont été prélevées 5 jours après le début de la phase de fourragement et ceci avant tout apport alimentaire. Les fourrageuses, les intercastes et 40 de ces néonates ont été congelées. Les 40 néonates restantes ont été isolées dans un nid avec des larves durant un cycle complet (plus d'un mois) avant d'être congelées à leur tour au début de la phase de fourragement suivante. Ces jeunes ouvrières ont alors constitué le groupe des nourrices fertiles âgées de 1 à 1,5 mois.

Chaque type d'individu a ensuite été extrait par groupe de huit durant une heure dans 200µl d'une solution étalon à (10µl C14 + 15µl C24)/l pentane, soit 3µg C24 + 2µg C14 dans 200µl de pentane. Sur l'ensemble des colonies, un total de 80 échantillons a donc été obtenu (5 échantillons x 4 types d'individus x 4 colonies).

Par ailleurs, 8 individus ont été prélevés aléatoirement dans l'aire de fourragement et au sein du nid de la colonie T5. Têtes, thorax et abdomens ont alors été séparés puis extraits pendant une heure dans 200µl de solution étalon en vue de caractériser les composés issus des glandes mandibulaires et de la glande de Dufour.

2.3) Analyse chimique

Avant analyse, chaque échantillon a été passé au Vortex puis évaporé à 20µl afin de concentrer l'extrait. Après évaporation, 1µl de chaque échantillon a alors été injecté dans le port d'une chromatographie en phase gazeuse (Varian GC 3900) avec injecteur *split/splitless*. La chromatographie était équipée d'une colonne capillaire VARIAN type Factor four VF-5ms (30 m X 0.32 millimètre, épaisseur de film de 0.25µm). Le gaz porteur était de l'hélium dont le débit était réglé à 28.57 cm/s. Le programme consistait à maintenir la température à 60°C pendant 2 minutes puis à l'élever de 10°C/min jusqu'à 300°C et enfin de la maintenir à 300°C durant 10 minutes. Le port d'injection était à 200°C et le FID (détecteur à flammes d'injections) à 320°C.

L'aire des pics retenus pour l'analyse a ensuite été calculée à l'aide du logiciel Varian system control (version 6.20). La proportion de chaque composé ayant ensuite été estimée en divisant l'aire du pic associé sur la somme des aires des pics retenus.

2.4) Analyses discriminante et statistique

Différentes analyses discriminantes linéaires (ADL) ont été appliquées à l'ensemble des composés puis uniquement sur les hydrocarbures cuticulaires afin d'envisager si le profil chimique d'une *Cerapachys biroi* pouvait être différencié en fonction de :

- sa colonie
- sa (sous-)caste (néonates, nourrices, fourrageuses, intercastes)
- sa fertilité (nourrices + intercastes VS néonates + fourrageuses)

D'autres ADL ont été effectuées dans le but d'identifier des hydrocarbures cuticulaires révélateurs du degré de fertilité (ADL : intercastes vs nourrices fertiles) mais aussi des composés intercastes spécifiques (ADL : intercastes vs nourrices + fourrageuses) qui pourraient être utilisés par les ouvrières lors des agressions.

Toutes les ADL ont été réalisées à l'aide de MATLAB 8.0 par Guénaël Cabanes.

Pour chaque ADL effectuée, les proportions des composés ont ensuite été comparées entre groupes via une ANOVA à un facteur suivi d'un test post-hoc de HSD Tukey (Statistica 8.0).

3) Résultats et Discussion

3.1) Identification et abondance relative des composés chimiques de *C. biroi*

Les analyses GC/MS réalisées par Abraham Hefetz et Alain Lenoir ont permis de révéler 40 pics (Figure V-1).

L'analyse chimique des têtes, thorax et abdomens a ensuite montré que les composés compris entre le 4-méthyl 2-heptanone et le 5-méthyl tridecane sont issus des glandes mandibulaires, tandis que le α farnesene et le diterpene sont originaires de la glande de Dufour. L'acide palmitique, l'acide linoléique et l'acide oléique sont des acides gras. Enfin les composés compris entre le tricosane (C₂₃) et le triacontane (C₃₀) font partie des hydrocarbures cuticulaires (Figure V-1).

L'analyse chromatographique des échantillons réalisée ultérieurement a permis de retenir 33 pics, 31 d'entre eux ayant pu être identifiés (Table V-1). Les 7 autres pics ont été exclus du fait de leur trop faible abondance sur l'ensemble des groupes ou parce que le programme de température utilisé n'a pas permis d'en calculer l'aire (les trois premiers pics étant souvent confondus avec le pic de pentane).

Au final, les 33 pics sélectionnés représentent cependant en moyenne 95% (\pm s.d : 0.037, n = 80) de l'aire totale des pics de chaque échantillon analysé.

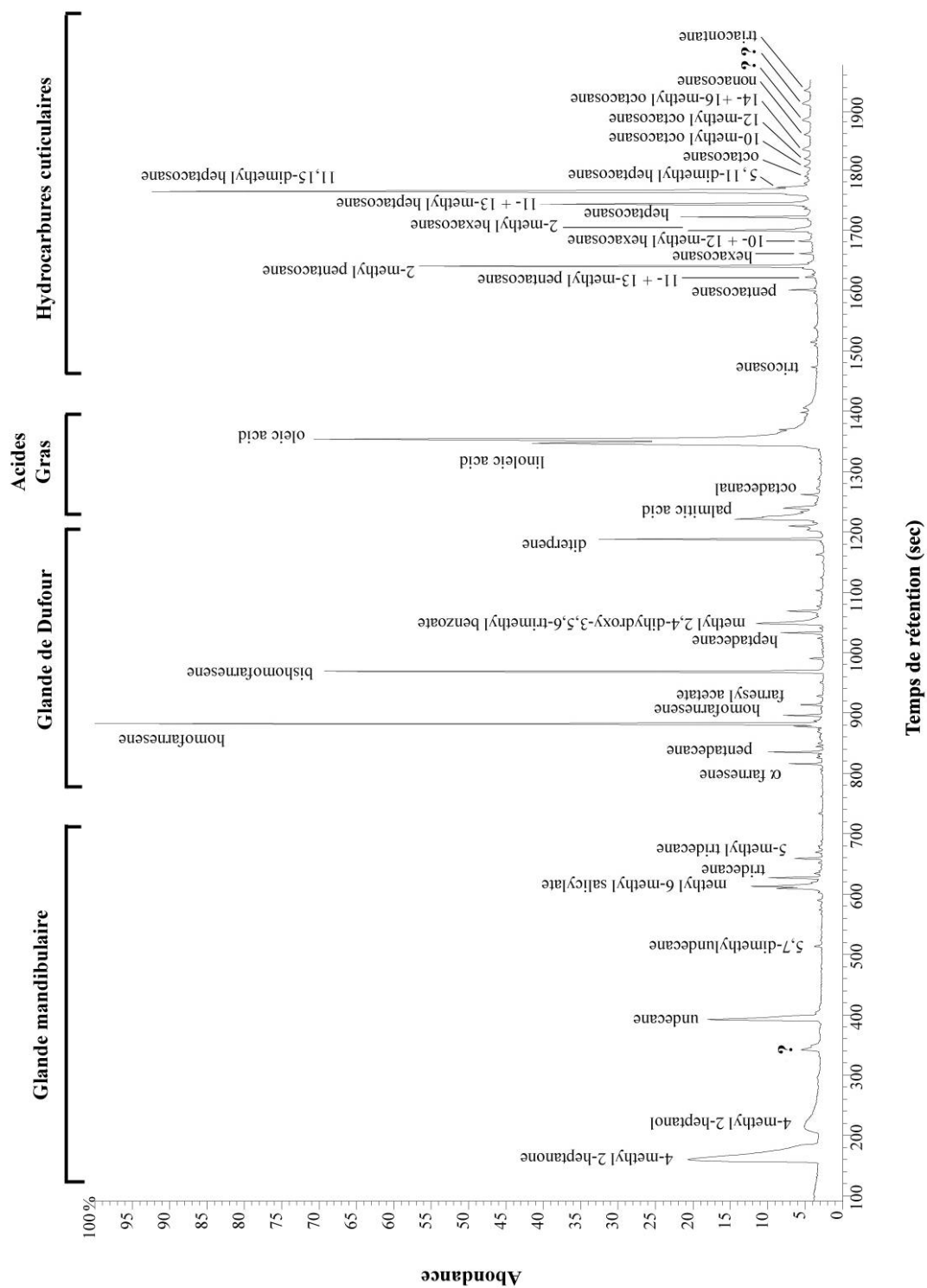


Figure V-1. Chromatogramme moyen de 100 individus de *Cerapachys biroi*.

Glandes + Acides gras			Hydrocarbures cuticulaires		
Pics	composés	% moyen (±s.d.)	pics	composés	% moyen (±s.d.)
1	C11	0,36 ± 0,72	14	C23	0,53 ± 1,06
2	5,7dimethyl C11	0,07 ± 0,10	15	C25	4,56 ± 2,35
3	C13	0,19 ± 0,13	16	11+13 methyl C25	0,43 ± 0,16
4	5 methyl C13	0,98 ± 0,76	17	2 me C25	9,91 ± 2,44
5	C15	0,45 ± 0,35	18	C26	1,42 ± 0,40
6	homofarnesene	7,37 ± 6,12	19	10 methyl C26	0,59 ± 0,79
7	homofarnesene	0,36 ± 0,27	20	12 methyl C26	0,46 ± 0,19
8	bishomofarnesene	0,33 ± 0,30	21	2 methyl C26	6,79 ± 2,13
9	heptadecane	0,23 ± 0,15	22	C27	13,13 ± 4,10
10	methyl 2,4-dihydroxy-3,5,6-trimethyl benzoate	1,68 ± 0,91	23	11+ 13 methyl C27	9,95 ± 3,88
11	diterpene	2,14 ± 1,86	24	11,15 dimethyl C27	27,20 ± 8,02
12	palmitic acid	0,41 ± 0,33	25	5,11 dimethyl C27	6,66 ± 4,04
13	oleic acid	0,37 ± 0,24	26	C28	0,77 ± 0,35
			27	10 methyl C28	0,26 ± 0,27
			28	12 methyl C28	0,27 ± 0,22
			29	14+16 methyl C28	0,67 ± 0,39
			30	C29	0,63 ± 0,27
			31	?	0,21 ± 0,15
			32	?	0,36 ± 0,19
			33	C30	0,25 ± 0,26

Tableau V-1. Identification des pics utilisés pour l'analyse discriminante linéaire. Les abondances relatives de chaque pic (pourcentage moyen ± écart-type) ont été calculées sur l'ensemble des échantillons de toutes les colonies

3.2) Variations inter-coloniales

L'analyse discriminante linéaire (ADL) réalisée sur l'ensemble des pics a permis de séparer les quatre colonies taïwanaises (Figure V-2a). La séparation entre les groupes sur l'axe 1 est alors surtout expliquée par neuf composés (par ordre décroissant d'importance : 29, 2, 18, 16, 1, 25, 28, 15, 13).

Les quatre colonies diffèrent très significativement sur l'ensemble des composés (ANOVA, effet colonie, $F(99, 132.63)=11.518$, $P=0.000$). En particulier, la colonie T3 se différencie nettement des trois autres colonies par des proportions relatives supérieures en composés 14, 19 et 33 (HSD Tukey, T3 vs T1 : tous les $P<0.001$; T3 vs T4 : tous les $P<0.01$; T3 vs T5 : tous les $P<0.001$; Tableau V-2). La colonie T5 se démarque des autres colonies par des proportions significativement inférieures en composés 16 et 18 et supérieures en composés 25, 28 et 29 (HSD Tukey, T5 vs T1 : tous les $P<0.05$; T5 vs T3 : tous les $P<0.01$; T5 vs T4 : tous les $P<0.05$). Enfin les colonies T1 et T4 se distinguent l'une de l'autre uniquement par le composé 2 dont les proportions sont plus importantes chez les individus de la colonie T1 (HSD Tukey, $P<0.05$; Tableau V-2).

L'analyse discriminante linéaire réalisée uniquement sur les hydrocarbures cuticulaires (pic 14 à 33) a elle aussi permis de séparer les quatre colonies taïwanaises, même si la séparation entre les colonies T1, T3 et T4 est moins évidente (Figure V-2b). Ici la séparation entre colonies sur l'axe 1 est donc logiquement due aux composés 29, 18, 25, 16, 28, 15 (par ordre décroissant d'importance).

Les quatre colonies diffèrent très significativement dans leurs proportions d'hydrocarbures cuticulaires (ANOVA, effet colonie, $F(60, 170.89)=10.691$, $P=0.000$). Comme précédemment, la colonie T3 se différencie nettement des trois autres colonies par des proportions relatives supérieures en composés 14, 19 et 33, tandis que la colonie T5 se démarque des autres colonies par des proportions significativement inférieures en composés 16 et 18 et supérieures en composés 25, 28 et 29. Cependant, aucun des 20 hydrocarbures cuticulaires ne permet de différencier les colonies T1 et T4 sur la bases d'une ANOVA incluant les quatre colonies. Par contre, une analyse complémentaire des seules colonies T1 et T4 révèlent qu'elles sont significativement différentes (ANOVA, effet colonie : $F(20, 19)=11.523$, $P=0.000$) et que la colonie T4 se distinguent de T1 par une proportion relative plus importante des composés 14, 17 et 19 (HSD Tukey : $P<0.05$; Tableau V-2).

Tous les individus testés ayant été prélevés et congelés en début de phase de fourragement et avant même d'être nourris, ceci indique que toutes les analyses ont été réalisées sur des individus à jeun depuis au moins 3 semaines (18 jours de phase stationnaire + 5 jours de maturation des néonates en début de phase de fourragement). De plus, tous les individus analysés ayant émergé au laboratoire dans des conditions d'élevage standardisées (apports alimentaires, nature du nid, ...), les différences de signatures coloniales observées ne sont donc *a priori* que d'origine génétique. Etant donné que l'ADL sépare grandement la colonie T5 des colonies T1, T3 et T4 (Figure V-2a), ceci pourrait indiquer que la colonie T5 constitue un clone génétiquement éloigné des trois autres colonies. Une analyse génétique, basée sur des marqueurs microsatellites et réalisée par Daniel Kronauer, est actuellement en cours et devrait permettre de confirmer ou non cette hypothèse.

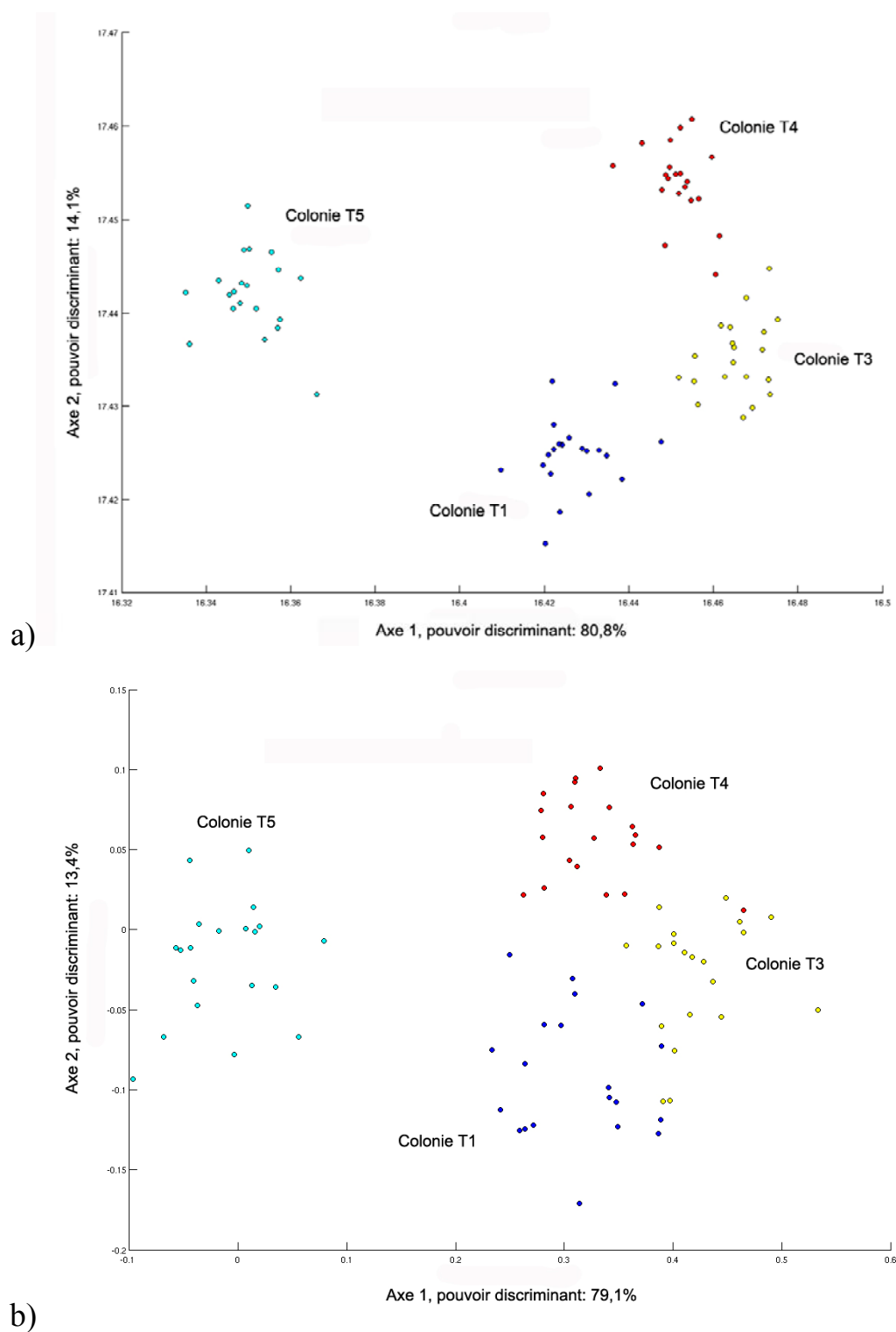


Figure V-2. Analyse discriminante linéaire des colonies taïwanaises de *C. biroi* étudiées.
a) ADL basée sur l'ensemble des 33 pics retenus.
b) ADL uniquement basée sur les hydrocarbures cuticulaires (pics 14 à 33).

	Colonie T1	Colonie T3	Colonie T4	Colonie T5
pics	% \pm s.d.	% \pm s.d.	% \pm s.d.	% \pm s.d.
1	0.51 \pm 0.57	0.08 \pm 0.12	0.02 \pm 0.06	0.84 \pm 1.16
2	0.09 \pm 0.04	0.03 \pm 0.05	0.01 \pm 0.04	0.14 \pm 0.15
3	0.23 \pm 0.11	0.16 \pm 0.10	0.13 \pm 0.09	0.24 \pm 0.19
4	0.72 \pm 0.49	0.88 \pm 0.65	1.13 \pm 0.91	1.18 \pm 0.89
5	0.58 \pm 0.34	0.46 \pm 0.40	0.43 \pm 0.36	0.35 \pm 0.28
6	9.73 \pm 6.30	6.88 \pm 6.78	6.43 \pm 6.68	6.43 \pm 4.21
7	0.41 \pm 0.25	0.32 \pm 0.22	0.31 \pm 0.25	0.42 \pm 0.34
8	0.42 \pm 0.30	0.30 \pm 0.31	0.28 \pm 0.34	0.31 \pm 0.26
9	0.22 \pm 0.05	0.24 \pm 0.14	0.18 \pm 0.09	0.26 \pm 0.25
10	1.22 \pm 0.44	1.69 \pm 0.61	1.56 \pm 0.62	2.26 \pm 1.38
11	2.68 \pm 1.67	2.26 \pm 2.33	1.97 \pm 2.08	1.67 \pm 1.09
12	0.51 \pm 0.32	0.41 \pm 0.42	0.34 \pm 0.36	0.37 \pm 0.18
13	0.33 \pm 0.21	0.47 \pm 0.30	0.47 \pm 0.20	0.23 \pm 0.14
14	0.17 \pm 0.10	1.46 \pm 1.81	0.37 \pm 0.37	0.12 \pm 0.10
15	4.30 \pm 1.58	5.30 \pm 2.08	5.59 \pm 2.66	3.05 \pm 2.22
16	0.44 \pm 0.09	0.49 \pm 0.19	0.48 \pm 0.17	0.30 \pm 0.12
17	9.57 \pm 1.32	10.57 \pm 3.37	10.96 \pm 2.51	8.52 \pm 1.24
18	1.56 \pm 0.34	1.61 \pm 0.40	1.43 \pm 0.37	1.08 \pm 0.25
19	0.28 \pm 0.15	1.28 \pm 1.31	0.50 \pm 0.31	0.31 \pm 0.33
20	0.44 \pm 0.10	0.48 \pm 0.27	0.44 \pm 0.18	0.47 \pm 0.19
21	6.75 \pm 2.31	6.95 \pm 2.25	6.83 \pm 2.34	6.62 \pm 1.70
22	13.13 \pm 3.01	14.00 \pm 4.42	13.94 \pm 5.11	11.44 \pm 3.28
23	9.70 \pm 3.22	9.58 \pm 4.45	9.38 \pm 3.69	11.14 \pm 4.08
24	28.82 \pm 7.72	25.14 \pm 7.97	27.06 \pm 8.05	27.79 \pm 8.48
25	4.43 \pm 3.13	5.41 \pm 3.30	6.76 \pm 5.13	10.05 \pm 1.35
26	0.68 \pm 0.17	0.79 \pm 0.18	0.76 \pm 0.33	0.86 \pm 0.57
27	0.16 \pm 0.09	0.25 \pm 0.14	0.22 \pm 0.13	0.41 \pm 0.47
28	0.20 \pm 0.07	0.24 \pm 0.21	0.20 \pm 0.12	0.44 \pm 0.31
29	0.59 \pm 0.09	0.53 \pm 0.22	0.51 \pm 0.16	1.05 \pm 0.60
30	0.53 \pm 0.17	0.65 \pm 0.22	0.54 \pm 0.31	0.80 \pm 0.30
31	0.16 \pm 0.05	0.21 \pm 0.16	0.15 \pm 0.10	0.31 \pm 0.21
32	0.30 \pm 0.06	0.41 \pm 0.28	0.37 \pm 0.16	0.37 \pm 0.20
33	0.17 \pm 0.14	0.47 \pm 0.35	0.22 \pm 0.23	0.16 \pm 0.12

Tableau V-2. Proportions relatives des pics (pourcentage moyen \pm écart-type) de chaque colonie de *C. biroi* étudiée. Pour chaque colonie, le pourcentage moyen est calculé sur la base de 20 échantillons (4 types d'individus x 5 échantillons).

3.3) Variations intra-coloniales

3.3.1) Etude des (sous-)castes

L'analyse discriminante linéaire réalisée sur l'ensemble des pics a permis de distinguer clairement les néonates, les nourrices, les fourrageuses et les intercastes et ceci bien qu'elles soient issues de colonies différentes (Figure V-3a). La séparation entre les groupes sur l'axe 1 est alors expliquée surtout par les composés 21, 23, 8, 6, 4, 12, 11 (par ordre décroissant d'importance).

Les quatre groupes d'individus diffèrent très significativement dans leur signature chimique (ANOVA, effet groupe, $F(99, 132.63)=34.581$, $P=0.000$). En particulier, les pics 6, 8 et 12 diffèrent significativement entre tous les groupes d'individus (HSD Tukey, 6 comparaisons par pic : tous les $P < 0.05$). Pour ces pics, les néonates présentent les proportions relatives les plus faibles, puis viennent les intercastes, les nourrices et enfin les fourrageuses dont l'abondance relative est la plus importante (voir Tableau V-3). En outre, les proportions relatives des pics 4, 11, 21 et 23 ne permettent pas de différencier les nourrices des intercastes alors que les autres comparaisons entre groupes diffèrent statistiquement pour ces composés (HSD Tukey, 6 comparaisons par pic : tous les $P < 0.05$ sauf nourrices vs intercastes). Cependant, pour l'ensemble de ces pics (4, 6, 8, 11, 12, 21, 23), intercastes et nourrices présentent des abondances relatives intermédiaires aux néonates et aux fourrageuses, laissant présager que l'abondance de ces composés est liée à l'âge et/ou au type de tâches réalisées plutôt qu'à la fertilité (Tableau V-3).

L'analyse discriminante linéaire réalisée uniquement sur les hydrocarbures cuticulaires (pic 14 à 33) permet aussi de séparer les quatre groupes d'individus, bien que la séparation entre les intercastes et les nourrices soit nettement moins évidente (Figure V-3b). Ici la variance inter groupes sur l'axe 1 est donc logiquement due aux composés 21 et 23.

Les quatre groupes d'individus diffèrent alors très significativement dans leurs proportions d'hydrocarbures cuticulaires (ANOVA, effet groupe, $F(60, 170.89)=30.530$, $P=0.000$). Là encore, les composés 21 et 23 ne permettent pas de différencier les nourrices des intercastes alors que les autres comparaisons entre groupes diffèrent statistiquement pour ces composés (HSD Tukey, 6 comparaisons par pic : tous les $P < 0.05$ sauf nourrices vs intercastes).

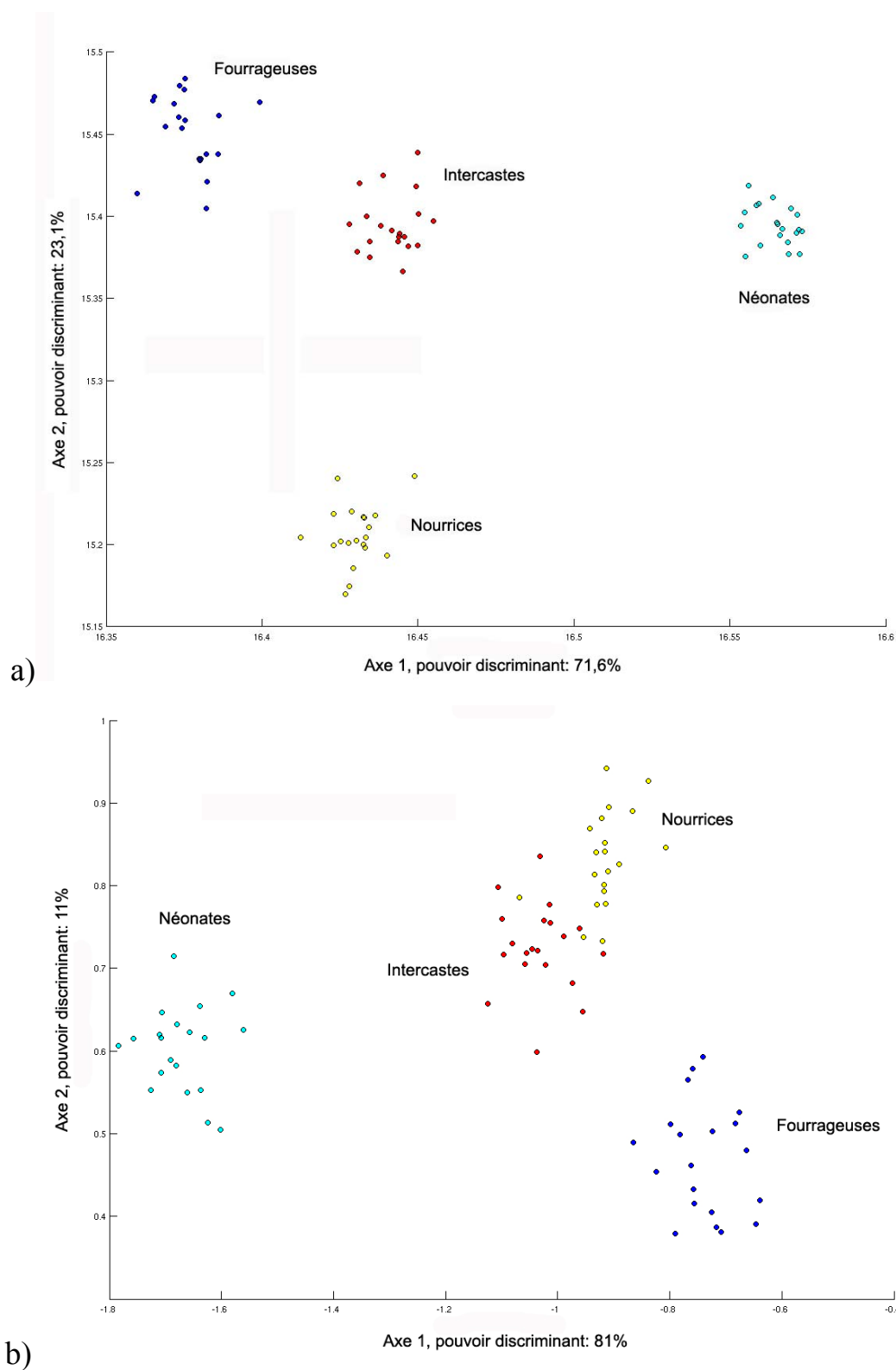


Figure V-3. Analyse discriminante linéaire des différentes castes et sous castes de *C. biroi* réalisée sur l'ensemble des colonies.

a) ADL basée sur l'ensemble des 33 pics retenus.

b) ADL uniquement basée sur les hydrocarbures cuticulaires (pics 14 à 33).

	néonates	nourrices	fourrageuses	intercastes
pics	% ± s.d.	% ± s.d.	% ± s.d.	% ± s.d.
1	0.06 ± 0.11	0.08 ± 0.12	1.07 ± 1.16	0.25 ± 0.29
2	0.09 ± 0.11	0.07 ± 0.14	0.08 ± 0.05	0.04 ± 0.06
3	0.10 ± 0.07	0.13 ± 0.06	0.36 ± 0.12	0.16 ± 0.09
4	0.20 ± 0.09	0.76 ± 0.15	1.92 ± 0.75	1.02 ± 0.46
5	0.21 ± 0.12	0.35 ± 0.23	0.97 ± 0.24	0.29 ± 0.07
6	1.78 ± 1.46	7.45 ± 4.11	15.93 ± 3.91	4.31 ± 1.30
7	0.25 ± 0.15	0.42 ± 0.37	0.61 ± 0.15	0.18 ± 0.07
8	0.04 ± 0.07	0.32 ± 0.20	0.75 ± 0.19	0.20 ± 0.06
9	0.27 ± 0.13	0.24 ± 0.24	0.21 ± 0.09	0.19 ± 0.08
10	1.69 ± 0.53	2.27 ± 1.16	1.43 ± 0.51	1.34 ± 1.01
11	0.53 ± 0.42	1.57 ± 0.83	4.89 ± 1.34	1.58 ± 0.57
12	0.10 ± 0.13	0.42 ± 0.20	0.85 ± 0.25	0.26 ± 0.09
13	0.24 ± 0.17	0.38 ± 0.12	0.66 ± 0.23	0.20 ± 0.07
14	1.32 ± 1.84	0.20 ± 0.12	0.44 ± 0.62	0.16 ± 0.13
15	3.44 ± 1.43	6.13 ± 0.60	3.40 ± 1.90	5.26 ± 3.33
16	0.57 ± 0.13	0.46 ± 0.17	0.32 ± 0.11	0.36 ± 0.09
17	7.86 ± 0.85	12.08 ± 2.39	9.04 ± 1.45	10.64 ± 2.33
18	1.20 ± 0.19	1.51 ± 0.28	1.32 ± 0.32	1.66 ± 0.56
19	1.15 ± 1.34	0.61 ± 0.29	0.38 ± 0.46	0.23 ± 0.15
20	0.66 ± 0.20	0.38 ± 0.07	0.36 ± 0.15	0.42 ± 0.17
21	9.89 ± 0.85	5.91 ± 0.57	4.86 ± 0.96	6.49 ± 1.36
22	9.54 ± 2.14	14.21 ± 1.33	12.43 ± 3.43	16.33 ± 5.07
23	15.52 ± 1.17	8.46 ± 1.09	6.81 ± 2.01	9.02 ± 3.11
24	36.17 ± 3.48	24.76 ± 3.58	21.86 ± 8.39	26.03 ± 7.05
25	2.97 ± 3.88	7.63 ± 1.97	6.30 ± 4.01	9.75 ± 2.69
26	0.60 ± 0.13	0.78 ± 0.58	0.76 ± 0.16	0.96 ± 0.25
27	0.41 ± 0.17	0.37 ± 0.44	0.13 ± 0.10	0.13 ± 0.06
28	0.41 ± 0.24	0.20 ± 0.26	0.20 ± 0.12	0.27 ± 0.19
29	0.81 ± 0.29	0.65 ± 0.61	0.55 ± 0.15	0.67 ± 0.35
30	0.51 ± 0.19	0.58 ± 0.31	0.54 ± 0.20	0.90 ± 0.19
31	0.39 ± 0.16	0.15 ± 0.12	0.12 ± 0.02	0.18 ± 0.10
32	0.56 ± 0.27	0.26 ± 0.08	0.29 ± 0.08	0.33 ± 0.12
33	0.48 ± 0.37	0.21 ± 0.15	0.15 ± 0.12	0.17 ± 0.19

Tableau V-3. Proportions relatives de chaque pic (pourcentage moyen ± écart-type) pour chaque (sous-)caste de *C. biroi*. Pour chaque type d'individus, le pourcentage moyen est calculé sur la base de 20 échantillons (5 échantillons par colonie).

3.3.2) Etude de la fertilité

L'analyse discriminante linéaire réalisée sur l'ensemble des pics a permis de discriminer les individus fertiles (nourrices et intercastes) des individus qui ne le sont pas encore ou qui ne le sont plus (néonates et fourrageuses) et ceci bien qu'ils soient issus de colonies différentes (Figure V-4). Ainsi les groupes fertiles et stériles diffèrent hautement dans leur signature chimique (ANOVA, effet fertilité, $F(33, 46)=16.320$, $P=0.000$) puisque 23 des 33 pics sont statistiquement différents (pics 1, 3, 5 à 7, 11, 13 à 15, 17 à 26, 30 à 33 ; HSD Tukey : tous les $P < 0.05$). Par ailleurs, la séparation entre les groupes fertiles et stériles selon l'axe 1 (Figure V-4) s'explique majoritairement par les composés 17, 22, 25, 15 (par ordre décroissant d'importance), que ce soit avec une ADL portant sur l'ensemble des composés ou uniquement sur les hydrocarbures cuticulaires (Tableau V-4). Il est intéressant de constater que ces quatre hydrocarbures cuticulaires sont en proportion plus importantes chez les individus fertiles que chez les individus stériles (HSD Tukey : tous les $P < 0.001$; Tableau V-3), laissant penser qu'ils pourraient s'agir de composés indicateurs de la fertilité. On remarque aussi que les proportions relatives de ces composés ne sont pas révélatrices du poids de chaque composé dans l'ADL. En effet, alors que, par ordre décroissant, l'importance des composés dans l'ADL est 17, 22, 25, 15, les composés les plus abondants sont d'abord le 22 (groupe fertile : moyenne = $15.27\% \pm 3.81$, $n = 40$; groupe stérile : moyenne = $10.98\% \pm 3.18$, $n = 40$) puis le 17 (fertile : moyenne = $11.36\% \pm 2.44$; stérile : moyenne = $8.45\% \pm 1.32$), le 25 (fertile : moyenne = $8.69\% \pm 2.56$; stérile : moyenne = $4.63\% \pm 4.24$), et le 15 (fertile : moyenne = $5.70\% \pm 2.40$; stérile : moyenne = $3.42\% \pm 1.66$).

Une ADL complémentaire portant uniquement sur les hydrocarbures cuticulaires (pics 14 à 33) des individus fertiles (intercastes et nourrices) a alors été réalisée pour tenter de caractériser le type d'information (indice de fertilité ou du degré de fertilité) contenu par les quatre hydrocarbures cuticulaires préalablement décrits (17, 22, 25 et 15). Il ressort de cette analyse que les intercastes et les nourrices peuvent être discriminées (Figure V-5) et que cette distinction s'opère essentiellement sur les composés 19, 30 et 25 (par ordre décroissant d'importance ; Tableau V-4). Intercastes et nourrices diffèrent en effet hautement dans leur profil cuticulaire (ANOVA, effet groupe, $F(20, 19)=22.971$, $P=0.000$), en particulier sur ces trois composés (HSD Tukey, pics 19 et 30 : $P < 0.001$; pic 25 : $P < 0.01$). Ainsi le composé 19 est significativement plus abondant chez les nourrices, alors que les composés 30 et 25 le sont plus chez les intercastes (Tableau V-3).

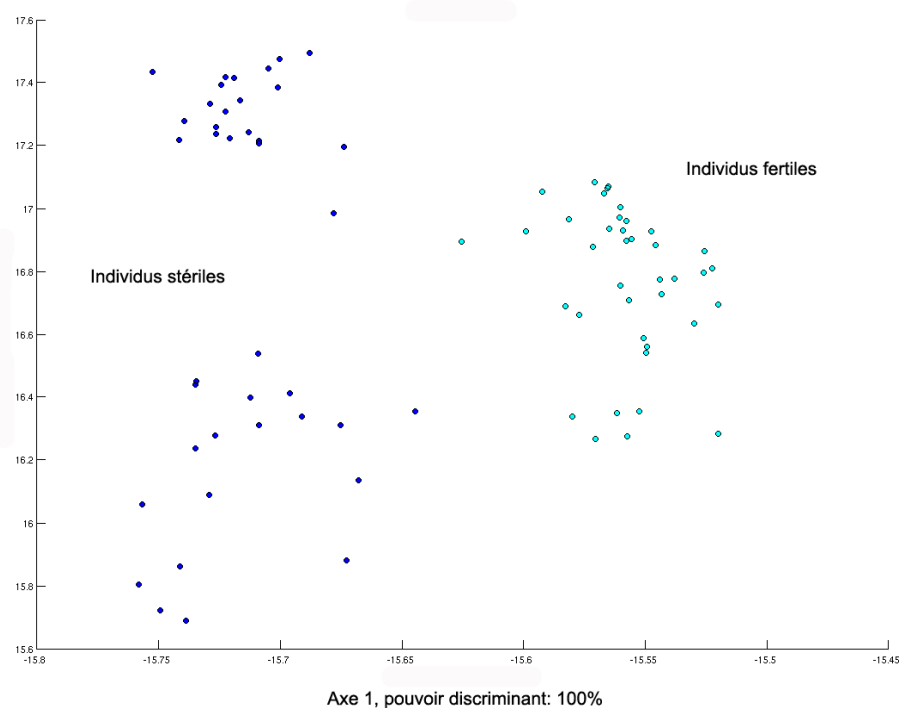


Figure V-4. Analyse discriminante linéaire basée sur l'ensemble des 33 pics retenus et séparant les individus fertiles (intercastes + nourrices) des individus stériles (néonates + fourrageuses).

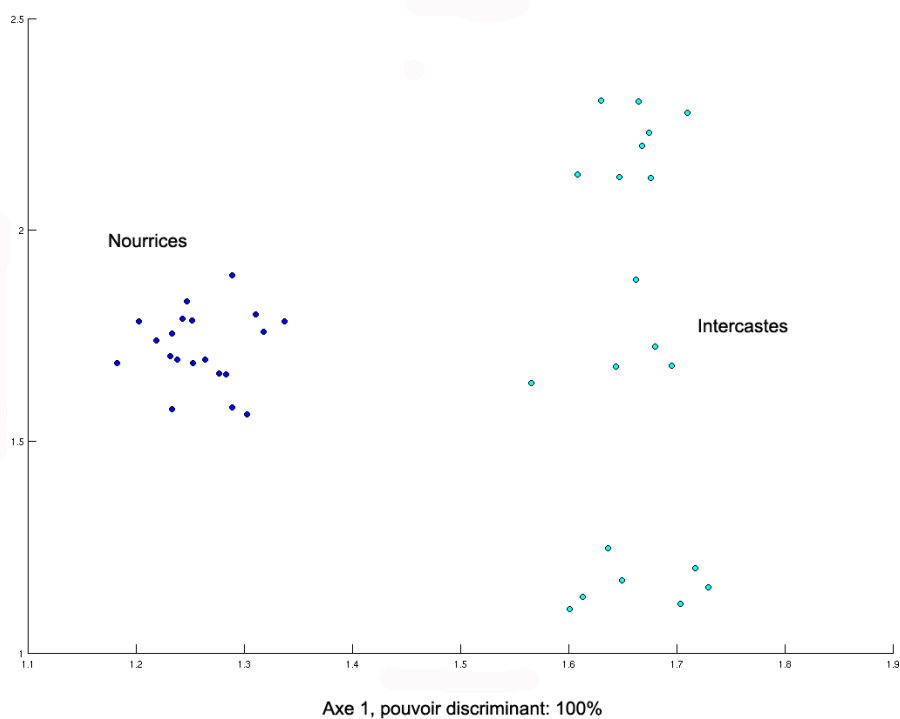


Figure V-5. Analyse discriminante linéaire basée sur les hydrocarbures cuticulaires (pics 14 à 33) et séparant les deux types d'individus fertiles (intercastes et nourrices).

De par sa quantité supérieure chez les individus fertiles, le composé 25 a préalablement permis de discriminer nourrices et intercastes des néonates et fourrageuses. Toutefois ce composé permet également de différencier les individus fertiles entre eux, celui-ci étant plus abondant chez les intercastes que chez les nourrices. Par conséquent le 5,11 dimethylheptacosane apparaît comme l'unique composé à la fois révélateur de la fertilité mais aussi du degré de fertilité chez *C. biroi*.

Par ailleurs, étant donné que les composés 19 et 30 n'ont pas permis de distinguer les individus fertiles des individus stériles auparavant, ces deux composés semblent donc être caste-spécifiques. Les composés 19 et 30 seraient alors respectivement caractéristiques des ouvrières et des intercastes (Tableau V-4).

Cependant, il faut noter que l'âge des intercastes analysées demeure inconnu. Il est donc fort probable que de nombreuses intercastes échantillonnées soit aussi vieilles, voire plus âgées que les fourrageuses testées. Ainsi les hydrocarbures cuticulaires 19 et 30 pourraient ne pas être caste-spécifiques mais âge-dépendants. Afin de répondre à cette interrogation, une ADL basée sur une comparaison d'ouvrières jeunes et âgées face à des intercastes jeunes et âgées devrait *a priori* limiter l'influence des composés qui varient avec l'âge et permettre d'isoler les hydrocarbures caste-spécifiques. Une ADL portant uniquement sur les hydrocarbures cuticulaires (pics 14 à 33) des intercastes et des ouvrières (nourrices + fourrageuses) a alors été réalisée, les ouvrières néonates ayant été exclues du groupe ouvrières puisque aucune intercaste néonate n'a été échantillonnée. Il s'avère que cette ADL permet de discriminer distinctement les intercastes des ouvrières (Figure V-6) et que ces deux groupes d'individus diffèrent significativement dans leurs proportions d'hydrocarbures cuticulaires (ANOVA, effet groupe, $F(20, 39)=14.621$, $P=0.000$). Les composés 30, 21, 25, 22 et 19 (par ordre d'importance) expliquent tout particulièrement la séparation observée lors de l'ADL (Tableau V-4). Les composés 30, 21, 25 et 22 sont plus abondants chez les intercastes (HSD Tukey, pics 30 et 21 : $P<0.001$; pics 25 et 22 : $P<0.01$) tandis que le composé 19 est présent en plus grande quantité chez les ouvrières (HSD Tukey, $P<0.01$; Tableau V-3).

On remarque que le composé 21 est à exclure en tant qu'indicateur de la fertilité. En effet celui-ci ne fait pas partie des composés ayant permis de discriminer les individus fertiles des individus stériles (Tableau V-4). De plus, le fait qu'intercastes et nourrices présentent pour ce composé des proportions relatives intermédiaires aux néonates et aux fourrageuses laisse supposer que l'abondance de ce composé est liée à l'âge plutôt qu'à la fertilité ou à la caste (Tableau V-2).

Par ailleurs, l'importance du composé 25 (5,11 dimethylheptacosane) dans l'analyse opposant les intercastes aux ouvrières renforce, là encore, l'hypothèse que celui-ci est un indicateur non seulement de la fertilité mais aussi du degré de fertilité (Tableau V-4).

En conclusion et par ordre d'importance dans l'ADL « fertiles vs stériles », le 2 methyl C₂₅ (pic 17), le C₂₇ (pic 22) et le C₂₅ (pic 15) restent aussi des candidats potentiels dans la signalisation de la fertilité (Tableau V-4).

Cette étude vient donc corroborer les précédents travaux soulignant le rôle potentiel des composés C₂₅, C₂₇ et de leurs dérivés méthylés comme indicateur de la fertilité (Monnin 2006, Le Conte & Hefetz 2008, Smith et al. 2009). Toutefois, la plupart des études qui se sont intéressées à la fertilité au travers des hydrocarbures cuticulaires ont souvent comparé des reines et des ouvrières (accouplées ou non) ou des ouvrières non accouplées (se reproduisant ou non) mais dont le niveau de fertilité ou l'âge demeuraient inconnu. De plus bien souvent, un facteur dominance entre individus, notamment chez les Ponérines, ne pouvait être exclu. Il apparaît donc clairement que, dans la plupart des cas, ces études sont restées corrélatives et que des effets de l'accouplement, de l'âge et/ou de la dominance n'ont autorisé aucune conclusion définitive. L'espèce *Cerapachys biroi* apparaît donc comme un modèle prometteur pour approfondir le sujet puisqu'elle permet d'analyser des individus de même âge, de fertilité connue et entre lesquels aucune hiérarchie reproductrice n'existe.

Ainsi la critique majeure dont souffre cette étude préliminaire est qu'il eût été préférable de comparer des intercastes d'âge connu et idéalement de même âge que les nourrices (1 mois). Ceci étant dit, ce travail a été entrepris avant de connaître précisément les conditions particulières dans lesquelles les intercastes sont produites au sein des colonies (voir Chapitre III, article 1). L'étape suivante de cette étude consistera donc prochainement à produire de nombreuses intercastes et à les analyser à l'âge d'un mois.

En outre, les résultats semblent bien confirmer que des proportions relatives élevées en composé 30 (C₂₉) ou 19 (10 methyl C₂₆) seraient respectivement caractéristiques des intercastes et des ouvrières et non dépendantes de l'âge.

La suite du projet envisagera donc d'analyser les profils cuticulaires des intercastes agressées pour voir quel(s) composé(s) diffèrent par rapport aux intercastes non agressées. S'agit-il de composés liés à la fertilité (5,11 dimethylC₂₇, 2 methyl C₂₅, C₂₇, C₂₅) dont la synthèse excessive, résultante d'une activité ovarienne intense, pourrait induire des exécutions afin de limiter la reproduction coloniale lors de périodes défavorables ? Ou pourrait-il s'agir de

composés royaux (C₂₉ ?) surexprimés par certaines intercastes et sur lesquels les ouvrières de *C. biroi* se sont jadis basées pour s'affranchir de la caste royale ?

En tout état de cause, une fois que les composés responsables des agressions auront été identifiés, des bio-essais visant à appliquer sur des intercastes non-agressées des proportions de composés équivalentes à celles présentes sur les intercastes agressées devraient permettre de conclure définitivement quant à l'implication de ces composés dans les exécutions d'intercastes (voir Smith et al. 2009).

	Fertiles (nourrices + intercastes) vs Stériles (néonates + fourrageuses)	Intercaſtes vs Nourrices	Intercaſtes vs Ouvrières (nourrices + fourrageuses)
Pics par ordre d'importance			
1er	17	19	30
2e	22	30	21
3e	25	25	25
4e	15		22
5e			19

Tableau V-4 : Récapitulatif des pics expliquant le mieux la discrimination des groupes dans les ADL visant à identifier les composés caste-spécifiques ou indicateurs de la fertilité. Les pics 17, 22 et 15 (en vert) semblent être révélateurs de la fertilité. Le pic 25 (en jaune) apparaît comme l'unique composé à la fois révélateur de la fertilité et du degré de fertilité chez *C. biroi*. Enfin les pics 19 et 30 (en bleu) ne sont pas impliqués dans la discrimination des individus fertiles et stériles et apparaissent donc comme des composés caste-spécifiques.

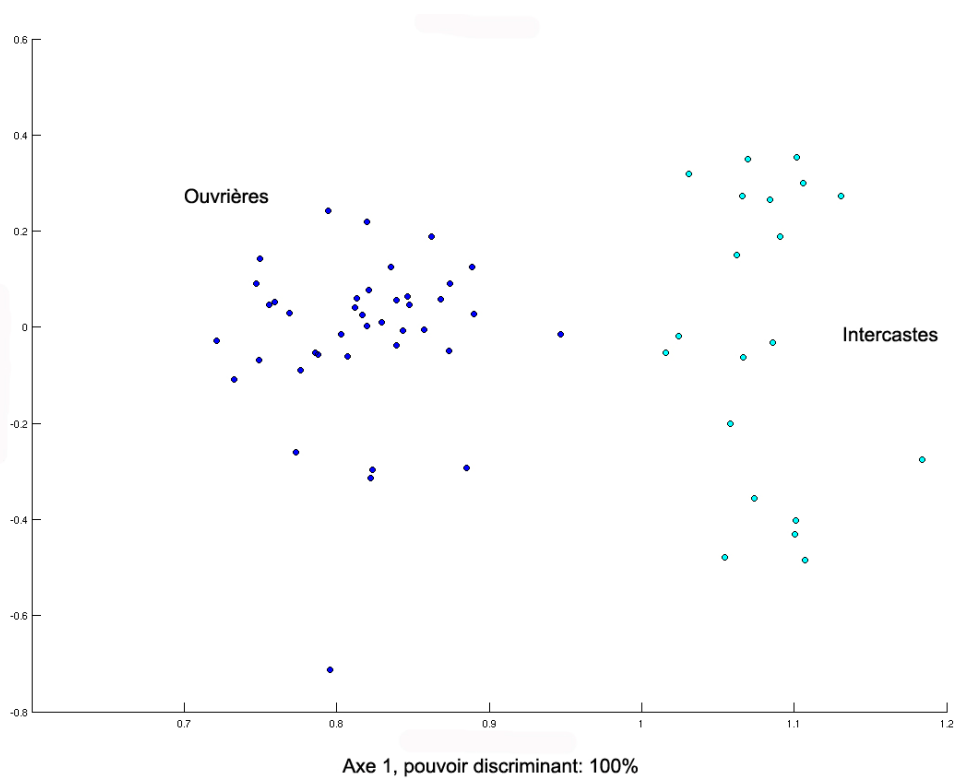


Figure V-6. Analyse discriminante linéaire basée sur les hydrocarbures cuticulaires (pics 14 à 33) et séparant les intercastes des ouvrières (nourrices et fourrageuses).

Chapitre 6

DISCUSSION GENERALE

Les résultats obtenus au cours de cette thèse apportent des informations essentielles quant à la compréhension des mécanismes de différenciation pré-imaginale et imaginale chez la fourmi *Cerapachys biroi*. Plus généralement, ce modèle biologique atypique a enfin permis de valider le concept d'expérience dans la mise en place de la division du travail chez les Hyménoptères sociaux.

1) Différenciation pré-imaginale et sa régulation chez *C. biroi*

Les colonies de *C. biroi* sont essentiellement composées d'ouvrières et d'une faible proportion d'intercastes (Ravary 2003, Ravary & Jaisson 2004). Il a été démontré que la production de ces intercastes est régulée au sein des colonies, levant ainsi le doute sur leur origine erratique. Sur la base d'une révision de la classification des différentes catégories de reines aptères, il a alors été proposé de considérer à l'avenir les intercastes de *C. biroi* comme des reines intermorphiques.

En orientant la différenciation des larves vers un destin ouvrière ou intercaste les sociétés de *C. biroi* sont capables de répondre de façon adaptative aux conditions intra et extra coloniales (fertilité coloniale, ressources alimentaires). Lorsque la société est fertile, les membres de la colonie vont favoriser la production d'ouvrières et ceci quels que soient les apports alimentaires. Dans ce cas, la production d'individus fertiles et prédisposés pour le fourragement semble permettre d'accroître le développement colonial. Par ailleurs, deux situations environnementales extrêmes et diamétralement opposées favorisent la différenciation des larves en intercastes. La première concerne des colonies où des larves bien nourries sont élevées par des ouvrières néonates. Une telle situation équivaut en nature à des colonies dont la fertilité est très importante et dont les apports alimentaires sont abondants durant deux cycles consécutifs. La seconde situation concerne des colonies où des larves sous alimentées sont élevées par de vieilles ouvrières stériles. Ce type de situation représente alors en nature des colonies sur le déclin dont les conditions environnementales n'ont pas permis d'obtenir un renouvellement des générations pendant trois ou quatre mois. Ici la production d'intercastes apparaît comme un moyen de restaurer rapidement la fertilité de la colonie.

Dans ces deux contextes coloniaux, respectivement extrêmement favorable et critique, la production d'intercastes pourrait être une voie préalable à la dispersion coloniale par bourgeonnement.

Le ratio intercastes/ouvrières semble s'autoréguler selon un mécanisme où les individus fertiles inhibent la production d'intercastes tandis que les individus stériles en favorisent la production. L'étude du mécanisme de contrôle développemental des larves suggère alors qu'une phéromone non volatile, probablement transmise lors des soins au couvain, contraindrait les larves à se développer en ouvrières (article 1). Cette hypothèse est d'ailleurs renforcée par des observations de routine et des analyses vidéo des nourrices lors de leurs soins aux larves. Celles-ci ont en effet révélé un comportement stéréotypé, fréquent et quelque peu surprenant sur les larves de derniers stades : les ouvrières saisissent ventralement les larves avec leurs mandibules puis les lèchent longuement sous leur capsule céphalique. C'est précisément sous cette région de la cuticule que sont situés les corps allates, centre de synthèse de l'hormone juvénile (JH). Or, l'hormone juvénile est la principale hormone du développement impliquée dans le polymorphisme chez les insectes et notamment dans le déterminisme reine/ouvrière (Nijhout & Wheeler 1982). Des taux importants de JH permettent l'expression des gènes conduisant à un développement royal tandis que de faibles taux induisent un développement ouvrière. Il est donc tentant de voir dans ce comportement de léchage le mécanisme par lequel les ouvrières appliqueraient directement la phéromone inhibitrice. Cette phéromone agirait directement sur les corps allates en inhibant la synthèse de JH, initiant de ce fait un développement ouvrière chez les larves.

L'implication d'une phéromone inhibitrice de contact pourrait alors rendre compte des résultats observés et ceci à deux niveaux non exclusifs l'un de l'autre. A un niveau physiologique, les individus fertiles pourraient être ceux qui synthétisent le plus cette phéromone. Immatures, les ouvrières néonates (âgées de moins de 15 jours) pourraient ne pas encore la produire, ou bien en quantité très faible. De même, les vieilles ouvrières pourraient n'avoir qu'une production réduite de cette phéromone du fait de leur sénescence physiologique. Par ailleurs une maturation comportementale pourrait également intervenir : dans cette optique, tous les individus, quel que soit leur âge, produiraient la phéromone inhibitrice. Cependant les ouvrières néonates n'exprimeraient pas encore le comportement spécifique de léchage inducteur de l'inhibition tandis que les vieilles ouvrières ne l'exprimeraient pas ou peu du fait de leur propension au fourragement. Au vu des résultats obtenus (*cf.* article 1) il semble vraisemblable que les deux hypothèses interagissent : les ouvrières néonates semblent exclusivement impliquées dans les toilettes larvaires mais elles pourraient ne pas encore produire la phéromone inhibitrice. Les vieilles ouvrières, quant à elles, synthétiseraient encore la phéromone dans des proportions équivalentes aux nourrices

mais n'exprimeraient des comportements de léchage qu'avec parcimonie, d'autant plus que l'activité de fourragement, induite par les larves affamées, est importante.

Ceci étant, l'implication d'une phéromone de contact transmise par léchage lors des toilettes des larves n'est pas le seul mécanisme possible. Un autre comportement caractéristique et observé chez d'autres *Cerapachys* (Benoît Jahyny, communication personnelle) pourrait intervenir dans le contrôle actif de la différenciation des larves. En effet, outre le léchage ventral sous la capsule céphalique, les nourrices de *C. biroi* réalisent aussi fréquemment des "massages" sur les larves de derniers stades. Pour effectuer ces massages, les ouvrières saisissent ventralement les larves puis leur parcourent le corps avec les mandibules en effectuant de fortes pressions assimilables à des morsures. Même si aucune saignée n'a pu être observée lors de ces massages pas plus qu'aucune cicatrice sur les larves, un tel comportement s'apparente aux morsures qui permettent aux ouvrières de *Myrmica rubra* de contraindre les larves à se différencier en ouvrières (Brian 1973).

Par conséquent, un moyen d'identifier le mécanisme impliqué dans le contrôle du déterminisme des larves consisterait à réaliser des analyses vidéo des toilettes larvaires effectuées par les ouvrières néonates, les nourrices et les fourrageuses. Ceci afin d'observer si les différents types d'individus diffèrent par leur fréquence de léchage et de massage. Si ce n'est pas le cas, l'hypothèse d'une phéromone inhibitrice serait à privilégier. Il serait alors intéressant d'analyser les composés contenus dans les glandes mandibulaires, des variations pour certains composés étant alors attendues en fonction du type d'individus. L'application topique du ou des composés candidats sous la capsule céphalique de larves bien nourries et élevées par des ouvrières néonates pourrait ensuite permettre de valider ou non cette hypothèse.

2) Différenciation imaginaire chez *C. biroi*

Grâce à ses caractéristiques particulières (parthénogenèse thélytoque, reproduction cyclique), la fourmi *C. biroi* a permis, pour la première fois, de démontrer comment l'expérience individuelle pouvait, à elle seule, générer une division du travail efficace et durable chez des insectes sociaux en modifiant la trajectoire ontogénétique des individus (article 2). Cette étude fondamentale valide ainsi un concept soupçonné depuis plus de vingt ans et modélisé à plusieurs reprises (Deneubourg et al. 1987, Plowright & Plowright 1988, Theraulaz et al. 1998, Beshers & Fewell 2001).

En se plaçant dans le cadre interprétatif dressé par certains modèles théoriques visant à expliquer la mise en place de la division du travail chez les insectes sociaux (voir l'introduction générale), les résultats obtenus prennent un intérêt tout particulier et permettent des avancées significatives.

Tout d'abord, cette étude sur *C. biroi* remettrait directement en cause le modèle de seuil de réponse fixe ("*Fixed Response Threshold Mode*") qui stipule que chaque ouvrière possède un seuil interne fixe de réponse pour chaque tâche du répertoire colonial (Robinson 1992; Bonabeau et al. 1996, 1998, Beshers et al. 1999). Ce modèle prévoit que l'âge, la génétique, la taille de la colonie et la physiologie des individus sont autant de variables susceptibles de créer des variations interindividuelles dans les seuils de réponse, permettant ainsi de générer une division du travail (Robinson 1992, Beshers & Fewell 2001, Jeanson et al. 2007). Toutefois, même si les ouvrières de *C. biroi* ne s'avéraient pas génétiquement identiques, les résultats obtenus démontrent clairement que les seuils de réponse des ouvrières ne sont pas fixes et que l'expérience peut les moduler au cours du temps. Ceci a d'ailleurs déjà été souligné par une étude du comportement de ventilation des ouvrières en réponse à des augmentations de concentration de CO₂ et de température chez le bourdon *Bombus terrestris* (Weidenmüller 2004). Enfin, plus récemment, Jeanson et al. (2008) ont également montré que le contexte social peut moduler les seuils de réponse à l'excavation des abeilles solitaires *Lasioglossum*.

Parallèlement, ce travail réalisé chez *C. biroi* (article 2) viendrait valider le modèle de renforcement de seuil de réponse ("*Response Threshold Reinforcement*" ; Deneubourg et al. 1987, Plowright & Plowright 1988, Theraulaz et al. 1998). En effet, les résultats obtenus sont en accord avec les prédictions théoriques de ce modèle selon lequel les seuils de réponse

évoluent, en particulier sous l'effet de l'expérience. Ainsi, le succès d'une ouvrière dans la réalisation d'une tâche entraîne un abaissement de son seuil de réponse pour cette tâche alors qu'un échec ou l'absence d'opportunité à réaliser cette tâche induit une élévation de son seuil de réponse. Par conséquent, même en l'absence initiale de variations interindividuelles dans les seuils de réponse (comme supposée chez *C. biroi*), ce modèle permet de prédire l'émergence d'une division du travail d'une part et la spécialisation d'un groupe d'ouvrières pour une tâche d'autre part.

Au travers de simples processus de renforcement, l'expérience individuelle se présenterait donc comme un élément clé du succès de l'organisation du travail chez les insectes sociaux. En effet, outre la flexibilité potentielle qu'elle procure au système colonial, l'expérience devient une source d'efficacité dans la réalisation des tâches chez les insectes sociaux (Johnson 1991, Sendova-Franks & Franks 1995, Langridge et al. 2004, 2008, Weidenmüller 2004).

Malgré les nombreux avantages qu'offre l'expérience à une société d'insectes, il reste que les autres facteurs impliqués dans la division du travail gardent toute leur importance. Il est ainsi évident qu'en conditions naturelles l'expérience individuelle se retrouve combinée à d'autres mécanismes dont la synergie peut seule rendre compte du succès écologique remporté par les insectes sociaux. Outre le polyéthisme d'âge qui est prédominant (Hölldobler & Wilson 1990), les variations génétiques entre membres de sociétés polyandres et/ou polygynes sont aussi à la source de la répartition des tâches (Robinson & Page 1988, 1989, Fewell & Page 1993, 2000, Oldroyd et al. 1994, Page et al. 1995, Robinson & Page 1995, O'Donnell 1998a, Kryger et al. 2000, Jones et al. 2004, 2007, Chapman et al. 2007, Hughes & Boomsma 2007, Jaffe et al. 2007, Smith et al. 2008, voir aussi introduction générale). D'ailleurs de nombreuses études abondent à présent en faveur de l'influence des variations génétiques dans l'efficacité de la division du travail et donc dans la résilience, l'homéostasie et le succès reproducteur de la colonie (Fuchs and Schade 1994, Myerscough & Oldroyd 2004, Wiernasz et al. 2004, 2008, Jones et al. 2004, 2007, Graham et al. 2006, Mattila & Seeley 2007, Mattila et al. 2008, Oldroyd & Fewell 2007, Gove et al. 2009).

Face à cette abondance de travaux sur les avantages supposés de la variabilité génétique au sein des sociétés polyandres et polygynes, l'efficacité dans la division du travail de sociétés clonales, telles que les colonies de *C. Biroi*, semble donc questionnable. En effet, il est assez intuitif de penser que si une colonie monoandre présente une division du travail

menant à un succès reproducteur plus faible qu'une société polyandre, une colonie composée d'individus génétiquement identiques doit obtenir, dans les mêmes conditions, des performances encore moindres. Cependant, les études théoriques démontrant clairement un effet positif de la variabilité génétique sur le succès reproducteur coloniale ne se sont basées que sur des modèles envisageant des seuils de réponses fixes et différents entre patrilignées (Myerscough & Oldroyd 2004, Graham et al. 2006, Gove et al. 2009). Il semble dès lors difficile de valider des modèles qui ne considèrent pas que les seuils de réponses puissent être modulés avec l'âge, l'expérience, l'environnement social ou encore que la réalisation d'une tâche par des ouvrières n'abaisse pas le niveau de stimulation pour cette tâche.

A l'inverse, une étude théorique plus réaliste viendrait abonder en faveur des sociétés clonales (Waibel et al. 2006). Cette étude démontre que, dans un système où la propension des individus à s'engager dans la réalisation d'une tâche dépend de leur génotype mais aussi du phénotype comportemental des autres membres de la société, l'efficacité dans la division du travail se traduit par une productivité coloniale quasi optimale lorsque l'apparement est compris entre 0,25 et 1. Ce modèle, qui considère par ailleurs que la stimulation pour une tâche diminue d'autant plus que des individus sont engagés dans sa réalisation, incorpore aussi des taux de perturbations coloniales (suppression d'une cohorte d'individus impliqués dans une tâche). Ici encore, quel que soit le niveau de perturbation envisagé, ce modèle permet d'obtenir une productivité coloniale maximale pour des apparements compris entre 0,25 et 1, ce qui inclut la quasi-totalité des sociétés d'insectes.

Bien que ce modèle nécessiterait d'être amélioré, notamment via une modulation des seuils de réponses individuels en fonction de l'âge et sous l'effet des processus de renforcement, il s'apparente toutefois à un des modèles les plus applicables aux conditions naturelles et prévoit donc que la variabilité génétique au sein d'une colonie influe peu sur les performances coloniales.

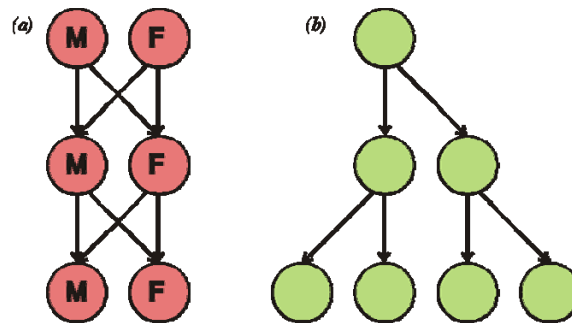
En outre, à ce jour, une seule étude expérimentale a montré de façon non équivoque le rôle de la diversité génétique dans la productivité et le succès reproducteur colonial (Mattila & Seeley 2007). Ce travail a été réalisé chez l'abeille domestique, un des seuls genres d'Hyménoptères sociaux à présenter un nombre extrême d'accouplements (plus de 10 par reine en moyenne, Strassmann 2001). Bien que communs chez les insectes, les accouplements multiples sont peu fréquents chez les insectes sociaux et dépassent rarement plus de deux accouplements en moyenne (Strassmann 2001). Il se pourrait donc que l'influence de la variabilité génétique dans l'efficacité de la division du travail chez l'abeille domestique ne soit qu'une exception ; auquel cas elle serait la résultante d'une réduction de la plasticité

phénotypique des ouvrières suite à une sélection naturelle (et domestique ?) de patrilignées hautement spécialisées pour certaines tâches. Une telle interprétation pourrait expliquer pourquoi les études abondent dans le sens d'une influence de la diversité génétique sur l'efficacité coloniale n'ont concerné qu'*Apis mellifera* et les fourmis moissonneuses *Pogonomyrmex occidentalis* qui présentent, elles aussi, un taux d'accouplement élevé (en moyenne 6 ; Wiernasz et al. 2004). Au final, il semblerait donc que les variations génétiques interindividuelles au sein de la plupart des sociétés d'insectes polyandres et/ou polygynes ne soient pas à l'origine d'une efficacité accrue dans la division du travail (Fjerdingstad et al. 2003, Rosset et al. 2005, Fournier et al. 2008), et ceci malgré les prédispositions génétiques de certaines lignées à réaliser certaines tâches.

3) L'énigme évolutive du sexe ?

Tout cet engouement actuel pour l'étude de la variabilité génétique dans la division du travail se place indéniablement dans un cadre évolutif visant à expliquer l'évolution de la polyandrie (Palmer & Oldroyd 2000, Oldroyd & Fewell 2007) et, plus largement, l'évolution et le maintien de la reproduction sexuée.

En effet, il paraît difficile au premier abord d'expliquer le franc succès de la reproduction sexuée par rapport à la reproduction asexuée. Ainsi, l'accouplement représente généralement en lui-même un effort coûteux et risqué puisqu'un individu, pour se reproduire, doit trouver un partenaire, l'attirer et faire face aux risques de prédation tout au long de cet événement. Plus important encore, chez les espèces diploïdes, une femelle sexuée ne transmet que 50% de ces gènes à la génération suivante alors qu'une femelle se reproduisant par parthénogenèse perpétue l'intégralité de son génome. De plus, si l'on considère que chaque individu contribue à la production d'un même nombre de descendants (par exemple 2, voir schéma ci-dessous), une population sexuée (a) maintient un même nombre d'individus à chaque génération alors qu'une population asexuée (b) double à chaque génération. Il s'agit là du célèbre "two fold cost of sex" qui représente une faiblesse majeure de la reproduction sexuée (Maynard Smith 1971, 1978).



La reproduction sexuée présente aussi l'inconvénient de briser les combinaisons génétiques parentales qui se sont avérées favorables et de produire par brassage chromosomique un nouvel individu qui risque d'être moins adapté à son environnement que ne l'étaient ses parents. L'analogie de la partie de poker est alors éloquent. Imaginez-vous entrer dans un tournoi de poker une fois que la première partie a été jouée et donner l'opportunité au vainqueur d'une table de pouvoir garder sa main (par exemple 3♣, 4♣, 5♣, 6♣, 7♣) ou de la mélanger avec le vainqueur d'une autre table (Q♣, Q♠, Q♦, 2♥, 8♠) pour la partie suivante. N'importe quel joueur garderait sa main afin de préserver ses chances de "survivre" à la partie suivante puisqu'un mélange de deux mains gagnantes risquerait grandement de lui fournir une main perdante (3♣, 4♣, Q♦, 2♥, 8♠) (Otto 2009).

Par ailleurs, il est clairement admis que la reproduction sexuée n'augmente pas nécessairement la variabilité génétique et que, même quand elle le fait, les variations générées n'améliorent pas nécessairement le succès reproducteur (Otto & Lenormand 2002, Otto 2009). Au contraire, alors que la reproduction asexuée présente l'avantage de faciliter la transmission des mutations bénéfiques à la descendance, la reproduction sexuée génère presque toujours une descendance dont la fitness est inférieure à une descendance produite par reproduction asexuée ("segregation load" ou "recombination load").

Au vu des nombreux coûts associés à l'amphimixie, il est alors apparu indispensable de rechercher des bénéfices pouvant expliquer le paradoxe de la prépondérance de la reproduction sexuée chez les insectes sociaux, mais aussi plus largement au sein des règnes animal et végétal. Plusieurs théories, non exclusives les unes des autres, ont alors été avancées pour tenter d'expliquer les avantages de la reproduction biparentale (Kondrashov 1993, Barton & Charlesworth 1998, West et al. 1999, de Visser & Elena 2007, Otto 2009). Aucune ne semble cependant établir de consensus, notamment à cause de présupposés trop restrictifs

et peu généralisables (Peck et al. 1999). Toutefois, parmi ces théories, deux sont généralement favorisées pour rendre compte de la reproduction biparentale et des recombinaisons génétiques qu'elle induit.

La première, dite théorie de la Reine Rouge (Bell 1982), se base sur l'idée que la reproduction sexuée offre comparativement à la reproduction asexuée un avantage dans une course à l'armement contre les parasites. Selon ce modèle les populations hôtes doivent procéder à des ajustements évolutifs constants pour faire face aux pressions parasitaires, leur permettant de développer une descendance féconde et résistante (Van Valen 1973, Hamilton et al. 1990). En effet, les parasites sont le plus souvent caractérisés par des populations de grande taille et des temps de génération relativement courts par rapport à ceux de leurs hôtes, ce qui leur confère une grande vitesse d'évolution. Ils peuvent donc rapidement élaborer une réponse génétique aux stratégies de défenses immunitaires de leurs hôtes, ce qui contraint ces derniers à remanier continuellement les combinaisons d'allèles impliquées dans leur immunité (Hamilton et al. 1990). La reproduction sexuée permet alors cette évolution rapide et constante car elle brise à chaque génération les associations alléliques existantes et favorise la création de génotypes rares augmentant la probabilité pour la descendance d'acquérir un phénotype résistant aux parasites.

Chez les insectes sociaux, outre la monoandrie qui est prépondérante, la polyandrie pourrait faciliter chez certaines patrilignées d'ouvrières la résistance à certains pathogènes (Sherman et al. 1988) ou augmenter la probabilité d'obtenir des ouvrières dont les comportements facilitent l'élimination des parasites (Arathi & Spivak 2001). La reproduction sexuée et les accouplements multiples apparaissent donc comme des stratégies de reproduction efficaces pour échapper à la pression parasitaire (Palmer & Oldroyd 2003, Baer & Schmid-Hempel 1999).

La seconde théorie majeure tendant à expliquer l'évolution de la sexualité stipule que la reproduction biparentale facilite l'élimination des mutations délétères (Barton & Charlesworth 1998, West et al. 1999). Cette théorie de la réduction du fardeau mutationnel envisage que les populations bisexuées éliminent les mutations délétères accumulées au cours des générations en les combinant dans la descendance. Ainsi les individus qui héritent d'un nombre important de mutations délétères seront tout naturellement éliminés par la sélection, et ceci d'autant plus que l'épistasie synergique des mutations est importante (Kondrashov 1982, Hurst & Peck 1996, de Visser & Elena 2007). Ce mécanisme permettrait aux populations bisexuées de se soulager d'un fardeau mutationnel puisque la sélection favorise la survie des

individus ne disposant pas ou peu de mutations délétères. Au contraire, le manque de recombinaison généralement induit par la reproduction asexuée provoque un phénomène connu sous le terme de "Müller's Ratchet" (1964) : à chaque génération, de plus en plus de mutations délétères sont accumulées dans le génome qui ne peut les éliminer. Ainsi même si la sélection peut favoriser les individus disposant du moins d'allèles délétères, à terme, tous les individus asexués intégreront trop de mutations pour être vraiment compétitifs face aux populations sexuées (Gabriel et al. 1993). C'est pour cette raison que la reproduction sexuée est bien souvent considérée comme indispensable pour qu'une espèce perdure au fil des générations.

4) Les *Cerapachys biroi* incarnent-elles un cul-de-sac évolutif ?

La mise en avant de ces différents modèles visant à expliquer l'évolution de la reproduction sexuée ainsi que la large dominance de celle-ci au sein des règnes animal et végétal amènent souvent à considérer les espèces asexuées, et donc parthénogénétiques, comme des culs-de-sac évolutifs, confinés à une niche écologique spécifique et non viables à long terme (Maynard Smith 1978, Kondrashov 1993). Et ceci parce que les organismes parthénogénétiques manqueraient vraisemblablement de capacités à générer rapidement une diversité génétique afin de pallier aux conditions biotiques et abiotiques fluctuantes (Itow et al. 1984).

Un point de vue aussi largement accepté apparaît toutefois surprenant. En effet, l'énigme évolutive du sexe demeure encore d'actualité (de Visser & Elena 2007, Otto 2009, voir aussi le supplément spécial de *The American Naturalist*, vol.174, juillet 2009) et force est de constater que l'avantage de la reproduction sexuée sur la reproduction asexuée reste toujours en débat (Otto & Lenormand 2002, Victoir & Dujardin, 2002, Lushai et al. 2003, Castagnone-Sereno 2006, Hillis 2007, Fontaneto et al. 2007, Otto 2009).

Afin de mieux appréhender l'évolution des deux types de reproduction, il apparaît dès lors préférable de considérer que plusieurs mécanismes peuvent agir de concert et qu'il est essentiel de confronter les différents modèles aux traits d'histoire de vie de chaque espèce (West et al. 1999).

C'est précisément la démarche qui va être abordée à présent pour tenter de comprendre comment l'évolution a pu favoriser chez *C. biroi* l'apparition de la parthénogenèse thélytoque puis la disparition de la reproduction sexuée.

Tout d'abord il semble très probable que les colonies de *C. biroi* étaient originellement des colonies monogynes et monoandres (Ravary 2003, p166-167) avec une reine qui contrôlait la production des sexuées via une phéromone inhibitrice et des ouvrières uniquement capables de produire des mâles par parthénogenèse arrhénotoque. La suite de l'hypothétique scénario évolutif de cette espèce a donc vraisemblablement consisté en l'apparition d'intercastes qui auraient évolué à partir d'un développement royal incomplet via une modification du seuil de différenciation par accommodation génétique (West-Eberhard 2003, voir aussi article 2). Il est fort probable que ces intercastes aient été à la base pourvues d'une spermathèque leur permettant de s'accoupler, puis de quitter le nid en compagnie d'ouvrières pour fonder une nouvelle colonie par bourgeonnement. En outre elles devaient disposer, tout comme les reines, de la phéromone inhibant le développement royal chez les larves. Parmi ces intercastes des mutations ont alors favorisé l'apparition de la parthénogenèse thélytoque, l'haplodiploïdie étant un mode de reproduction favorable à l'évolution de la thélytoquie (Engelstädter 2008).

Ces intercastes, capables d'avoir recours à la fois à la reproduction sexuée et asexuée, auraient ensuite transmis, par thélytoquie, la capacité de produire une descendance femelle à leurs ouvrières.

Quelles caractéristiques propres à *C. biroi* ont pu favoriser l'élimination de la spermathèque chez les intercastes, permettant d'aboutir à la structure reproductrice asexuée actuelle où intercastes et ouvrières se reproduisent obligatoirement par thélytoquie ?

Il s'avère que les deux pressions de sélection avancées pour rendre compte de l'amphimixie ont pu ne pas être des forces majeures dans le maintien de ce mode de reproduction chez *C. biroi* face aux bénéfices retirés de la thélytoquie.

Tout d'abord, bien qu'évoluant en milieu subtropical où les pressions parasitaires sont plus fortes qu'en milieu tempéré, les *C. biroi* présentent un régime alimentaire spécialisé dans le couvain de myrmicines. Les *C. biroi* se nourrissent donc de proies élevées dans un milieu confiné et protégé (le cœur du nid d'autres espèces de fourmis), vraisemblablement moins soumis aux pressions parasitaires. Ainsi, comparativement à une espèce de fourmis omnivores susceptibles de se nourrir d'aliments en décomposition et infectés, les *C. biroi* se trouveraient, de par leur régime alimentaire spécifique, potentiellement protégées des infections parasitaires

liées à l'alimentation. De plus, les *C. biroi* sembleraient bénéficier indirectement de la Reine rouge car, en se nourrissant de couvain de divers myrmécines, celles-ci limitent l'évolution d'un parasite qui pour les infecter doit être adapté à la fois aux *C. biroi* et avant tout aux myrmécines dont elles se nourrissent.

Par ailleurs, contrairement à la plupart des colonies de fourmis qui demeurent toute leur vie dans le même nid, les *C. biroi* ont un mode de vie nomade. Là encore un tel type de comportement pourrait permettre au *C. biroi* de limiter les risques d'infection.

Il est aussi possible qu'une espèce où tous les individus se reproduisent soit plus à même d'endiguer la transmission des infections à la descendance que des espèces monogynes ou polygynes chez lesquelles l'infection de la (ou des) reproductrice(s) peut affecter la survie de la colonie.

Enfin, outre les recombinaisons intra-chromosomiques obtenues par crossing-over, la diversité de la descendance maternelle est aussi augmentée par la ségrégation indépendante des chromosomes. Or les insectes sociaux comptent un nombre de chromosomes plus élevés que les espèces solitaires apparentées, favorisant ainsi la diversité génétique grâce à la ségrégation chromosomique (Sherman 1979). Comme le phénomène d'épistasie semble agir plutôt entre chromosomes qu'au sein même d'un chromosome, la ségrégation chromosomique et le nombre de chromosomes, plutôt que les recombinaisons par crossing-over, devraient être des éléments adaptatifs majeurs dans la résistance aux parasites (Wilfert & Schmid-Hempel 2008). Il serait donc intéressant d'analyser le caryotype et la ségrégation chromosomique de *C. biroi* afin d'envisager si ces facteurs pourraient être susceptibles de maintenir une diversité génétique facilitant la résistance aux infections.

Concernant la théorie de la réduction du fardeau mutationnel, les *C. biroi* sembleraient, là encore, présenter une caractéristique avantageuse leur permettant d'éviter l'accumulation de mutations délétères. En effet, un des traits caractéristiques des Hyménoptères sociaux est le taux exceptionnellement élevé de recombinaisons génétiques (Hunt & Page 1995, Beye 2006, Oldroyd & Fewell 2007, Wilfert et al. 2007). On suppose qu'un tel phénomène a évolué pour favoriser la diversité génétique au sein de la descendance ouvrière mais aussi pour limiter les effets négatifs du parasitisme (Fischer & Schmid-Hempel 2005). Par ailleurs, même s'il est considéré souvent de façon abusive que les espèces se reproduisant par parthénogenèse thélytoque tendent à devenir homozygotes au fur et à mesure des générations, la parthénogenèse thélytoque offre différents mécanismes cytologiques (apomictique, automictique 1) par duplication des gamètes, 2) par fusion terminale, 3) par

fusion centrale 4) par fusion aléatoire) dont les conséquences sur la variabilité génétique de la descendance varient de façon importante (Ravary 2003, Pearcy et al. 2006). En particulier, l'automixie par fusion centrale est la seule parthénogenèse automictique qui permet de préserver l'hétérozygotie en l'absence de recombinaison. En présence de recombinaison, celle-ci offre à chaque locus hétérozygote une probabilité comprise entre 0 (s'il est situé près du centromère) et 1/3 (s'il est situé loin du centromère) de devenir homozygote (Percy et al. 2006). Une modèle développé par Haccou & Schneider (2004) démontre ainsi que, chez les espèces haplodiploïdes comme les Hyménoptères sociaux, l'automixie par fusion centrale est extrêmement avantageuse puisqu'elle permettrait de réduire considérablement le poids des mutations délétères.

Ce mécanisme cytogénétique est précisément celui utilisé par *Apis mellifera capensis* (Verma & Ruttner 1983), *Cataglyphis cursor* (Percy et al. 2006) et qu'il est fortement soupçonné chez *Platythyrea punctata* (Schilder 1999). Il est donc fort probable que l'automixie par fusion centrale soit également impliquée dans la restauration de la diploïdie chez *C. biroi* (voir Ravary 2003, p164-166).

De plus, si, comme il l'a récemment été démontré chez les reines non fécondées d'*A. m. capensis* (Oldroyd et al. 2008), les fourmis de *C. biroi* présentent un fort taux de recombinaison au cours de l'automixie par fusion centrale, on peut présager que cette espèce soit faiblement soumise aux effets néfastes de l'accumulation de mutations délétères.

En résumé, une fois dotées de la parthénogenèse thélytoque, les *C. biroi* pourraient avoir bénéficié d'un mode de vie (nomadisme et mœurs alimentaires myrmécophages) et/ou de reproduction (probable automixie avec fusion centrale additionnée d'une ségrégation chromosomique et d'un taux élevé de recombinaisons) particuliers qui n'auraient pas ou peu confronté cette espèce aux pressions de sélection favorisant le maintien de la reproduction sexuée.

En combinant ces pensées spéculatives aux mécanismes de différenciation pré-imaginale et imaginale révélés au cours de cette thèse, il y a fort à parier que les fourmis *C. biroi* disposent de toutes les cartes nécessaires pour continuer dans cette grande partie de poker qu'est l'Evolution !!!

Chapitre 7

LE SUPER-ORGANISME

1) Introduction

1.1) La colonie en tant qu'organisme

La socialité apparaît comme l'une des résultantes évolutives de la complexification de la vie depuis son origine. Des cellules procaryotes sans membrane nucléaire (archéobactéries et eubactéries), on est ainsi passé aux eucaryotes unicellulaires (protozoaires), règne au niveau duquel les amibes acrasiales (*Dictyostelium discoideum*) apparaissent aujourd'hui comme le niveau d'organisation précédant l'organisme pluricellulaire (métazoaire) (Aron & Passera 2000, Passera & Aron 2005).

En effet, dans un milieu riche en nourriture (bactéries), ces cellules mènent une vie rampante et solitaire. Mais lorsque le milieu s'appauvrit, les amibes sont incapables de se déplacer afin de chercher des conditions plus favorables. Elles font alors appel à une forme sociale qui leur permet de résoudre ce problème. Les amibes se rassemblent en un grex (ou limace amibiale) puis constituent un pied surmonté d'une capsule sporifère (Bonner 1967, 1982). Initialement individuelles et semblables, les amibes acrasiales deviennent donc sociales et polymorphes à l'image des cellules d'un organisme pluricellulaire : les unes constituent un support sans avenir reproducteur tandis que les autres se transforment en un kyste dont les spores transportés par le vent ou les insectes pourront germer en atteignant un milieu plus favorable. Ce type d'organisation rassemblant des milliers de protozoaires semblent donc être le stade d'organisation ayant précédé l'apparition des métazoaires, organismes fonctionnels composés de millions de cellules eucaryotes différenciées.

Si une limace amibiale peut être envisagée comme une sorte d'organisme à part entière, il en est tout autant pour une société d'insectes dont la coordination et l'unité apparente de centaines (voir de millions) d'individus évoquent un organisme métazoaire. Nombre de dessins animés n'ont-ils déjà pas mis en scène des personnages poursuivis par un essaim d'abeilles dont l'allure n'évoque pas une nuée d'individus mais plutôt une créature informe et menaçante ?

Outre l'aspect organismique visuel d'un essaim d'abeilles ou d'un raid de fourmis légionnaires, multiples sont les similitudes entre un organisme et une colonie d'insectes. Par exemple, l'organisation des organismes pluricellulaires est caractérisée par la coopération de milliers de cellules somatiques qui permettent la réalisation d'une multitude de fonctions cruciales à la survie de l'organisme. Deux grands principes d'organisation peuvent alors être

observés chez un organisme : la coordination des fonctions entre différents types cellulaires et la spécialisation de groupes cellulaires dans différentes fonctions via une différenciation tissulaire. Il existe de remarquables similarités dans les principes d'organisation au sein d'une colonie d'insectes. Ainsi la coordination entre cellules somatiques et entre ouvrières obéit à des patterns généraux similaires tels que l'auto-organisation, des règles de décisions locales dénuées de commande centrale, des rétrocontrôles et des interactions non-linéaires (Moritz & Fuchs 1998, Detrain & Deneubourg 2006). De plus, à l'image d'une cellule somatique isolée de son organisme, une ouvrière seule présente une efficacité quasi nulle. Ce n'est que l'accumulation de tâches individuelles et la coordination de tâches collectives qui vont permettre à des individus de faire émerger une dynamique coloniale fonctionnelle et auto-organisée (Detrain & Deneubourg 2006).

Par ailleurs, de la même façon que les cellules d'un organisme pluricellulaire vont se différencier pour permettre la mise en place d'unités, de tissus et d'organes spécialisés, les membres d'une colonie d'insectes vont faire l'objet d'une spécialisation morphologique et/ou comportementale permettant une répartition efficace des tâches coloniales (Hölldobler & Wilson 1990). On notera cependant que, contrairement aux cellules d'un organisme, la différenciation et la spécialisation des ouvrières est généralement réalisée aux travers de castes temporaires et de variations génétiques interindividuelles.

Cette analogie entre une colonie d'insectes et un organisme a clairement été envisagée pour la première fois en 1911 par Wheeler qui qualifia par la suite (1926) ces sociétés d'insectes de **super-organismes**, un néologisme repris ultérieurement par Emerson (1939,1949). Wheeler (1911, 1926) voyait dans un organisme 3 fonctions vitales qui se retrouvent indéniablement dans une colonie d'insectes : la reproduction, la nutrition et la protection.

Concernant la reproduction, les individus reproducteurs d'une colonie d'insectes, reines et mâles, peuvent être assimilés aux cellules germinales d'un métazoaire alors que les ouvrières (le plus souvent stériles) seront aisément comparées aux cellules somatiques. Bien que ne se reproduisant pas, cellules somatiques et ouvrières assurent cependant la propagation de copies de leurs gènes dans les générations futures en aidant les unités reproductrices (spermatozoïdes/mâles, ovules/reines). Les cellules somatiques d'un métazoaire assurent donc le bon fonctionnement de l'organisme et par conséquent la dissémination des gamètes, tout comme les ouvrières soignent et nourrissent leur reine qui produira les futures reines et les futurs mâles.

La protection de l'organisme ou de la colonie constitue, elle aussi, une analogie de choix. Chez les vertébrés, le complexe majeur d'histocompatibilité (système HLA) permet à chaque organisme de détecter le soi du non-soi. De manière similaire, le visa colonial (cocktail d'hydrocarbures) présent à la surface de la cuticule des fourmis peut se comparer à la molécule antigénique du système HLA (Jaisson, 1993). Ainsi, tout comme un corps étranger (virus) sera la cible des cellules immunitaires d'un organisme, tout intrus présent au sein d'un nid de fourmis sera détecté, agressé, puis tué ou rejeté par les ouvrières de la colonie. Les cellules spécialisées dans la défense de l'organisme sont les lymphocytes (T et B) et se différencient très tôt dans le thymus (T pour Thymus) et la moelle osseuse (B pour Bone). De même, chez environ 15% des espèces de fourmis, on rencontre des ouvrières spécialisées dans la défense de la colonie. Ces *majors* ou soldates rencontrées notamment chez les fourmis nomades, champignonnistes ou *Pheidole* se différencient elles aussi très tôt au cours de leur développement puisque ce sont les conditions environnementales au stade larvaire qui vont déterminer la morphologie adulte de ces individus plus grands et dotés d'impressionnantes mandibules (Oster & Wilson 1978, Hölldobler & Wilson 1990, Wheeler 1991).

On note également le "suicide" des soldates chez *Camponotus (Colobopsis) saundersi* qui se font exploser pour défendre leur société. Jaisson (1993) fait remarquer que ces individus sont assimilables aux neutrophiles des métazoaires qui meurent en lysant la cellule étrangère ou infectée qu'ils viennent de phagocyter.

Ce type de sacrifice est d'ailleurs particulièrement connu chez les abeilles qui meurent après avoir laissé leur aiguillon dans le corps de l'intrus qu'elles ont piqué (Winston 1987). Il arrive en effet parfois que des Hyménoptères s'infiltrer au sein des ruches pour y tuer des abeilles (cas du frelon asiatique) ou pour y voler du miel (guêpes et abeilles étrangères à la colonie). Tout comme les cytokines secrétées par les lymphocytes T ayant été en contact avec un antigène permettent le recrutement d'autres lymphocytes et macrophages (Adam & Seehuus 2006), les gardiennes, lorsqu'elles ne sont pas capables de maîtriser l'intrus, déposent sur leur cible une phéromone d'alarme pour attirer d'autres congénères (Pettis et al. 1998). Un "manteau" d'ouvrières enveloppe alors la victime qui sera piquée à mort ou mordue jusqu'à devenir inoffensive. Parfois le manteau d'abeilles devient si conséquent qu'il prend la forme d'une véritable boule d'abeilles. Dans ce cas, les abeilles ne piquent pas la victime mais augmentent collectivement la température de leur thorax provoquant ainsi la mort de l'intrus par un stress thermique pouvant atteindre 46,5°C (Ken et al. 2005, Stabentheiner et al. 2007). Ce mécanisme d'hyperthermie et celui par lequel les abeilles augmentent la température des

cellules de couvain afin d'éliminer le pathogène *Ascosphaera apis* (Starks et al. 2000) sont comparables à la fièvre qui, chez un organisme, facilite la résorption d'une infection virale. De façon comparable, des adaptations comportementales telles que les toilettes mutuelles (Rosengaus et al. 1998) ou le comportement d'alarme (Rosengaus et al. 1999) ont évolué chez les termites *Zootermopsis angusticollis* pour limiter les infections causées par les spores du champignon *Metarhizium anisopliae*. Il a été montré que ces termites augmentent de façon significative leur capacité à résister à l'infection après avoir été en contact avec des congénères préalablement immunisés, démontrant ainsi un "transfert social" de résistance à l'infection (Traniello et al. 2002).

Un autre type de comportement préventif a évolué chez les fourmis champignonnistes *Atta colombica* afin de se prémunir d'un dangereux parasite de leur champignon. Chez ces fourmis, les déchets du jardin à champignon sont retirés de la colonie et transportés vers la déchetterie (un tas de fumier externe), zone au niveau de laquelle ils sont alors pris en charge par des ouvrières "éboueuses" qui ne rentrent jamais au nid, évitant ainsi toute contamination. Il a été observé que les colonies infectées par le parasite *Escovopsis* présentaient un nombre d'éboueuses plus important que les colonies non infectées et que celles-ci dispersaient efficacement les déchets infectés hors de la déchetterie (Hart et al. 2002). En cas d'infection, ce super-organisme semble modifier sa stratégie d'allocation des tâches en allouant davantage d'individus au niveau de la déchetterie afin d'en écarter les pathogènes.

Enfin, Stow et al. (2007) ont démontré que l'efficacité des composés antimicrobiens produits par les abeilles est plus importante chez les espèces sociales que chez les espèces primitives semi-sociales. Les espèces solitaires présentant les sécrétions antimicrobiennes les moins puissantes.

Comme dans le cas des observations réalisées chez les abeilles, les termites et les fourmis vont donc dans le sens d'une protection accrue vis-à-vis des pathogènes au sein de super-organismes où la vie en société et la structure génétique favorisent la transmission de maladies.

Une des clés de la survie et de la croissance de chaque organisme réside dans des apports alimentaires équilibrés et en quantité suffisante afin d'assurer le maintien de ses fonctions vitales. Récemment, Dussutour & Simpson (2009) ont démontré que, tout comme un organisme, les colonies de fourmis *Rhytidoponera sp.* pouvaient réguler simultanément la consommation de différentes substances nutritives (carbohydrates et protéines) afin d'optimiser leur développement. La quantité de substances nutritives consommée et le ratio de

consommation de ces substances étant ajustés en fonction de la composition de la colonie (absence ou présence de larves).

D'autre part, la nourriture assimilée par les cellules intestinales est diffusée dans tout l'organisme via le système circulatoire. Cette diffusion des métabolites au sein de l'organisme peut être comparée à la trophallaxie, mécanisme par lequel la nourriture est diffusée par régurgitation entre les membres de la société, que ce soit entre adultes ou entre adultes et larves.

Par ailleurs à l'image des adipocytes (cellules adipeuses) qui fonctionnent comme un réservoir d'énergie pour l'organisme, certaines espèces de fourmis du genre *Myrmecocystus* ou *Proformica* présentent une caste d'ouvrières spécialisée dans le stockage d'eau, de réserves lipidiques ou glucidiques (Hölldobler & Wilson 1990, Passera & Aron 2005) (Figure VII-1). Ces fourmis bonbonnes ou replètes emmagasinent les réserves coloniales accumulées lorsque que les conditions climatiques et/ou alimentaires sont favorables puis les distribuent par trophallaxie aux membres de la colonie en période de sécheresse ou de disette alimentaire. La ressemblance avec les cellules adipeuses qui libèrent des acides gras dans la circulation sanguine lorsque les apports alimentaires ne couvrent pas les besoins énergétiques du corps, notamment lors de famine ou de régime, est donc saisissante.



Figure VII-1. Replètes et ouvrières de l'espèce *Myrmecocystus mexicanus*. (photo © Alex Wild avec son autorisation)

La coordination des tâches exige la circulation d'information d'un bout à l'autre de la société. Les interactions sociales qui permettent à une colonie d'accomplir des règles de décision complexes sont directement comparables au réseau neuronal qui permet à un individu de prendre des décisions (Seeley & Buhrman 1999). Pour cela les fourmis utilisent les phéromones, qu'elles soient émises par la reine pour réguler des processus physiologiques ou par les ouvrières pour déclencher des comportements (par exemple les phéromones d'alarme, de fertilité, de recrutement, etc. ; Passera & Aron 2005). L'analogie avec les hormones des organismes pluricellulaires s'impose donc tout naturellement. Franks (1989a) n'hésite d'ailleurs pas à comparer une société d'insectes au cerveau humain. La puissance de traitement d'un cerveau humain résulte de la mise en connexion de 10^{12} neurones, le travail d'un neurone seul étant nul. Pareillement, la résolution des tâches dans une société de fourmis nomades résulte de l'intercommunication qui s'établit entre plus de 500 000 ouvrières, chacune d'elle s'avérant pratiquement inefficace si elle est isolée. Franks pousse la comparaison plus loin en signalant que tant à l'intérieur d'une ouvrière qu'à l'intérieur d'un neurone la communication est largement de nature électrique, alors que la communication entre fourmis et entre neurones se fait par le biais de messages chimiques.

1.2) L'homéostasie sociale

Les analogies entre organismes et sociétés d'insectes ont atteint leur apogée avec les conceptions d'Emerson relatives à l'auto-régulation et à l'homéostasie (1956). L'homéostasie se définit par la capacité d'un organisme à maintenir un état de stabilité relative des différentes composantes et des paramètres physiologiques de son milieu interne et ce, malgré les variations constantes de l'environnement externe, assurant ainsi le bon fonctionnement des cellules de l'organisme. Il apparaît alors clairement que les insectes sociaux font preuve de grandes capacités à réguler les différents paramètres intracoloniaux grâce à une forme d'homéostasie sociale. La régulation des facteurs abiotiques en est le meilleur exemple. En effet, la plupart des colonies d'insectes sociaux sont capables de réguler la température et l'humidité au sein du nid et apparaissent dès lors comme des super-organismes homéothermiques (Grodzicki & Caputa 2005). A ces fins, des mécanismes passifs et/ou actifs sont utilisés. Ainsi une régulation passive de la température inclut un lieu de nidification favorisant une température intranidale optimale, ou encore une structure de nid qui, par des aérations propices, va favoriser les réchauffements et les refroidissements par déplacements des masses d'air. Une régulation active de la température peut, quant à elle, se réaliser par des

activités comportementales orientées telles que la ventilation ou le refroidissement par évaporation (résumé dans Jones & Oldroyd 2007).

Ainsi au sein d'une société d'abeilles, la température et l'humidité de la chambre à couvain sont régulées par le comportement des ouvrières (Jones et al. 2004, Jones & Oldroyd 2007, Nicolson 2009). Celles-ci maintiennent en effet le couvain à la température quasi constante de 36°C, température optimale pour le développement des larves. En réponse aux variations environnementales (Schmickl & Crailsheim, 2004), les ouvrières, grâce à leurs ailes, ventilent l'air chaud hors du nid quand la température est perçue comme trop élevée ou se regroupent pour émettre une forte chaleur métabolique afin de réchauffer le nid quand la température est trop faible (Seeley 1981). Elles peuvent aussi collecter de l'eau qui sera déposée sur les cellules à couvain afin de les humidifier et/ou de les refroidir ensuite par une ventilation qui facilite l'évaporation (Southwick 1991, Nicolson 2009). Enfin, en réponse à des augmentations locales de températures au sein du nid, dues notamment à l'exposition au soleil, les ouvrières protègent les cellules à couvain d'une surchauffe en se plaçant directement sur la paroi interne trop chaude de la ruche, et réduisent ainsi les transferts de chaleur (Starks & Gilley 1999, Starks et al. 2005).

Tous ces mécanismes thermorégulateurs sont auto-organisés et se mettent en place à partir de règles de décisions simples, les ouvrières ayant entre elles des seuils de réponse différents et ceci pour chacune des tâches du répertoire comportemental (Bonabeau et al. 1996, Théraulaz et al. 1998, Beshers & Fewell 2001). Toutefois, les seuils de réponse individuels aux fluctuations environnementales peuvent présenter une origine génétique (Jones et al. 2004) et il a été démontré que la polyandrie des reines d'abeille facilite l'homéostasie sociale en augmentant les variations génétiques intracoloniales à l'origine de fins niveaux de réponse entre ouvrières (Jones et al. 2004, Oldroyd & Fewell 2007).

Par ailleurs, Grodzicki & Caputa (2005) ont démontré qu'il existe une analogie frappante entre un mammifère et une colonie d'abeille dans la régulation de leur température en fonction du jour et de la nuit. Tout deux présentent une température nocturne au repos plus élevée qu'en journée durant leur phase d'activité. Pour cela les abeilles s'agglutinent la nuit afin de maintenir une haute température métabolique et se dispersent en phase diurne afin de réduire la chaleur ambiante. Contrairement à une abeille isolée qui, par une stratégie hétérothermique, présente une température maximale le jour et minimale la nuit, une colonie d'abeille se comporte donc comme un organisme homéothermique.

A l'image des espèces champignonnistes, les fourmis sont capables de réguler la ventilation et l'humidité de leur habitat en ouvrant ou en fermant les conduits d'aération du nid (Kleineidam & Roces 2000, Kleineidam et al. 2001, Bollazzi & Roces 2007). La recherche d'une température optimale amène les fourmis des bois à modifier la forme de leur dôme selon le biotope occupé. L'insolation, combinée à la conductivité thermique des matériaux du nid, explique en partie que la température au cœur du dôme soit plus élevée que la température ambiante. Toutefois quand la température interne du nid de *Formica rufa* se maintient à 30°C alors qu'il gèle à l'extérieur, un tel écart ne peut s'expliquer que par la chaleur métabolique produite par les ouvrières (Wilson & Hölldobler 1990, Passera & Aron 2005).

Les fourmis légionnaires, quant à elles, n'évoluent jamais au sein d'un nid et pratiquent, par conséquent, une thermorégulation afin de compenser les fluctuations thermiques du milieu. Ces fourmis établissent alors un bivouac, temporaire ou fixe selon la phase de leur cycle migrateur (Figure VII-2). Au cœur de ce bivouac, où résident la reine et le couvain, la température oscille entre 27,5 et 29,5°C alors que la température ambiante varie de 22 à 27°C. (Franks 1989b). Le seul métabolisme de base de ces fourmis *Eciton burchelli* suffit à produire cette chaleur et les baisses de température sont obtenues passivement grâce à des canaux qui, formés au sein des 200 000 à 800 000 ouvrières grouillantes, assurent la ventilation et le refroidissement du bivouac.



Figure VII-2. Bivouac de fourmis *Eciton Burchellii*. (photo © Daniel Kronauer avec son autorisation)

Outre l'ajustement de l'humidité et de la température, l'homéostasie du super-organisme peut aussi être maintenue via des régulations comportementales. En effet, même si l'évolution de la complexité de la division du travail a impliqué une spécialisation accrue des ouvrières au travers du polyéthisme d'âge, du polymorphisme et des différences comportementales interindividuelles, de nombreuses études ont toutefois démontré que les ouvrières sont capables d'une flexibilité comportementale permettant aux colonies de répondre de façon adaptée aux conditions fluctuantes de l'environnement intra et extra colonial (résumé dans Robinson 1992).

Chez les abeilles, une différenciation dynamique permet le passage du stade nourrice au stade fourrageuse au travers de signaux sociaux produits par les ouvrières elles-mêmes. Les fourrageuses synthétisent en effet une phéromone (l'éthyl oléate) qui, transmise par trophallaxie aux jeunes ouvrières, retarde leur premier fourragement (Léoncini et al. 2004, Pankiw 2004). Ce mécanisme autorégulé permet à la colonie de maintenir un taux optimal de fourrageuses puisque, par ce transfert d'information, les nourrices peuvent estimer la taille relative de la population de fourrageuses et pallier toute perte accidentelle d'individus (Huang & Robinson 1996). Par conséquent, une perte de fourrageuses induit systématiquement une diminution du transfert de cette phéromone aux jeunes ouvrières, permettant à un certain nombre d'entre elles de remplacer les butineuses disparues. De même, les fourrageuses sont capables de percevoir la présence des nourrices puisqu'un retrait expérimental de cette caste d'individus pousse une partie des fourrageuses à retourner à des tâches associées à l'élevage des jeunes (Robinson et al. 1992, Huang & Robinson 1996, Toth & Robinson 2005). Ici encore, il semble que les seuils de réponse individuels aux signaux sociaux constituent un facteur déterminant dans le choix d'une abeille à se différencier en réponse aux changements démographiques de la colonie (Amdam & Omholt 2003).

La quantité de pollen stocké au sein de la colonie est aussi régulée par un mécanisme dynamique décentralisé (Schmickl & Crailsheim 2004). D'un côté le pollen stocké inhibe le fourragement tandis que, de l'autre, les phéromones produites par les larves (Slessor et al. 2005) stimulent les fourrageuses à récolter du pollen (Fewell & Winston 1992, Pankiw et al. 1998). Ces deux mécanismes antagonistes se combinent donc au sein de la ruche pour faire émerger un fourragement optimal lié à la quantité de pollen nécessaire à la consommation des larves en développement.

Chez les fourmis, la suppression expérimentale des fourrageuses entraîne la sortie prématurée des plus vieilles ouvrières intranidales de sorte que l'approvisionnement de la colonie n'est pas perturbé (Lenoir 1979, Mc Donald & Topoff 1985). On assiste ici à une

accélération du programme de maturation qui permet de passer d'une tâche à l'autre. De même, l'éviction de 90% des fourrageuses de la champignoniste *Atta cephalotes* amène les 10% de fourrageuses restantes à multiplier leur activité par cinq (Wilson 1983). Bonavita-Cougourdan (1988) rapproche ce phénomène de vicariance des réorganisations fonctionnelles du système nerveux central chez les organismes supérieurs après une lésion. Dans les deux cas, des systèmes compensatoires pallient les lésions comportementales ou organiques.

Enfin l'homéostasie sociale peut prendre un caractère morphologique. Elle est ainsi obtenue en augmentant ou en freinant la différenciation d'une caste morphologique d'individus afin de répondre aux besoins de la colonie. Ainsi la suppression expérimentale des soldats de *Pheidole pallidula* amène les sociétés à restaurer rapidement leur niveau initial de défenseurs. A l'inverse, si l'on augmente le nombre de soldats, la colonie cesse d'en produire de nouveaux jusqu'à retrouver sa structure sociale initiale (Passera 1974).

Ce mécanisme s'avère en fait autorégulé par une phéromone de contact émise par les soldats qui empêche les larves de se différencier à leur tour en soldats (Wheeler & Nijhout 1984). Le processus présente une forte valeur adaptative puisqu'il conduit, en cas de compétition intraspécifique, les soldats de *Pheidole pallidula* à patrouiller hors du nid pour défendre la colonie. Par un mécanisme de rétrocontrôle positif, les colonies soumises à la compétition et donc au risque de perdre des soldats produisent plus de défenseurs que des colonies qui n'y sont pas sujettes (Passera et al. 1996). Ce mécanisme de régulation de la différenciation des unités de défense du super-organisme s'apparente fortement au système immunitaire d'un organisme qui augmente par expansion clonale le nombre de lymphocytes en cas d'infection.

La recherche d'un processus commun permettant d'articuler les informations dont dispose la biologie du développement avec celles résultant de l'étude des sociétés d'insectes, a conduit Wilson (1985) à comparer la *morphogenèse* des êtres pluricellulaires à ce qu'il appelle la *sociogenèse* des insectes sociaux. Dans la morphogenèse, les cellules changent de forme et de compétences chimiques, puis migrent en masse pour édifier progressivement les différentes couches cellulaires (endoderme, mesoderme et ectoderme) dont sont issus les différents tissus et organes de l'organisme. La sociogenèse représente alors le processus suivant et constitue la succession des étapes démographiques qui président à la mise en place des castes dont les compétences comportementales particulières permettent le bon fonctionnement de la société (Wilson 1985).

De plus, morphogenèse et sociogenèse présentent des mécanismes de différenciation communs. Le processus de différenciation des cellules d'un métazoaire passe par plusieurs étapes au cours desquelles les cellules vieillissantes perdent leur totipotentialité. De la même façon, au cours de la sociogenèse, les larves de la colonie perdent peu à peu leur totipotentialité et parviennent à l'état adulte sous les traits d'une caste déterminée. Par exemple, chez la fourmi *Pheidole*, l'œuf conserve la possibilité d'évoluer vers une voie reproductrice ou stérile. Toutefois la larve, au cours du dernier stade, évolue en une ouvrière minor ou major (Passera & Suzzoni 1979, Wheeler & Nijhout 1984).

1.3) La sélection de groupe et les conflits intra-coloniaux, talons d'Achille du concept du super-organisme ?

Malgré la multitude d'analogies entre un organisme pluricellulaire et une colonie d'insectes, le concept du super-organisme a été l'objet de nombreuses critiques. Le premier reproche au concept a concerné le niveau de sélection. En effet, assimiler le super-organisme à l'organisme revient à considérer que la sélection agit au niveau de la colonie et non sur ses membres. Cette sélection de groupe prônée par Wynne-Edwards (1962, 1986) a longtemps prévalu mais a été violemment combattue par Maynard-Smith (1964, 1976) qui considérait qu'un tel type de sélection ne puisse être évolutivement stable. Hamilton (1964), Dawkins (1978) et Williams (1966, 1986) se sont aussi opposés vigoureusement à la sélection de groupe puisque, selon eux, le gène doit être considéré comme le seul niveau de sélection possible, l'organisme apparaissant dès lors comme une enveloppe tissulaire dont l'unique fonction est de perpétuer les gènes (Dawkins 1978).

Cependant, 45 années de recherches ont montré que le concept de sélection de groupe n'est pas faux en soi mais, bien qu'étant un outil potentiellement utile (e.g Gardner et al. 2007) pour appréhender certaines questions évolutives, il mène le plus souvent à des confusions (résumé dans West et al. 2007a, West et al. 2008). Ainsi même s'il est clair que plusieurs niveaux de sélection existent, il reste plus raisonnable d'entrevoir les différentes forces sélectives sous l'aspect de la sélection de parentèle. En effet, aucun exemple théorique ou empirique de sélection groupe ne peut être expliqué sans invoquer la théorie de l'inclusive fitness (résumé dans West et al. 2007a, West et al. 2008).

In fine ce sont les ressources locales et surtout l'intensité de la compétition/coopération qui influencent le niveau de sélection (Reeve & Hölldobler 2007). En effet, coopération et compétition se retrouvent à tous les niveaux du monde biologique, des gènes aux sociétés, en passant par les cellules eucaryotes et les individus (West et al. 2007b).

Par conséquent, même avec l'unité de sélection qu'est l'individu (voire le gène), une compétition entre groupes peut favoriser l'émergence d'un super-organisme, autrement dit l'émergence d'un groupe social coopérant en son sein et pouvant être vu comme un véhicule de propagation de gènes (Reeve & Hölldobler 2007). Reeve & Hölldobler s'appuient pour cela sur un modèle de sélection individuelle où les individus d'un groupe sont confrontés à un problème : comment répartir leur énergie entre l'investissement dans une compétition intercoloniale et l'investissement dans une compétition intracoloniale ? (figure VII-3) De ce modèle simple ressort un investissement individuel (évolutivement stable) dans la compétition entre groupes (et donc une coopération au sein du groupe) comparativement à la compétition intragroupe:

- qui augmente lorsque l'apparement au sein des groupes augmente
- qui diminue quand la taille du groupe augmente
- qui augmente lorsque le nombre de groupes compétiteurs augmente
- qui diminue quand l'apparement entre groupes augmente.

Ce modèle présente donc un moyen simple de déterminer quantitativement comment des conflits inter-groupes vont pouvoir générer des sociétés plus ou moins coopératives et donc plus ou moins proches du super-organisme (Reeve & Hölldobler 2007).

Ce concept a déjà été perçu par Wilson & Sober (1989) qui considèrent qu'il y a super-organisme dès lors que la compétition entre groupes l'emporte sur la compétition au sein des groupes. Cette conception n'exclue donc pas que la société puisse être le siège d'une compétition reproductrice. La colonie étant alors plus ou moins proche du super-organisme selon l'importance de la compétition qui s'exerce à l'intérieur de la société. Par exemple, Wilson & Sober excluent du super-organisme les sociétés d'insectes dans lesquelles la compétition pour la reproduction est intense.

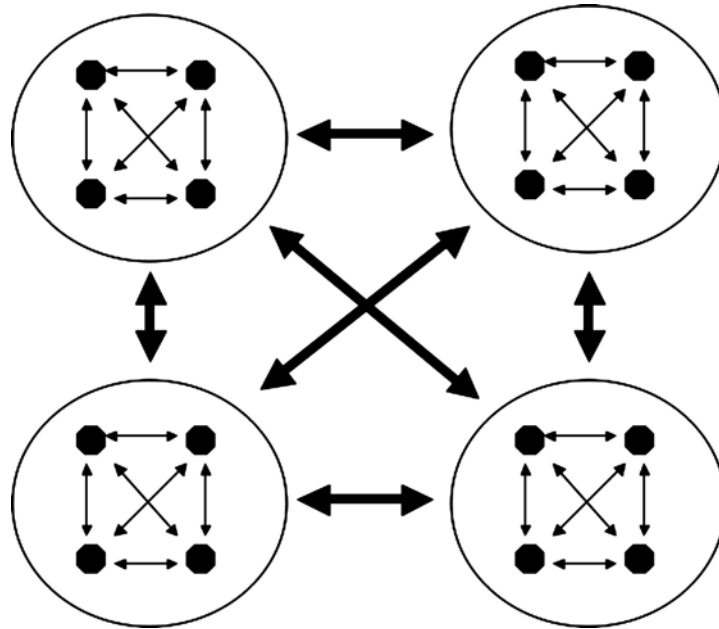


Figure VII-3. L'imbrication des luttes et l'émergence du super-organisme au travers de la compétition intergroupes. Au sein des groupes, les individus s'engagent dans une lutte pour l'accès aux ressources et à la reproduction. Toutefois, les groupes sont aussi en compétition pour l'accès aux ressources. La capacité d'un groupe à remporter la compétition entre groupes est alors d'autant plus faible que le conflit interne est exacerbé. Les groupes les plus coopératifs supplantent donc les groupes égoïstes (d'après Reeve & Hölldobler 2007).

Cette source de conflit reproducteur entre membres de la colonie est d'ailleurs l'autre critique majeure dont le concept de super-organisme a pâti. Le conflit trouve son origine dans les variations génétiques rencontrées dans les sociétés. Contrairement à un organisme où toutes les cellules somatiques qui le composent sont génétiquement identiques et semblent vivre en symbiose, les intérêts génétiques divergents entre membres de la colonie peuvent être à l'origine de conflits. Chez de nombreuses espèces, les ouvrières ont en effet gardé la possibilité de pondre des œufs haploïdes qui seront à l'origine de mâles. C'est là une source de conflits potentiels entre la reine et les ouvrières quant à la production des mâles, les ouvrières étant plus apparentées à leur fils qu'à leur frère. D'autre part, les ouvrières et la reine sont également en opposition lors de l'élevage des sexuées : les ouvrières sont bien souvent plus apparentées à leur sœur qu'à leur frère, alors que la reine l'est autant avec ses filles qu'avec ses fils (Trivers & Hare 1976).

On note toutefois que ces conflits potentiels ne sont pas toujours exprimés et ceci grâce à de nombreux mécanismes évolutifs, tels que la stérilité des ouvrières, l'absence de discrimination des lignées larvaires, l'inhibition royale ou la police des ouvrières ("worker policing"), qui tendent à minimiser les oppositions génétiques (Ratnieks & Reeve 1992, Bourke & Ratnieks 1999).

Il convient également de remarquer que les organismes ne sont pas eux-mêmes à l'abri de conflits génétiques internes quant à la reproduction (Queller & Strassmann 1998, 2002). Ainsi les gènes transmis à l'embryon par le père et la mère sont soumis à des contraintes de sélection opposées. Les gènes paternels n'étant généralement pas apparentés à ceux de la mère, ils sont soumis à une force de sélection qui, pour donner toutes ses chances de survie à l'embryon porteur, s'efforce de tirer un maximum de ressources de la mère sans compromettre la survie de cette dernière. Au contraire, les gènes maternels doivent limiter les ressources que la mère alloue à l'embryon pour assurer les reproductions futures de la mère (Haig & Westoby 1989, Moore & Haig 1991, Haig 2000).

Outre la reproduction, des éléments génétiques égoïstes tels que les transposons sont aussi à l'origine de conflits internes au sein des organismes. Ces transposons, qui peuvent constituer une part importante du génome, sont énergétiquement coûteux, nécessitent des phases de réplication plus longues et peuvent entraver le bon fonctionnement de l'organisme (Haig 1996, Hurst et al. 1996, Burt & Trivers 2006).

Par ailleurs, des conflits internes dénués d'origine génétique peuvent subvenir au sein d'un organisme et en provoquer la mort. Le cancer est ainsi caractérisé par une prolifération

cellulaire anormale et anémique dans un tissu sain de l'organisme. Ces cellules dérivent toutes d'un même clone, cellule initiatrice du cancer qui a acquis certaines caractéristiques lui permettant de se diviser indéfiniment. Cette anarchie dans la multiplication cellulaire trouve une analogie chez les insectes sociaux et renforce d'autant plus le paradigme du super-organisme (Oldroyd 2002, Adam & Seehuus 2006). En effet, la reproduction des ouvrières abeilles est normalement réprimée par des phéromones émanant des larves (Winston & Slessor 1998) et de la reine (Hoover et al. 2003) ainsi que par la police ouvrière qui détruit les œufs qui sont reconnus comme ne provenant pas de la reine (Ratnieks 1993). Toutefois les sociétés d'*Apis mellifera scutellata* peuvent être la proie d'un "cancer social" *Apis mellifera capensis* qui, s'il entre dans la société, se reproduit de façon incontrôlée à l'instar d'une tumeur maligne (Oldroyd 2002). En effet, contrairement aux autres espèces d'abeilles, les ouvrières d'*A. m. capensis* sont capables de se reproduire par parthénogénèse thélytoque et ne sont pas sensibles aux phéromones royale et larvaire qui inhibent généralement l'oogénèse des ouvrières (Martin et al. 2002). De plus les œufs pondus par les ouvrières d'*A. m. capensis* sont recouverts d'une phéromone qui ne permet pas aux ouvrières de la colonie hôte de les différencier de ceux de la reine. Par conséquent la descendance d'une ouvrière d'*A. m. capensis* introduite dans une colonie d'*A. m. scutellata* n'est pas reconnue comme étrangère et peut se développer librement. Cette capacité à échapper à la détection des ouvrières hôtes est équivalente à la façon dont les cellules tumorales échappent au système immunitaire via l'expression de molécules du soi (Houghton & Guevara-Patino 2004, Kortylewski et al. 2005). Très rapidement, les ouvrières d'*A. m. capensis*, véritables clones de l'ouvrière d'origine, prolifèrent et consomment les ressources alimentaires accumulées par la colonie hôte. Ces individus se comportent comme de véritables parasites puisqu'ils ne contribuent pas aux tâches coloniales et se mettent à pondre 6 jours seulement après leur éclosion (Martin et al. 2002). A la fin, la reine hôte d'*A. m. scutellata* est tuée dans les six semaines par les ouvrières d'*A. m. capensis* qui, lorsque la colonie hôte commence ensuite à péricliter, se dispersent à la recherche de nouvelles colonies d'*A. m. scutellata* à infester.

Enfin, la structure génétique même des colonies d'insectes a aussi contribué à véhiculer une autre idée desservant le concept du super-organisme. Alors qu'on ne connaît pas de métazoaires chez lesquels différentes lignées cellulaires issues de différents parents coexistent, chez la plupart des espèces d'insectes sociaux, les colonies fonctionnent avec une ou plusieurs reines fécondées par un ou plusieurs mâles. Sur les 13 500 espèces d'insectes sociaux connues, seules la fourmi *Platythyrea punctata* (Schilder et al. 1999) et l'abeille *Apis*

mellifera capensis (Moritz 2002) présentent pour l'instant des sociétés clonales avérées. Par conséquent, le degré d'apparement entre membres de la société est généralement bien inférieur à l'homogénéité génétique qui réside entre les cellules somatiques d'un individu. Comment considérer alors en tant qu'organisme un groupe d'individus génétiquement hétérogène ? Il s'agit cependant là d'une idée fausse répandue parmi les évolutionnistes qui consiste à concevoir qu'un groupe d'individus ne peut être assimilé à un organisme que lorsqu'il forme un clone génétiquement identique. Or cet a priori est typiquement trompeur puisque le critère essentiel satisfaisant au concept de super-organisme est l'absence de sélection intra-groupe, critère qui peut être obtenu soit au sein d'un groupe d'individus génétiquement homogène soit s'il n'existe aucun biais reproducteur au sein d'un groupe d'individus génétiquement différents (Wilson & Sober 1989).

En outre, le colon de chaque être humain n'est-il pas composé d'une population microbienne estimée à 10^{11} - 10^{12} cellules par ml, soit dix fois plus de cellules microbiennes dans notre intestin que l'ensemble des cellules constituant notre corps ? Toute cette flore intestinale constituée de centaines d'espèces fait partir intégrante de notre organisme et contribue pleinement à notre métabolisme et notre physiologie (Eckburg et al. 2005, Gill et al. 2006, Molloy 2006). Ainsi comme le remarquent justement Gill et ses collaborateurs : « nous devrions nous considérer comme des super-organismes dont le métabolisme représente un amalgame d'attributs humain et microbien ».

2) Le Super-organisme : un modèle heuristique en biologie du développement ?

Au vu de ces éléments, on constate que les critiques dont a fait l'objet le concept de super-organisme ne semblent à présent plus aussi justifiées qu'à une certaine époque. Ainsi, après avoir été fortement controversé, le concept du super-organisme a bénéficié d'un regain d'intérêt à partir des années 80 ; les réflexions de Lumdsen (1982) et surtout Wilson & Sober (1989) y sont pour beaucoup.

Toutefois, bien que le concept de super-organisme soit revenu au goût du jour, trop peu de chercheurs (Adam & Seehuus 2006, Tabony 2006) ont jusqu'à présent tenté de s'inspirer des connaissances acquises chez les insectes sociaux pour comprendre et étudier les phénomènes régissant le développement et l'organisation des organismes, et inversement. Ce manque d'approche transdisciplinaire est d'autant plus surprenant que les parallèles entre super-

organisme et organisme sont multiples. Il serait donc tout à fait envisageable que des mécanismes d'auto-organisation, de coordination et de différenciation présents au niveau colonial se retrouvent au niveau de l'organisme, telle une mise en abîme. L'autosimilarité (caractère d'un objet dans lequel on peut trouver des similarités en l'observant à différentes échelles) n'est-elle pas extrêmement répandue dans la nature ? La plume, le brocoli, le nuage, le flocon de neige et le poumon sont autant de fractales laissant supposer que ce qui peut être observé à un certain niveau (la société) peut aussi l'être à un niveau inférieur (l'organisme).

Dans la continuité de ce travail de thèse, ce chapitre a pour objectif d'envisager les différents mécanismes de différenciation présents chez les insectes sociaux et chez les cellules d'un organisme. L'étude du système immunitaire semble une approche particulièrement intéressante puisque tout comme les individus d'une société d'insectes s'organisent et répondent de façon adaptative aux variations du milieu, les lymphocytes doivent faire face efficacement aux infections de l'organisme. Pour cela les deux systèmes disposent d'unités capables de se différencier, permettant ainsi une division du travail adaptée. La recherche des mécanismes de détermination des lymphocytes T étant particulièrement en plein essor ces dernières années, l'accent sera porté sur ce type cellulaire. L'objectif de ce travail est de déceler des analogies potentielles entre les mécanismes régissant la différenciation chez les insectes sociaux et chez ces cellules immunitaires. Idéalement, l'intérêt d'une telle démarche est aussi de voir si certains processus déjà connus ou modélisés dans l'une des disciplines ne sont pas généralisables à l'autre, et ceci afin d'ouvrir de nouvelles perspectives de recherche et de développement.

2.1) Résumé de l'article 3

Une société d'insectes et le système immunitaire d'un organisme présentent la caractéristique commune de répondre de façon adaptée aux conditions fluctuantes du milieu. L'efficacité des deux systèmes biologiques réside alors dans la capacité de leurs unités constitutives (individus ou cellules immunitaires) à se différencier en fonction des besoins du système. Par exemple, en réponse à une infection, les cellules immunitaires peuvent proliférer et se différencier dans toute une variété de types cellulaires qui seront impliqués dans la destruction des cellules infectées (lymphocyte T cytotoxique), la régulation de la réponse immunitaire (lymphocyte T helper) ou dans la mémoire immunitaire (lymphocyte T mémoire). De même, une société d'insectes peut tour à tour favoriser la production de sexués pour la reproduction, d'ouvrières pour le développement de la colonie, ou de soldates lorsqu'elle est soumise à une compétition inter et/ou intraspécifique. L'objectif de cette étude a été de comparer les différents mécanismes de différenciation à l'œuvre chez les cellules immunitaires et les insectes sociaux afin d'envisager si des processus développementaux similaires ont évolué à différents niveaux du règne biologique (cellule et organisme). De façon surprenante, il s'avère que les voies développementales des unités de chaque système biologique sont remarquablement analogues.

Premièrement, des unités (lymphocytes T naïfs ou œufs) peuvent hériter de composés différents qui déterminent leur orientation développementale (caste ou type cellulaire). Dans ce cas, un œuf évolue en reine ou en ouvrière s'il présente respectivement de faibles ou d'importants taux d'ecdystéroïdes. Un lymphocyte T naïf se différencie en lymphocyte effecteur ou en lymphocyte mémoire s'il hérite respectivement d'un taux important ou d'un faible taux de déterminants (LFA-1, CD8, CD3, PKC ζ , Numb, IFN γ R) au moment de sa formation.

Deuxièmement, des unités filles initialement identiques (lymphocytes T naïfs ou larves et ouvrières) peuvent se spécialiser dans différentes fonctions selon l'environnement dans lequel elles évoluent. Par exemple, une larve ne pourra se différencier en soldate que si la colonie dans laquelle elle se développe présente une faible proportion de soldates. Dans le cas contraire, cette larve se différenciera en ouvrière. Au niveau immunitaire, un lymphocyte soumis à de fortes stimulations antigéniques évoluera vers un destin effecteur tandis qu'un lymphocyte peu stimulé se différenciera en lymphocyte mémoire.

Troisièmement, des unités peuvent passer par différentes fonctions au cours de leur vie. Chez les insectes sociaux, une ouvrière commence généralement par s'occuper du couvain, puis des tâches de maintenance, et finit sa vie en tant que fourrageuse. Un lymphocyte peut, quant à lui, d'abord présenter des fonctions effectrices avant de se différencier en lymphocyte mémoire.

Finalement, le modèle de renforcement des seuils de réponse, appliqué chez les insectes sociaux (voir Introduction générale), est transposé aux cellules immunitaires. Ce modèle ouvre alors de nouvelles perspectives en immunologie puisqu'il intègre non seulement tous les mécanismes actuels de différenciation lymphocytaire, mais expliquerait aussi la grande variété de lymphocytes existants.

2.2) Article 3

T cell differentiation: lessons from a superorganism

-Soumis à la revue Trends in Immunology (06/09/2009)-

Emmanuel Lecoutey, Nicolas Châline and Pierre Jaisson

*Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée, EA4443, Université Paris 13,
99 avenue J.B. Clément, 93430 Villetaneuse, France*

Keywords: differentiation, T lymphocytes, social insects, superorganism, response threshold

2.2.1) Abstract

A property which is strongly selected for in both insect societies and the immune system of an organism is the capacity to respond flexibly under changing conditions. Consequently, the efficiency of both biological systems lies in the ability of their constituent units to differentiate in an appropriate way to fulfil the needs of the whole system (i.e. the organism or the society which constitutes a kind of superorganism). The present article reviews the different mechanisms of differentiation at play at the individual and cellular level to seek if they share some fundamental properties. The choice of social Hymenoptera and of T cells surprisingly revealed that individual differentiation can follow strikingly similar developmental pathways. First, heterogeneous developmental conditions can confer unequal inheritance of determining factors to developing daughter units, which ensures the divergence of daughter unit fates. Second, initially uncommitted daughter units can become different because they experience different environments. Finally, units can undertake different successive fates through aging. Inspired from models of division of labor in insect societies, we propose a response threshold model for T cell differentiation which predicts that T cells may present different response thresholds to stimulation as a result of their own ontogenic experience and age. This global model fully integrates the current models accounting for effector and memory T cell diversity and therefore opens up new horizons for research in immunology.

2.2.2) Introduction

Social insects' colonies have been repeatedly compared to multi-cellular organisms and referred to as 'superorganisms' [1-8]. Indeed, their ability to divide or reallocate labor in response to changing conditions is an example of integrated behavior that has often led to consider insect societies as cohesive biological systems with individuals treated as cells. Moreover, as noticed by Wheeler [6], social insect colonies present three vital functions also exhibited by metazoan organisms: reproduction, protection and nutrition. According to the superorganism concept, any functionally sterile individual can be compared to a somatic cell and reproductive individuals to the germ line. Furthermore, just as every organism consists in a variety of different types of somatic cells, non-fertile individuals in insect societies belong to different morphological (i.e. minor workers, major workers, soldiers...) and/or functional subcastes (i.e. subgroups with distinct behavioral patterns such as nursing, foraging...), allowing both biological systems to efficiently allocate specialized "units" to specific functions.

How does this differentiation between subsets of cells or between members of an insect colony occur? Are there some analogous mechanisms at play at different levels (organism and cell) of the biological realm? To find this out, we draw a parallel between the different mechanisms leading to social differentiation focusing on social Hymenoptera as well as the cell differentiation processes with an emphasis on the rising field of T cell specification. A priori, this parallel seemed relevant as the immune system and an insect colony are well matched because both systems need to respond flexibly and adaptively under fluctuating conditions.

The mechanism of division of labor by which female colony members differentiate into morphological and behavioral castes and subcastes is one of the major research topics of insect sociobiology. Since T cell differentiation arises from environmental factors (see below), we decided to focus on the environmental conditions leading to caste differentiation among females of social Hymenoptera. Therefore, even if they exist, the genetic influences on female caste determination and task specialization (reviewed in ref. 9) will remain out of this review. Classically, an insect society is composed of one (or several) reproductive(s) specialized in egg laying and generalist workers more or less specialized in brood care, nest maintenance, foraging and defence of the colony. In some species, individuals also morphologically specialize in colony defence (soldiers) or in food storage (replete workers) [2, 3]. Intrinsically, the holometabolous postembryonic development of hymenopterans

requires that the environmental factors triggering morphological differentiation take place before the nymph stage, while those triggering behavioural differentiation may occur at the adult stage. These two steps, which can be referred to as pre-imaginal and post-imaginal differentiation, generate within an insect colony a spectrum of differently fated individuals. We will analyze how the complex caste system of social Hymenoptera allows, through many factors, female brood (i.e. eggs and larvae) to differentiate into distinct castes, and how generally the worker caste can be committed to distinct sub-castes, according to age or experience.

In the past years, major stakes for immunologists were to explore T cell diversity. It was revealed that T cells are highly heterogeneous in terms of homing capacity, effector and memory function. Indeed, immune responses are initiated in organized lymphoid tissues where naïve T cells interact with antigen-presenting dendritic cells (DC). This interaction between a T cell and a DC creates a specific physical site, termed the immunological synapse, at which specific ligands and costimulatory molecules trigger and sustain the T cell activation process [10, 11]. This results in T cell proliferation and differentiation into a variety of cell types that play distinctive roles in protection, immunoregulation, and immunological memory (for a review, see ref. 12). For instance, some proliferating T cells (CD4+) differentiate into effector cells of Th1- or Th2-type, which produce different sets of cytokines (interferon- γ (IFN- γ) or interleukin-4 (IL-4), IL-5, and IL-13, respectively) and mediate protection from intracellular or extracellular pathogens. Other effector T cells (CD8+) differentiate into cytotoxic T lymphocytes (CTL) capable of killing virus-infected cells. These effector CD8+ T cells can be divided into at least two subtypes, memory precursor effector (MPE) cells that can become long-lived memory CD8+ T cells and short-lived effector (SLE) cells. Finally, some T cells (from both subtypes CD4 and CD8), generated during the primary response, also survive for years as memory cells which can confer immediate protection and generate more rapid and effective responses upon reencounter with a familiar antigen. Thus, within this memory cells pool, the “effector memory” (EM) and the “central memory” (CM) T cells represent two distinct memory T cell subsets. T_{CM} cells, which generally home to lymph nodes and have limited effector function, efficiently proliferate and become effector cells upon secondary stimulation. By contrast, T_{EM} cells usually home to peripheral tissues, can rapidly produce effector cytokines such as IFN- γ upon antigenic stimulation, but have a limited proliferative capacity. The T_{CM} and T_{EM} subsets therefore ensure an effective division of labor in the memory response: T_{CM} cells are involved in secondary responses and long term protection, and T_{EM} cells are involved in immediate protection [12-14].

How can such a cell diversity leading to an efficient division of labor be achieved? Generally, a cell can form two different cell types from one in two ways: either two initially identical daughter cells become different because they experienced different environments, or an asymmetric cell division confers unequal inheritance of critical molecules in the two daughter cells, ensuring the divergence between daughter cells' fates [15, 16]. As emphasized by Reiner *et al.* [17], it seems that these two basic mechanisms of cell differentiation are also governing the heterogeneity of T cell fate. They therefore suggested two mechanisms of T cell differentiation that they called the “one cell, multiple fates” model and the “one cell, one fate” model. We suggest a complementary third model, the “one cell, successive fates” model, which can also be considered since T cells can progress through the common naïve → effector → memory differentiation process [18-26] and might follow more complex pathways [27]. In parallel, the mechanisms of caste differentiation in hymenopteran societies prompt us to define three models of social differentiation: the “one individual, multiple fates” model, the “one individual, one fate” model as well as the “one individual, successive fates” model which are strikingly analogous to those models at play for the immune system.

We will successively consider and compare these three common models which allow the immune system as well as hymenopteran societies to generate heterogeneity among their units. Finally, we will propose an additional “response threshold” model for T cell differentiation that not only fully integrates the models which currently account for the effector and memory T cell diversity (reviewed in ref. 27) but also increases the range of mechanisms that allow to generate an adaptive system combining fully differentiated T cells as well as a large spectrum of intermediates (clonally expanded T cells that have been arrested at an intermediate stage of differentiation).

2.2.3) THE “ONE UNIT, MULTIPLE FATES” MODEL (Figure 1)

The “one individual, multiple fates” model: the queen of a colony lays asymmetric eggs resulting in differently fated daughters.

In some ant species, the queen exercises a deterministic control over caste fate by modulating the size and composition of her eggs. For instance, in *Formica polystena*, eggs in the early spring are larger, contain more RNA, and differ biochemically in a number of ways from eggs laid during summer. These different eggs yield gynes and workers respectively [28, 29]. In the same way, eggs of the ant *Pheidole pallidula* are caste-biased and their fate depends on the concentration of juvenile hormone (JH) in the queen during oogenesis [30]. Eggs inheriting low JH and ecdysteroid titers develop into gynes, while a high hormonal level definitely commits eggs to the worker caste [31]. Similarly, Schwander *et al.* [32] recently found in *Pogonomyrmex* harvester ants a strong queen effect over caste differentiation: only eggs laid by queens previously exposed to cold conditions and which are at least two years old develop into queens. Here, the queen characteristics influence the developmental fate of the offspring through egg composition since the ecdysteroid levels are significantly lower in eggs developing into queens than the ones developing into workers.

The “one cell, multiple fates” model: a single naïve T-cell undergoes an asymmetric cell division resulting in different fated daughter cells [17, 33].

Chang *et al.* [33] emphasized a possible mechanism of asymmetric T-cell division by which a single naïve dividing lymphocyte can lead to the deterministic establishment of distinctly fated daughter cells following an unequal segregation of determinants (LFA-1, CD8, CD3, PKC ζ , Numb, IFN γ R) after a prolonged interaction with its antigen-bearing DC. The daughter cell proximal to the synapse of the DC may become signaled more strongly such that it adopts a terminally differentiated effector fate characteristic of effector and T_{EM} cells, whereas the daughter cell distal to the synapse may remain in an intermediate stage of differentiation, which is characteristic of the T_{CM} cell lineage. This model was supported by Stemberger *et al.* [43] who demonstrated that different types of effector and memory T cells can develop out of a single precursor naïve T cell.

The “one individual, multiple fates” model vs. the “one cell, multiple fates” model.

Both models are analogous in so far as they both result from a reproduction event: female reproductives and naïve T cell both give birth to differently fated daughter units (eggs or cells). Moreover, in these two models, incipient units can receive unequal signalling factors or determinants (JH and ecdysteroid for eggs and LFA-1, CD8, CD3, PKC ζ , Numb, as well as IFN γ R for cells) which will determine their differentiation (Figure 1). Therefore, these two mechanisms of differentiation appear to be deterministic and allow to generate heterogeneity within the colony or the set of T cells.

Temperature has been demonstrated to act on caste differentiation in social insects [28, 32]. As the immune response can sometimes be supplemented by a temporary elevation in the body's thermoregulatory set-point, it could be worth investigating the potential effect of fever on T cell differentiation. Indeed, instead of resulting in T_{EM} and T_{CM} fated cells, asymmetric T-cell divisions under increased temperature could rather promote SLE and MPE fated T cells which could thus ensure a higher effector T cell proliferation necessary for an immediate efficient immune response.

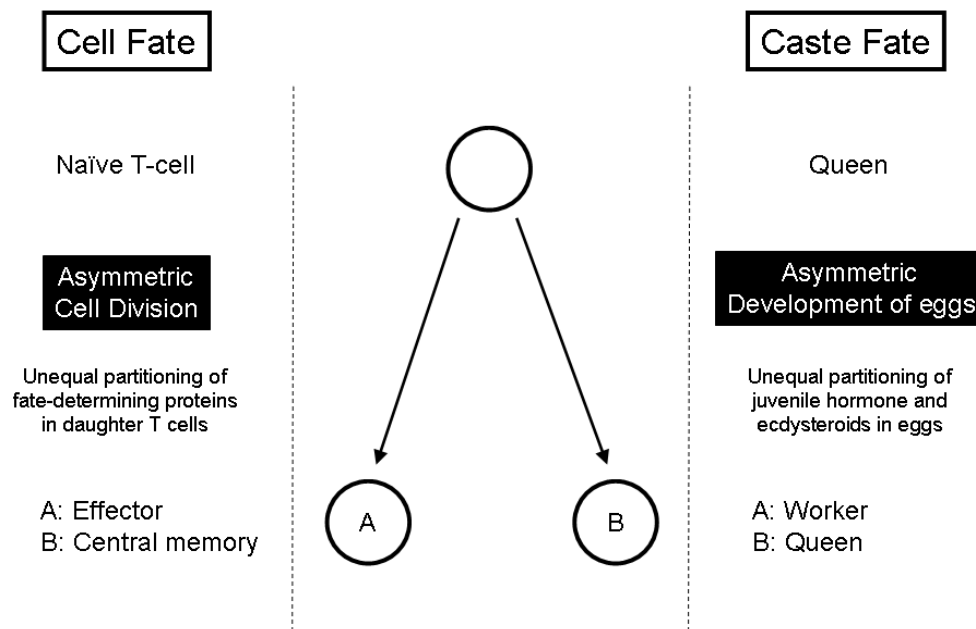


Figure 1. **The “One unit, multiple fates” model.** In this model, based on a deterministic process of differentiation, “incipient units” (daughter T cells or eggs) receive unequal signalling factors or determinants which will influence their differentiation.

2.2.4) THE “ONE UNIT, ONE FATE” MODEL (Figure 2)

The “one individual, one fate” model: two individuals become different because they experience different environments.

Gyne and worker fate can be determined as early as the egg stage (see above). Nevertheless, in most cases, the eggs remain totipotent and environmental conditions during larval and imaginal stages respectively influence morphological and behavioral caste differentiation. Thus, in many social Hymenoptera, the amount or quality of the food provided by workers to developing larvae may profoundly influence the future adult morphology, including features correlated with fecundity [2, 35-43]. With sufficient or specific nutrition, JH levels rise in larvae and lead to gyne or soldier development. In the absence of sufficient JH, larvae will develop as workers. The most popular example is honeybees, where female larvae develop into queens only when fed with large amounts of a special food, royal jelly, provisioned in special queen cells [44]. Hence, in many social insects, the way larvae differentiate is mainly determined by the quantity and/or quality of the nutritive signal/supply they receive. Larval differentiation can also be determined by pheromones. In most of the described cases, larvae are exposed to an inhibitory queen pheromone which commits them into the worker caste [45-48]. However, such pheromone can also originate from unfertile individuals, since adult soldiers of *Pheidole bicarinata* ant produce a contact pheromone preventing larvae from soldier development [49]. Finally, temperature can also act on caste differentiation since, in some ant species, larvae that do not overwinter become irreversibly engaged in the worker developmental pathway [28, 50].

Another way for members of a colony to differentiate and divide labor can occur at the adult stage and arise from social interactions. In some species where adult females are all potential egg layers, physical or ritualized aggressions often take place and individuals specialize according to the outcome of their interactions. This leads to a dominance hierarchy where social rank appeared to be correlated with task performance [41, 51-57]: dominants are more likely to stay in the nest and reproduce while subordinates specialize in foraging. The dominant breeder can also signal her status or her fertility to the whole colony with pheromones and induce a direct physiological response that refrains the subordinate individuals from activating their ovaries [58, 59]. In this case, the presence, or not, of the layer thus influences either a worker fate or a potential reproductive fate in the other members of the colony. Using a clonal population of *Cerapachys biroi*, it has also been shown that

identical naïve workers can be committed to different functions according to their sole previous experience, leading to a self-organized labor division [60]. Workers that previously found prey kept on exploring for food (forager differentiation), whereas those who always failed specialized in brood care (nurse differentiation) (Figure 2). Here, identical workers thus differentiated only according to the amount of stimulations (prey or brood) received.

The “one cell, one fate” model: two naïve precursor T-cells become different because they encounter different environments [17].

For both CD4⁺ and CD8⁺ T cells, the nature of differentiation is determined by the signal strength (quantity and quality of stimulations encountered) including parameters such as antigen concentration, presence of costimulatory molecules, cytokines, as well as stimulus duration [61, 62]. For instance, the generation of effector CTL requires especially CD4⁺ T cell help, costimulatory molecules (CD28 and 4-1BB) expressed by activated DCs and CD8⁺ T cells as well as cytokines IL-12 [62]. The decision between SLE cell and MPE cell fates is also regulated by the amount of inflammatory cytokines (i.e., IL-12) present during T cell priming: high and low amounts of IL-12 respectively induce SLE cells and MPE cells [21]. Moreover, within the effector subsets, a naïve helper T cell precursor can become either a Th1, Th2 or Th17 cell under the instructive influence of IL-12, IL-4, or IL-6 and TGF β respectively [63, 64]. Finally helper T cells can also regulate each others' fate since differentiation of naïve CD4 T-cell towards Th17 is strongly inhibited by Th1 or Th2 cytokines [64].

Thus, a naïve T cell in a given environment will be signaled in such a way as to produce a homogeneous progeny through successive symmetric divisions. Local micro-variations in determinants concentration would here account for a heterogeneous T cells population. Catron *et al.* [65] also suggested that naïve T cells may undergo different activation signal strengths in different anatomic zones or at differing time points during the immune response. Naïve T cells that reside in the site infection at the time of antigen exposure may divide many times in response to high density of peptide MHC-II and costimulatory ligands on dendritic cells, thus generating T_{EM} cells. On the contrary, as late-arriving T cells suffer changes in stimulatory conditions (decreased availability of antigen, decline in antigen-presenting cell function and increased competition among antigen-specific T cells) they may differentiate into T_{CM} cells [65] (Figure 2). Finally, consistent with the “one cell, one fate” model, the progressive-differentiation model proposes that stochastic exposure to antigen-presenting cells and

cytokines, owing to random encounters of variable duration lead to the generation of effector cells and various intermediates such as T_{CM} cells [12, 66, 67].

The “one individual, one fate” model vs. the “one cell, one fate” model.

Here again, both models account for the emergence of generalists and specialists from a set of initially identical “units”. In both cases, the repetition and strength of the randomly encountered stimulations lead the units to either specialize or to remain uncommitted, that is to say not engaged in a definitive pathway of specification. Overall the “one individual, one fate” model and the “one cell, one fate” model are similar in the sense that “uncommitted units” (larvae, naïve workers or naïve T cells) can stochastically experience different environments which will influence their differentiation. In both models, the heterogeneity observed in the population thus arises from homogeneous units stochastically influenced by a diversity of signals. Moreover, while the “one individual, multiple fates” model and the “one cell, multiple fates” model result from a reproduction, the “one individual, one fate” model and the “one cell, one fate” model are here analogous in so far as they are both based on a differentiation.

It is worth at this point to make a clear distinction between the different types of differentiation that can occur both at the cellular and individual level. Indeed, the term “differentiation” can refer either to a plastic or a flexible development. In the plastic differentiation, each unit in a pool stochastically differentiate into a unique irreversible developmental fate, while the flexible differentiation allows reversions, that is a unit can shift between differentiated fates through a modification of its internal state. At the T-cell level, Reiner *et al.* [17] stressed that many of the challenges facing the understanding of differentiation relate to questions of plasticity. Indeed, whether the initial progeny is partially committed down different paths or is all equally malleable intermediates has not yet been adequately evaluated [27]. Therefore, even if some authors brought some pieces of information [68, 69], whether a T-cell loses its plasticity after a certain amount/quality of signaling and become epigenetically fixed in its fate or whether it remains flexible with simply temporary alteration in its functional state are still debated issues [17]. For instance, T helper cell lineage commitment was originally viewed as a unidirectional process with irreversible terminal differentiation of Th1 and Th2 cells (reviewed in ref. 70). Each T helper cell subset expresses its lineage-specific transcription factors and mutually exclusive cytokines. The recent discovery of two new subsets of T helper cells, regulatory T (Treg) cells

and Th17 cells, and their capacity to produce cytokines that would be considered hallmarks of opposing lineages suggest that the commitment of T helper cell lineages is more plastic than previously appreciated. It appears that expression of Foxp3 by induced Treg cells or IL-17 by Th17 cells may not be stable and that there is a great degree of flexibility in their differentiation options (reviewed in ref. 70). Concerning social Hymenoptera, larvae differentiate according to a plastic manner since morphological reversions do not exist. However, it seems reasonable to assume that, at the adult stage, workers of most social Hymenoptera mostly remain totipotent, as emphasized below.

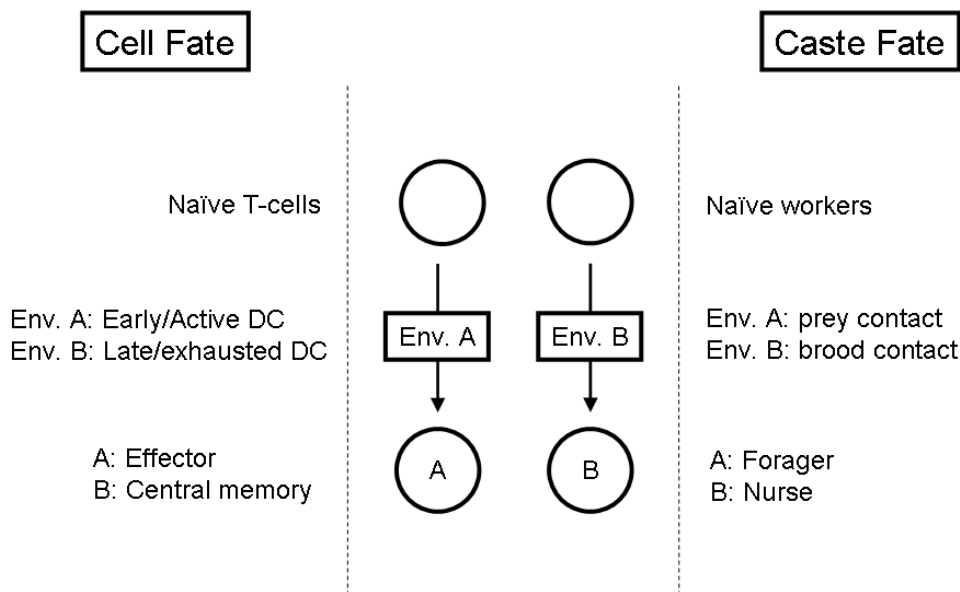


Figure 2. **The “One unit, one fate” model.** In this model, based on a stochastic process of differentiation, “developing units” (larvae) and “uncommitted developed units” (naïve T-cells or naïve workers) randomly encounter different environments (A or B) which will influence their differentiation. Naïve T cells exposed to high density of peptide MHC-II and costimulatory ligands on dendritic cells (DC) (env. A) differentiate into effector T cells, while weak availability of antigen (env. B) foster CM differentiation. In the same way, naïve workers can, for instance, be exposed to prey (env. A) or brood stimulations (env. B) and differentiate into foragers and nurses respectively.

2.2.5) THE “ONE UNIT, SUCCESSIVE FATES” MODEL

The “one individual, successive fates” model: a worker engages in different successive fates through aging.

Even if, as mentioned above, social interactions or experience can commit an individual into a single social fate in a plastic-like manner, adults can usually undergo flexible differentiation. For instance, in societies exhibiting reproductive hierarchies or where a dominant breeder (i.e. the queen) refrains the reproduction of workers by a pheromone [41, 51-59], the death of the reproductive or hierarchy modifications can allow non sterile individuals to switch from an unproductive to a reproductive fate [54]. Nevertheless, species and situations where subordinates can become reproductives are rare and, in a great majority of social hymenopteran species, workers exhibit a temporal polyethism that is the regular maturational progression during aging through different tasks: young workers perform tasks within the nest such as brood care at first and then nest maintenance and as they get older they switch to outside tasks such as foraging and defense [43, 71]. This temporal polyethism however appears not to be rigidly fixed and workers can potentially exhibit behavioral flexibility since some sociotomy experiments have shown that the removal of an age group from a colony leads young workers to forage or, conversely, older workers to care for the brood [72, 73].

To account for this behavioral flexibility in insect societies, it is well established that a worker engages in a particular task as soon as the associated stimulus exceeds its internal response threshold (reviewed in ref. 74). Within the individual, performing an encountered task induces a decrease in the corresponding threshold and then increases the probability of performing repeating that task. Conversely, not performing the task induces an increase in the associated threshold and then decreases the likelihood of performing that task again. Therefore, ageing as well as random exposure to different task-stimuli influence workers specialization through a modification of their internal response thresholds thus generating a self-organized division of labor [60, 74, 75]. Variations in response thresholds generate a system that combines individual task specialization with colony task flexibility: the subset of workers with the lowest thresholds for a given task become specialists for that task but because all workers have a threshold for a task, higher stimulus levels result in the recruitment of additional workers into a task group.

The “one cell, successive fates” model: a T-cell engages in different successive fates through aging.

Like workers in social Hymenoptera, T cells also exhibit a temporal differentiation: they can progress through the common naïve → effector → memory differentiation process and therefore perform successive functions through aging [18-26]. Besides, most of the memory T cells can also, due to their stem cell-like properties, differentiate in secondary effector T cells upon reinfection [67, 76, 77] (Figure 3). The progressive differentiation model proposes that, as a function of the level of signal accumulated, T cells progress through hierarchical thresholds for proliferation and differentiation [12, 67]. Considering that the amount of stimulations experienced tends to increase with age, this model can also fully account for a temporal differentiation during which T cells pass through successive fates. However, the ontogeny of memory T cells still remains controversial and may follow more complex pathways since some studies suggest progressive development of memory cells from effectors while others suggest an early bifurcation between commitment to the memory and effector lineages [14, 18-26, 33, 65, 76, 78].

The “one individual, successive fates” model vs. the “one cell, successive fates” model.

In T cell differentiation, the quality and strength (magnitude and/or duration) of stimulation remain the common paradigm [61, 66, 67, 79]. However, contrary to what has already been proposed in social insects [74], none of the models of T cell differentiation account for the internal state of the units outside the influence of the signal strength (reviewed in ref. 27). Consequently, issues concerning the origin of the diversity among T cells are essentially based upon stimulation sources. It thus raises some questions such as “how can different levels of signal strength be delivered in the course of the same immune response?” [79]. Even if the answers to this question were fully convincing, the origin of T cells heterogeneity can also be interpreted from another point of view and one can therefore wonder how the same levels of signal strength can be perceived differently among T cells. Indeed, we assume that in each differentiation process, both external stimulations and the internal state of the unit interact. Thus, for a same level of stimulation, T cells could also differ in their propensity to differentiate into memory or effector cells according to their own ontogenic experience or to their age.

2.2.6) THE RESPONSE THRESHOLD MODEL FOR T CELL DIFFERENTIATION (Figure 3)

In light of the recent advances in T cell differentiation, we therefore propose a response threshold model for T cell differentiation inspired from social insects' task allocation models and which also encompasses the current models accounting for the effector and memory T cell heterogeneity (reviewed in ref. 27, see also ref. 80). This model is framed around the hypothesis that (naïve) T cells have different internal thresholds for differentiation in response to the signals transduced through T cell receptors (TCRs), costimulatory receptors (CoRs) and cytokine receptors (CRs) (from here, T cell receptors = TRs = TCRs + CoRs + CRs). It postulates that T cells differentiate in response to specific stimuli (i.e. concentration of peptide-MHC complexes, concentration of co-stimulatory molecules and cytokines as well as the duration of the interaction between T cells and antigen-presenting cells) and that a T cell reaches a level of differentiation when the strength (magnitude/duration) of stimulation accumulated and integrated exceeds its internal threshold. Because T cell activation occurs when a threshold of about 8000 triggered TCRs is reached, T cells that express many TCRs are more likely to be activated than T cells that express few TCRs [81]. Our model thus predicts that the number of TR on a T cell is correlated to its internal threshold for differentiation: the more TRs a T cell has, the lowest its threshold will be. According to this model, naïve T cells with a high response threshold or weakly signaled will be more likely to differentiate into T_{CM} cells; those with a medium response threshold or fairly stimulated will be more likely to differentiate into MPE cells; and finally those with a low response threshold or strongly signaled will be more likely to differentiate into SLE cells (Figure 3). Thus, variations in response thresholds for differentiation among (naïve) T cells as well as stochastic exposure to antigen-presenting cells and cytokines, owing to random encounters of variable duration, may result in the generation of differently fated T cells. Moreover, since signal strength and response threshold for differentiation work in opposite ways, the potential interaction between these two mechanisms considerably increases the differentiation pathways. Indeed, MPE cells could originate, for instance, from T cells with a low response threshold subjected to weak signal strength, from T cells with a high response threshold subjected to high signal strength or from T cells with a medium response threshold subjected to medium signal strength. These MPE cells could further differentiate into T_{CM} cells if they are later subjected to weak or no signal strength. But they could also be committed into SLE cells under strong stimulatory conditions (persisting antigen and/or inflammation) or if they

later encounter weak stimulations after a decrease of their response threshold (Figure 3). Besides, considering that asymmetric cell divisions can lead to two differently fated daughter T cells [33], one can consider that naïve T cells with different response thresholds or subjected to different signal strength could, for example, divide either into a T_{CM} cell and a MPE cell or into a MPE cell and a SLE cell (Figure3). Though close to the relevant progressive-differentiation model [61, 67], our model nonetheless integrates the concept that naïve T cells have their own internal response thresholds as a result of their ontogenic experience and that this response threshold (hence the number and/or responsiveness of TRs in the T cell surface) can be modulated with age. Thus, on the one side, among naïve T cells of the same age exposed to the same level of stimulation, those with the lowest response thresholds for differentiation are more likely to differentiate into SLE cells while the ones with the highest response thresholds are more likely to differentiate into T_{CM} cells. On the other side, proliferating capacities are expected to decrease with ageing due to replicative senescence [82, 83]. Among naïve uncommitted T cells of different ages exposed to the same level of stimulation, it thus would be more adaptive for the younger to be less sensitive than the older. According to this hypothesis, our model predicts that response thresholds decrease with age so that young naïve T cells have higher response thresholds for differentiation (that is to say less TR) than old naïve T cells, which promotes T_{CM} cells and SLE cells, respectively. Besides, as the probability for a T cell to encounter stimulations increases with age (without necessary ever reaching its internal response threshold), our model also postulates that T cells' response threshold decreases with repeated, increased or prolonged stimulations. In other words and in line with the decreasing potential model [27, 84] the response threshold model predicts that T cells progressively lose memory cell potential and raise their likelihood of terminal differentiation as TR stimulations are repeated, increased or prolonged. However, contrary to the decreasing potential model, our model doesn't require any differential stimulation to generate heterogeneity since it not only predicts a decrease of the threshold through aging but also variation in thresholds among (naïve) T cells. This simple model therefore increases the range of mechanisms that allow to generate an efficient system combining fully differentiated T cells as well as intermediates. Moreover, since T cells avidity for APCs lead to a competition for interaction with DCs [85, 86] and since TCR and CD28 ligands (peptide-MHC and B7 respectively) are internalized by T cells upon stimulation [86-89], our response threshold model also incorporates a negative feedback loop in which the activation and differentiation of a T cell in response to TR stimulations (APCs, costimulatory molecules, cytokines) decreases the signal strength associated and therefore the number of T

cells which could be activated and engage in the same pathway of differentiation. Thus, if one T cell has a lower response threshold than another T cell, it not only differentiates sooner but it also reduces the stimulus levels so that they may never reach the second T cell's response threshold. As a result, our model assumes that small intrinsic variations in response thresholds among T cells as well as stochastic encounters of different signal strengths may be amplified into large differences in hierarchical levels of differentiation. This negative feedback loop generated by competition among T cells therefore serves two important functions in the immune response. The first is to prevent exhaustion of responsive T cells. The second is to ensure the generation, within the same clone, of distinct fates such as nonpolarized T_{CM} and polarized T_{EM} cells. Finally, very few sensitive, T cells with a very high response threshold differentiate into T_{CM} cells even at high signal strength. Indeed, their response thresholds may never be reached in the course of an immune response because they do not have enough TRs or because of the negative feedback loop in the system. On the other side, T cells with a low response threshold differentiate into SLE cells at low signal strength (magnitude/duration) and higher levels of stimulation result in the differentiation of additional T cells with higher response thresholds into SLE cells and others into MPE cells. This mechanism thus allows a gradual and suitable differentiation of different subsets of T cells according to the level of stimulation therefore leading to an efficient immune response and a lasting protection.

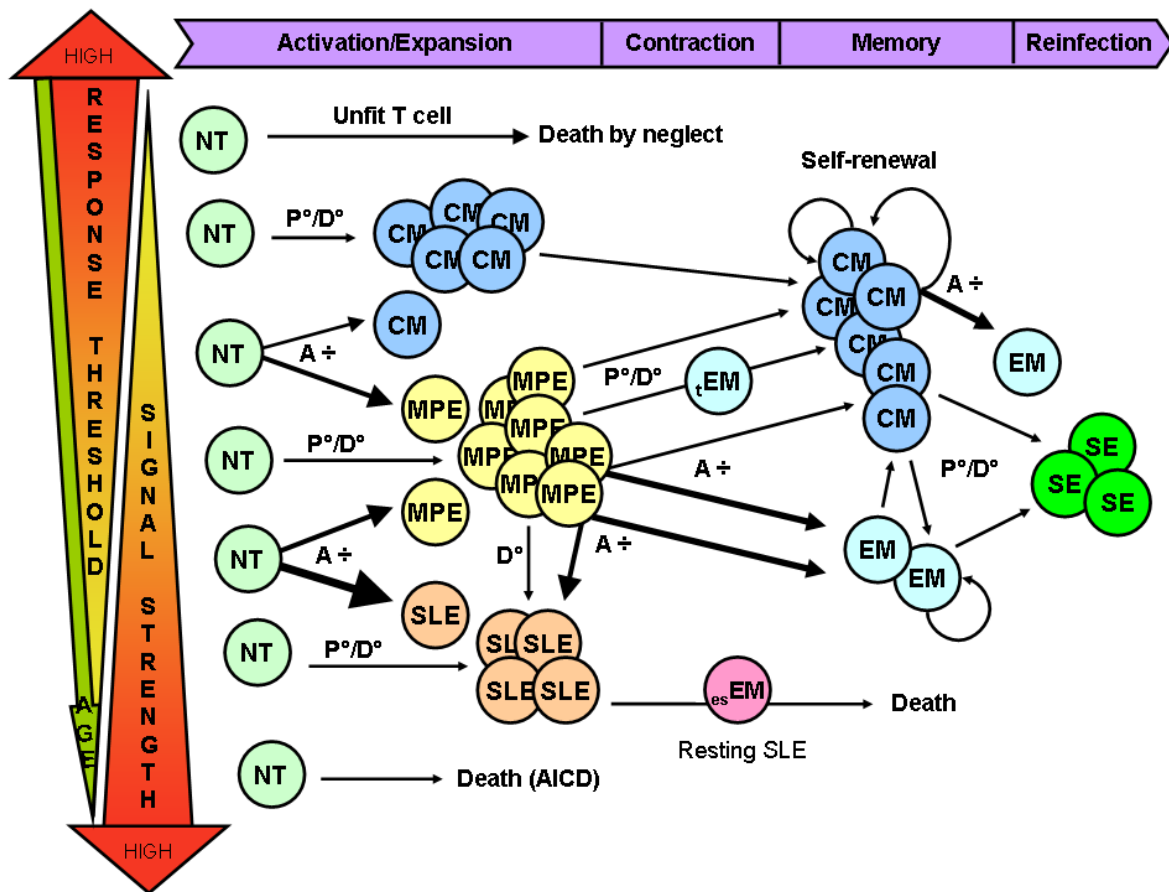


Figure 3. **The response threshold model for T cell differentiation.** In this model, variations in response thresholds among naïve T cells (NT) as well as the stochastic magnitude of the overall signal strength (concentration of peptide-MHC complexes, concentration of co-stimulatory molecules, cytokines and duration of the random interaction between T cells and antigen-presenting cells) are the primary bases for the T-cell differentiation.

Signal strength and response threshold act in an opposite way on T cell differentiation. Thus the blend of these two mechanisms considerably increases the differentiation pathways (for details see response threshold model for T cell differentiation section) during the primary response, therefore leading to an efficient system combining fully differentiated T cells as well as intermediates. Asymmetric cell divisions (where the thickness of the arrows indicates the amount of signal strength received by the daughter cells) can lead T cells of different response thresholds and/or subjected to different signal strength to divide, for instance, into T_{CM} and SLE cells (not illustrated here), into T_{CM} cells and MPE cells, into MPE cells and SLE cells or into T_{EM} and SLE cells. Naïve T cells with the lowest thresholds and the ones subjected to too high level of stimulation are deleted through activation-induced cell death (AICD), while naïve T cells with the highest thresholds (“unfit” T cells) remain uncommitted and die by neglect. After acute viral infection, there are at least three distinct subsets in the early memory T cell pool [27]: first, there are the transitional T_{EM} cells derived from MPE cells which can further slowly differentiate into T_{CM} cells. Second, there are the T_{CM} cells stemmed from MPE cells and from naïve T cells committed during the initial T cell stimulation. Third, there is an end-stage T_{EM} cells population sprung from the resting SLE cells and which do not durably persist, self renew, or undergo conversion to T_{CM} cells.

Lasting memory may be maintained by nonantigen-driven asymmetric divisions which result in frequent self-renewing CM daughters and differentiated EM daughter cells. Due to their

stem cell-like properties, T_{CM} cells can also further proliferate and differentiate into secondary effector T cells upon reinfection.

D°: Differentiation, P°/D°: Proliferation and Differentiation, A ÷: Asymmetric cell division, _tEM: transitional EM, _{es}EM: end-stage EM, SE: Secondary Effectors.

2.2.7) Conclusion

A common property which is strongly selected for in both insect societies and the immune system of an organism is the capacity to respond flexibly and efficiently under fluctuating conditions. For instance, insect colonies have to defend the nest, compensate for a loss of workers due to colony fission or predation, or exploit newly available resources efficiently. The immune system also has to face sudden variation in antigen concentration and has to respond with a variety of functional outputs while avoiding exhaustion. To achieve this efficiency, T cell workforce and social Hymenoptera colonies are composed of specialized units (SLE cells, T_{EM} cells, soldiers, foragers, reproductives...) as well as a pool of uncommitted and developing units (i.e naïve T cells and brood). The specialized units allow to respond efficiently to immediate needs while the pool of uncommitted and developing reserves can, for instance, be mobilized to make up for missing or swamped specialized units [90]. Consequently, the success of the efficiency of the immune system and of the insect societies lies in the ability of their (developing) constituting units to differentiate in an appropriate way to fulfill the needs of the (super)organism. We have highlighted that, to differentiate, (incipient) T cells of an organism and (developing) individuals of an insect colony can be exposed to strikingly similar developmental pathways. This brings further support to the superorganism paradigm. Indeed, to generate diversity, both biological systems present three common mechanisms of differentiation. In the first, asymmetric developmental conditions confer unequal inheritance of determining factors to developing daughter units, which ensures the divergence of daughter unit fates (Figure 1). In the second, initially uncommitted daughter units become different because they encounter different environmental conditions (Figure 2). In the third one, units engage in different successive fates through aging according to a maturational program combined to the accumulating effect of environmental stimulations. Note that, as summed up in figure 4, the first two mechanisms of differentiation can be combined thus allowing the (super)organism to respond efficiently by generating a spectrum of heterogeneity among units. Because those mechanisms of differentiation are analogous, it leads us to consider that similar processes of differentiation have evolved at different levels (organism and cell) of the biological realm as a consequence of a common

evolutionary pressure to find solutions that are robust and do not fail under sudden changing conditions.

Finally, inspired by models of division of labor in insect societies we proposed a response threshold model for T cell differentiation that fully integrates the models which currently account for the effector and memory T cell heterogeneity. Besides taking into account the weight of T cells exposure to random stimulations (quality, strength and duration) in the process of differentiation, this simple model also considers that T cells present different response thresholds to stimulation as a result of their own ontogenic experience and age. This new model therefore increases the mechanisms that allow to generate an efficient system combining fully differentiated T cells as well as a large spectrum of intermediates.

As mentioned by Hölldobler & Wilson [2], *“ants offer special advantages for some important kinds of basic biological research. The colony is a superorganism. It can be analyzed as a coherent unit and compared with the organism in the design of experiments, with individuals treated as the rough analogues of cells. (...) A larger hope is that more general and exact principles of biological organization will be revealed by the meshing of information from insect socio-biology with equivalent information from developmental biology”*. We have illustrated the visionary nature of Hölldobler & Wilson’s thought by highlighting how the biological mechanisms of social differentiation in insect colonies and of T cell specification in metazoan organisms are analogous. This leads us to suggest that social insect specialists, developmental biologists and immunologists should more often consider a cross-disciplinary approach of science and incorporate and draw their inspiration from findings and insights from one another. The discovery of the involvement of the immune system (MHC) in social recognition in mammals already provided an illustration of the potential richness of such an interdisciplinary approach on the theme [91].

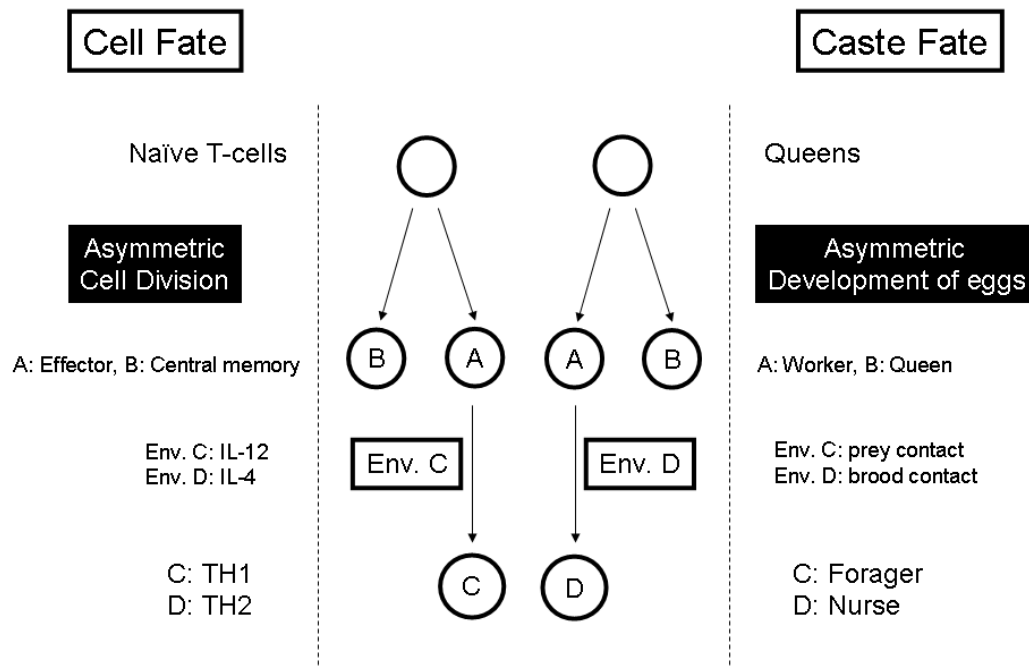


Figure 4. **From pluripotency to one fate.** The “One unit, multiple fates” model and the “One unit, one fate” model can be successively combined. This allows the (super)organism to generate a spectrum of heterogeneous units in order to efficiently respond to needs.

Acknowledgments

We are indebted to Patrice Debré and Stéphane Chameron for comments and helpful discussions on earlier versions of the manuscript. This work was supported by a grant from the French Research Ministry to E.L.

2.2.8) References

1. Emerson AE (1939) Social coordination and the super-organism. *Amer Midl Nat* 21:182–209.
2. Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The Ants* (Belknap, Cambridge, MA).
3. Hölldobler B, Wilson EO (2008) *The Superorganism: The Beauty, Elegance, and Strangeness of Insect Societies* (W.W. Norton and Company, New York).
4. Lumsden CJ (1982) The social regulation of physical caste: the superorganism revived. *J Theor Biol* 95:749–781.
5. Seeley TD (1989) The honey bee colony as a superorganism. *Am Sci* 77:546–553.
6. Wheeler WM (1911) The ant-colony as an organism. *J Morphol* 22 :307–325.
7. Wheeler WM (1926) *Les Sociétés d’Insectes. Leur Origine, leur Evolution* (Gaston Douin, Paris).
8. Wilson DS, Sober E (1989) Reviving the superorganism. *J Theor Biol* 136:337–356.
9. Smith CR, Toth AL, Suarez AV, Robinson GE (2008) Genetic and genomic analyses of the division of labour in insect societies. *Nat Rev Genet* 9:735–748.
10. Grakoui A, *et al.* (1999) The immunological synapse: a molecular machine controlling T cell activation. *Science* 285:221–227.
11. Bromley SK, *et al.* (2001) The immunological synapse. *Annu Rev Immunol* 19:375–396.
12. Lanzavecchia A, Sallusto F (2000) Dynamics of T Lymphocyte Responses: Intermediates, Effectors, and Memory Cells. *Science* 290:92–97.
13. Lanzavecchia A, Sallusto F (2005) Understanding the generation and function of memory T cell subsets. *Curr Opin Immunol* 17:326–332.
14. Sallusto F, Lenig D, Förster R, Lipp M, Lanzavecchia A (1999) Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 401:708–712.
15. Betschinger J, Knoblich JA (2004) Dare to be different: asymmetric cell division in *Drosophila*, *C. elegans* and Vertebrates. *Curr Biol* 14:674–685.
16. Horvitz HR, Herskowitz I (1992) Mechanisms of asymmetric cell division: two Bs or not two Bs, that is the question. *Cell* 68:237–255.
17. Reiner SL, Sallusto F, Lanzavecchia A (2007) Division of labor with a workforce of one: challenges in specifying effector and memory T cell fate. *Science* 317:622–625.
18. Bannard O, Kraman M, Fearon, DT (2009) Secondary replicative function of CD8+ T cells that had developed an effector phenotype. *Science* 323:505–509.

19. Harrington LE, Janowski KM, Oliver JR, Zajac AJ, Weaver CT (2008) Memory CD4 T cells emerge from effector T-cell progenitors. *Nature* 452:356–361.
20. Jacob J, Baltimore D (1999) Modelling T-cell memory by genetic marking of memory T cells in vivo. *Nature* 399:593–597.
21. Joshi NS, *et al.* (2007) Inflammation directs a gradient of Tbet expression that specifies memory precursor and short-lived effector CD8 T cell fates. *Immunity* 27:281–295.
22. Kaech SM, Hemby S, Kersh E, Ahmed R (2002) Molecular and functional profiling of memory CD8 T cell differentiation. *Cell* 111:837–851.
23. Opferman JT, Ober BT, Ashton-Rickardt PG (1999) Linear differentiation of cytotoxic effectors into memory T lymphocytes. *Science* 283:1745–1748.
24. Sarkar S, *et al.* (2008) Functional and genomic profiling of effector CD8 T cell subsets with distinct memory fates. *J Exp Med* 205:625–640.
25. Seder RA, Ahmed R (2003) Similarities and differences in CD4⁺ and CD8⁺ effector and memory T cell generation. *Nat Immunol* 4:835–842.
26. Wherry EJ, *et al.* (2003) Lineage relationship and protective immunity of memory CD8 T cell subsets. *Nat Immunol* 4:225–234.
27. Kaech SM, Wherry EJ (2007) Heterogeneity and cell-fate decisions in effector and memory CD8⁺ T cell differentiation during viral infection. *Immunity* 27:393–405.
28. Bier K (1954) Importance of the oogenesis' seasonal dimorphism in the caste determination in *Formica rufa rufo-pratensis minor* Gössw. *Biol Zentralbl* 73:170–190. (title translated from German).
29. Gösswald K, Bier K (1954) Study of the caste determination in *Formica* species. 3. The caste determination in *rufa rufo-pratensis minor* Gössw. *Insect Soc* 1:229–246. (title translated from German).
30. Passera L, Suzzoni JP (1979) Queen role in brood sexualization after juvenile hormone treatment in *Pheidole pallidula* (Nyl.) (Hym., Form.). *Insect Soc* 26:343–353. (title translated from French).
31. Suzzoni JP, Passera L, Strambi A (1980) Ecdysteroid titre and caste determination in the ant *Pheidole pallidula* (Nyl.) (Hym., Form.). *Experientia* 36:1228–1229.
32. Schwander T, *et al.* (2008) Maternal effect on female caste determination in a social insect. *Curr Biol* 18:265–269.
33. Chang JT, *et al.* (2007) Asymmetric T lymphocyte division in the initiation of adaptive immune responses. *Science* 315:1687–1691.

34. Stemberger C, *et al.* (2007) A single naive CD8+ T cell precursor can develop into diverse effector and memory subsets. *Immunity* 27:985–997.
35. Bonavita-Cougourdan A, Passera L (1978) Comparative study with radioactive gold of the worker and gyne larvae diet in the ant *Plagiolepis pygmea* Latr. *Insect Soc* 25:275–287. (title translated from French).
36. Brian MV (1979) in *Social Insects*, eds Hermann HR (Academic Press, New-York), vol I, pp 122–222.
37. Karsai I, Hunt JH (2002) Food Quantity Affects Traits of Offspring in the Paper Wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Environ Entomol* 31:99–106.
38. Michener CD (1974) *The Social Behavior of Bees* (Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press).
39. O'Donnell S (1998) Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annu Rev Entomol* 43:323–346.
40. Oster GF, Wilson EO (1978) *Caste and Ecology in the Social Insects* (Princeton: Princeton University Press).
41. Wheeler DE (1986) Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *Am Nat* 128:13–34.
42. Wheeler DE (1991) The developmental basis of worker caste polymorphism in ants. *Am Nat* 138:1218–1238.
43. Wilson EO (1971) *The Insect Societies* (Cambridge, MA: Harvard University Press).
44. Winston ML (1987) *The Biology of the Honey Bee* (Cambridge, MA: Harvard University Press).
45. Colombel P (1978) The biology of *Odontomachus haematodes* L. (Hym. Form.). The female caste determination. *Insect Soc* 25:141–151. (title translated from French).
46. Passera L (1980) The inhibitive function of the ant queen *Plagiolepis pygmea* Latr.: the role of pheromones. *Insect Soc* 27:212–225. (title translated from French).
47. Röseler PF, Röseler I (1974) Morphological and physiological caste differentiation in the bumblebees *Bombus hyponorum* (L.) und *Bombus terrestris* (L.). *Zool Jährb Physiol* 78:175–198. (title translated from German).
48. Vargo EL, Passera L (1991) Pheromonal and behavioral queen control over the production of gynes in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Behav Ecol Sociobiol* 28:161–169.
49. Wheeler DE, Nijhout HF (1984) Soldier determination in the ant *Pheidole bicarinata*: inhibition by adult soldiers. *J Insect Physiol* 30:127–135.

50. Brian MV (1955) Studies of caste differentiation in *Myrmica rubra* L. 3. Larval dormancy, winter size and vernalisation. *Insect Soc* 2:58–114.
51. Hartmann A, Wantia J, Torres JA, Heinze J (2003) Worker policing without genetic conflicts in a clonal ant. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:12836–12840.
52. Ito F, Higashi S (1991) A linear dominance hierarchy regulating reproduction and polyethism of the queenless ant *Pachycondyla sublaevis*. *Naturwissenschaften* 78:80–82.
53. Kolmer K, Heinze J (2000) Rank order and division of labour among unrelated cofounding ant queens. *Proc R Soc London B Biol Sci* 267:1729–1734.
54. Monnin T, Peeters C (1999) Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. *Behav Ecol* 10:323–332.
55. O'Donnell S (1998) Dominance and polyethism in the eusocial wasp *Mischocyttarus mastigophorus* (Hymenoptera: Vespidae). *Behav Ecol Sociobiol* 43:327–331.
56. Powell S, Tschinkel W (1999) Ritualized conflict in *Odontomachus brunneus* and the generation of interaction-based task allocation: a new organizational mechanism in ants. *Anim Behav* 58:965–972.
57. Reeve HK, Gamboa GJ (1987) Queen regulation of worker foraging in paper wasps: a social feedback control system (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera, Vespidae). *Behaviour* 102:147–167.
58. Keller L, Nonacs P (1993) The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal? *Anim Behav* 45:787–794.
59. Tsuji K, Egashira K, Hölldobler B (1999) Regulation of worker reproduction by direct physical contact in the ant *Diacamma* sp. from Japan. *Anim Behav* 58:337–343.
60. Ravary F, Lecoutey E, Kaminski G, Châline N, Jaisson P (2007) Individual experience alone can generate lasting division of labor in ants. *Curr Biol* 17:1308–1312.
61. Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A (2004) Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol* 22:745–763.
62. Williams MA, Bevan MJ (2007) Effector and memory CTL differentiation. *Annu Rev Immunol* 25:171–192.
63. Murphy KM, Reiner SL (2002) The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol* 2:933–944.
64. Stockinger B, Veldhoen M (2007) Differentiation and function of Th17 T cells. *Curr Opin Immunol* 19:281–286.

65. Catron DM, Rusch LK, Hataye J, Itano AA, Jenkins MK (2006) CD4⁺ T cells that enter the draining lymph nodes after antigen injection participate in the primary response and become central memory cells. *J Exp Med* 203:1045–1054.
66. Gett AV, Sallusto F, Lanzavecchia A, Geginat J (2003) T cell fitness determined by signal strength. *Nat Immunol* 4:355–360.
67. Lanzavecchia A, Sallusto F (2002) Progressive differentiation and selection of the fittest in the immune response. *Nat Rev Immunol* 2:982–987.
68. Marzo AL, *et al.* (2005) Initial T cell frequency dictates memory CD8⁺ T cell lineage commitment. *Nat Immunol* 6:793–799.
69. Williams MA, Bevan MJ (2005) T cell memory: fixed or flexible? *Nat Immunol* 6:752–754.
70. Zhou L, Chong MMW, Littman, DR (2009) Plasticity of CD4⁺ T cell lineage differentiation. *Immunity* 30: 646–655.
71. Calderone NW (1998) Proximate mechanisms of age polyethism in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie* 29:127–158.
72. Lenoir A (1987) Factors determining polyethism in social insects. In *From Individual to Collective Behavior in Social Insects*, eds Pasteels JM, Deneubourg J-L, Experientia suppl, 54, pp 219–240.
73. Robinson GE (1992) Regulation of division of labor in insect societies. *Ann Rev Entomol* 37:637–665.
74. Beshers SN, Fewell JH (2001) Models of division of labor in social insects. *Ann Rev Entomol* 46:413–440.
75. Theraulaz G, Bonabeau E, Deneubourg J-L (1998) Response threshold reinforcement and division of labour in insect societies. *Proc R Soc London B Biol Sci* 265:327–332.
76. Fearon DT, Manders P, Wagner SD (2001) Arrested differentiation, the self-renewing memory lymphocyte, and vaccination. *Science* 293:248–250.
77. Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R (2002) Effector and memory T-cell differentiation: implications for vaccine development. *Nat Rev Immunol* 2:251–262.
78. Teixeira E, *et al.* (2009) Different T cell receptor signals determine CD8⁺ memory versus effector development. *Science* 323:502–505.
79. Langenkamp A, *et al.* (2002) T cell priming by dendritic cells: thresholds for proliferation, differentiation and death and intraclonal functional diversification. *Eur J Immunol* 32:2046–2054.

80. Lefrançois L, Masopust M (2009) The road not taken: memory T cell fate 'decisions'. *Nature* 10:369–370.
81. Viola A, Lanzavecchia A (1996) T cell activation determined by T cell receptor number and tunable thresholds. *Science* 273:104–106.
82. Iancu EM, Speiser DE, Rufer N (2008) Assessing ageing of individual T lymphocytes: mission impossible? *Mech Ageing Dev* 129:67–78.
83. Rufer N, Dragowska W, Thornbury G, Roosnek E, Lansdorp PM (1998) Telomere length dynamics in human lymphocyte subpopulations measured by flow cytometry. *Nat Biotechnol* 16:743–747.
84. Ahmed R, Gray D (1996) Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science* 272:54–60.
85. Kedl RM, *et al.* (2000) T cells compete for access to antigen-bearing antigen-presenting cells. *J Exp Med* 192:1105–1113.
86. Lanzavecchia A, Sallusto F (2001) Antigen decoding by T lymphocytes: from synapses to fate determination. *Nat Immunol* 2:487–492.
87. Huang JF, *et al.* (1999) TCR-Mediated internalization of peptide-MHC complexes acquired by T cells. *Science* 286:952–954.
88. Hudrisier D, Bongrand P (2002) Intercellular transfer of antigen-presenting cell determinants onto T cells: molecular mechanisms and biological significance. *FASEB J* 16:477–486.
89. Hwang I, *et al.* (2000) T cells can use either T cell receptor or CD28 receptors to absorb and internalize cell surface molecules derived from antigen-presenting cells. *J Exp Med* 191:1137–1148.
90. Passera L, Roncin E, Kaufmann B, Keller L (1996) Increased soldier production in ant colonies exposed to intraspecific competition. *Nature* 379:630–631.
91. Yamazaki K, Boyse EA, Mike V, Thaler HT, Mathieson BJ, Abbott J, Boyse J, Zayas ZA, Thomas L (1976) Control of mating preferences in mice by genes in major histocompatibility complex. *J Exp Med* 144:1324–1335.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Axelrod R. & Hamilton W.D. 1981. The evolution of cooperation. *Science*, **211**, 1390-1396.
- Amdam G.V. & Omholt S.W. 2003. The hive bee to forager transition in honeybee colonies: the double repressor hypothesis. *Journal of Theoretical Biology*, **223**, 451-464.
- Arathi H.S. & Spivak M. 2001. Influence of colony genotypic composition on the performance of hygienic behaviour in the honeybee, *Apis mellifera* L. *Animal Behaviour*, **62**, 57-66.
- Arnold G., Quenet B., Cornuet J.-M., Masson C., Deschepper B., Estoup A. & Gasqui P. 1996. Kin recognition in honeybees. *Nature*, **379**, 498.
- Aron L. & Passera L. 2000. *Les sociétés animales: évolution de la coopération et organisation sociale*. De Boeck Université, Bruxelles.
- Ayasse M., Marovits T., Tengö J., Taghizadeh T. & Francke W. 1995. Are there pheromonal dominance signals in the bumblebee *Bombus hypnorum* L. (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, **26**, 163-180.
- Ayasse M., Birnbaum J., Tengö J., Doorn A., Taghizadeh T. & Francke W. 1999. Caste and colony-specific chemical signals on eggs of the bumble bee, *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae). *Chemoecology*, **9**, 119-126.
- Baer B. & Schmid-Hempel P. 1999. Experimental variation in polyandry affects parasite loads and fitness in a bumble-bee. *Nature*, **397**, 151-154.
- Bargum K., Boomsma J.J. & Sundström L. 2004. A genetic component to size in queens of the ant, *Formica truncorum*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **57**, 9-16.
- Barton N.H. & Charlesworth B. 1998. Why sex and recombination? *Science*, **281**, 1986-1990.
- Beekman M. & Oldroyd B.P. 2008. When workers disunite: intraspecific parasitism by eusocial bees. *Annual Review of Entomology*, **53**, 19-37.
- Bell, G. 1982. *The masterpiece of nature*. San Francisco: University of California Press.
- Beshers S.N., Huang Z.Y., Oono Y. & Robinson G.E. 2001. Social inhibition and the regulation of temporal polyethism in honey bees. *Journal of Theoretical Biology*, **213**, 461-479.
- Beshers S.N. & Fewell J.H. 2001. Models of division of labor in social insects. *Annual Review of Entomology*, **46**, 413-440.
- Beye M., Gattermeier I., Hasselmann M., Gempe T., Schioett M., Baines J.F., Schlipalius D., Mougel F., Emore C., Rueppell O., Sirvio A., Guzman-Novoa E., Hunt G., Solignac M. & Page R.E. 2006. Exceptionally high levels of recombination across the honey bee genome. *Genome Research*, **16**, 1339-1344.

- Biesmeijer J.C., Van Nieuwstadt Mark G.L, Lukács S. & Sommeijer M.J. 1998. The role of internal and external information in foraging decisions of *Melipona* workers. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **42**, 107-116.
- Bier K. 1954. Über den Saisondimorphismus der Oögenese von *Formica rufa rufo-pratensis minor* Gössw. Und dessen Bedeutung für die Kestendetermination. *Biologisches Zentralblatt*, **73**, 170-190.
- Blatrix R., Durand J.L. & Jaisson P. 2000. Task allocation depends on matriline in the ponerine ant *Gnamptogenys striatula* mayr. *Journal of Insect behavior*, **13**, 553-562.
- Bollazzi M. & Roces F. 2007. To build or not to build: circulating dry air organizes collective building for climate control in the leaf-cutting ant *Acromyrmex ambiguus*. *Animal Behaviour*, **74**, 1349-1355.
- Bolton, B. 1990. Abdominal characters and status of the cerapachyine ants (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Natural History*, **24**, 53-68.
- Bonabeau E. & Theraulaz G. 1999. Role and variability of response thresholds in the regulation of division of labor in insect societies. In: *Information Processing in Social Insects* (Ed. by J. M. Pasteels), pp. 141-163. Basel, Switzerland: Birkhäuser.
- Bonabeau E., Theraulaz G. & Deneubourg J.L. 1996. Quantitative study of the fixed threshold model for the regulation of division of labour in insect societies. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **263**, 1565-1569.
- Bonabeau, E., Theraulaz, G. & Deneubourg, J.L. 1998. Fixed response thresholds and the regulation of division of labor in insect societies. *Bulletin of Mathematical Biology*, **60**, 753-807.
- Bonabeau E., Theraulaz G. & Deneubourg J.L. 1999. Dominance orders in animal societies: the self-organization hypothesis revisited. *Bulletin of Mathematical Biology*, **61**, 727-757.
- Bonabeau E., Theraulaz G., Deneubourg J.L., Aron S. & Camazine S. 1997. Self-organisation in social insects. *Trends in Ecology and Evolution*, **12**, 188-193.
- Bonavita-Cougourdan A. 1988. Contribution à l'étude des communications et de leur rôle dans l'organisation sociale chez la fourmi *Camponotus vagus* Scop. Thèse, Marseille.
- Bonavita-Cougourdan A. & Passera L. 1978. Etude comparative au moyen d'or radioactif de l'alimentation des larves d'ouvrières et des larves de reine chez la fourmi *Plagiolepis pygmaea* Latr. *Insectes Sociaux*, **25**, 275-287.
- Bonner J.T. 1982. Evolutionary strategies and developmental constraints in the cellular slime molds. *The American Naturalist*, **119**, 530-552.
- Boomsma J.J, Nielsen J., Sundström L., Oldham N.J., Tentschert J., Petersen H.C. & Morgan E.M. 2003. Informational constraints on optimal sex allocation in ants. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **100**, 8799-8804.

- Boulay R., Hefetz A., Soroker V. & Lenoir A. 2000. *Camponotus fellah* colony integration: worker individuality necessitates frequent hydrocarbon exchanges. *Animal Behaviour*, **59**, 1127-1133.
- Boulay R., Hefetz A., Cerdá X., Devers S., Francke W., Twele R. & Lenoir A. 2007. Production of sexuals in a fission-performing ant: dual effects of queen pheromones and colony size. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **61**, 1531-1541.
- Bourke A.F.G. 1988. Worker reproduction in the higher eusocial Hymenoptera. *Quarterly Review of Biology*, **63**, 291-311.
- Bourke A.F.G. & Franks N.R. 1995. *Social evolution in ants*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Bourke A.F.G. & Ratnieks F.L.W. 1999. Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **46**, 287-297.
- Brady S.G. & Ward P.S. 2005. Morphological phylogeny of army ants and other dorylomorphs (Hymenoptera: Formicidae). *Systematic Entomology*, **30**, 593-618.
- Brady S.G., Fisher B.L., Schultz T.R. & Ward P.S. 2006. Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **103**, 18172-18177.
- Brennan P.A. 2008. MHC-associated chemosignals and individual identity. In: *Chemical Signals in Vertebrates 11*, Springer, New York, pp 131-140.
- Brian M.V. 1955. Studies of caste differentiation in *Myrmica rubra* L. 3. Larval dormancy, winter size and vernalisation. *Insectes Sociaux*, **2**, 58-114.
- Brian M.V. 1973. Caste control through worker attack in the ant *Myrmica*. *Insectes Sociaux*, **20**, 87-102.
- Brian M.V. 1974. Caste differentiation in *Myrmica rubra*: the role of hormones. *Journal of Insect Physiology*, **20**, 1351-1365.
- Brian M.V. 1979. In *Social Insects*, eds Hermann HR (Academic Press, New-York), vol I, pp 122-222.
- Brian M.V. 1980. Social control over sex and caste in bees, wasps, and ants. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **55**, 379-415.
- Brown W.L.J. 1975. Contribution toward a reclassification of the formicidae. V. Ponerinae, tribes Platythyreini, Cerapachyini, Cyldromyrmecini, Acanthostichini, and Aenictoginitini. *Search Agriculture, 5, Entomology (Ithaca)*, **15**, 1-115.
- Brunner E., Kroiss J. & Heinze J. 2009. Chemical correlates of reproduction and worker policing in a myrmicine ant. *Journal of Insect Physiology*, **55**, 19-26.

- Burt A. & Trivers R. 2006. *Genes in Conflict: The Biology of Selfish Genetic Elements* (Belknap Press of Harvard Univ Press, Cambridge MA).
- Buschinger A., Peeters C. & Crozier R.H. 1989. Life-pattern studies on an australian *Sphinctomyrmex* (Formicidae: Ponerinae; Cerapachyini): functional polygyny, brood periodicity and raiding behavior. *Psyche*, **96**, 287-300.
- Buschinger A. & Schreiber M. 2002. Queen polymorphism and queen-morph related facultative polygyny in the ant, *Myrmecina graminicola* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, **49**, 344-353.
- Cagniant H. 1973. Apparition d'ouvrières à partir d'oeufs pondus par des ouvrières chez la fourmi *Cataglyphis cursor* Fonsc. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, **277**, 2197-2198.
- Cagniant H. 1979. La parthénogénèse thélytoque et arrhénotoque chez la fourmi *Cataglyphis cursor* Fonsc. Cycle biologique en élevage des colonies avec reine et des colonies sans reine. *Insectes Sociaux*, **26**, 51-60.
- Cahan S.H., Parker J.D., Rissing S.W., Johnson R.A., Polony T.S., Weiser M.D., Smith D.R. 2002. Extreme genetic differences between queens and workers in hybridizing *Pogonomyrmex* harvester ants. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **269**, 1871-1877.
- Cahan S.H. & Vinson S.B. 2003. Reproductive division of labor between hybrid and nonhybrid offspring in a fire ant hybrid zone. *Evolution*, **57**, 1562-1570.
- Calderone N.W. 1998. Proximate mechanisms of age polyethism in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie*, **29**, 127-158.
- Calderone N.W. & Page R.E. 1996. Temporal polyethism and behavioural canalization in the honey bee, *Apis mellifera*. *Animal Behaviour*, **51**, 631-643.
- Camazine S., Deneubourg J.L., Franks N.R., Sneyd J., Théraulaz G. & Bonabeau E. 2001. *Self-Organization in Biological Systems*. Princeton University Press, Princeton & Oxford.
- Chapman N.C., Oldroyd B.P. & Hughes W.O.H. 2007. Differential responses of honeybee (*Apis mellifera*) patrines to changes in stimuli for the generalist tasks of nursing and foraging. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **61**, 1185-1194.
- Cole B.J. 1981. Dominance hierarchies in *Leptothorax* ants. *Science*, **212**, 83-84.
- Colombel P. 1978. Biologie d'*Odontomachus haematodes* L. (Hym. Form.) Déterminisme de la caste femelle. *Insectes Sociaux*, **25**, 141-151.
- Cnaani J., Robinson G.E. & Hefetz A. 2000. The critical period for caste determination in *Bombus terrestris* and its juvenile hormone correlates. *Journal of Comparative Physiology*, **186**, 1089-1094.

- Crozier R.H. & Dix M.W. 1979. Analysis of two genetic models for the innate components of colony odor in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **4**, 217-224.
- Crozier R.H. & Pamilo P. 1996. *Evolution of Social Insect Colonies. Sex Allocation and Kin Selection*. Oxford University Press, Oxford, 306 pp.
- Cuvillier-Hot V., Lenoir A., Crewe R., Malosse C. & Peeters C. 2004. Fertility signalling and reproductive skew in queenless ants. *Animal Behaviour*, **68**, 1209-1219.
- Cuvillier-Hot V., Lenoir A. & Peeters C. 2004. Reproductive monopoly enforced by sterile police workers in a queenless ant. *Behavioral Ecology*, **15**, 970-975.
- Cuvillier-Hot V., Cobb M., Malosse C. & Peeters C. 2001. Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant, *Journal of Insect Physiology*, **47**, 485-493.
- D'Ettorre P. & Heinze J. 2005. Individual recognition in ant queens. *Current Biology*, **15**, 2170-2174.
- D'Ettorre P., Heinze J. & Ratnieks F.L.W. 2004. Worker policing by egg eating in the ponerine ant *Pachycondyla inversa*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **271**, 1427-1434.
- D'Ettorre P., Heinze J., Schultz C., Francke W. & Ayasse M. 2004. Does she smell like a queen? Chemoreception of a cuticular hydrocarbon signal in the ant *Pachycondyla inversa*. *Journal of Experimental Biology*, **207**, 1085-1091.
- Dapporto L. 2007. Cuticular lipid diversification in *Lasiommata megera* and *Lasiommata paramagaera*: the influence of species, sex, and population (Lepidoptera: Nymphalidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **91**, 703-710.
- Dawkins R. 1978. *Le Gène Egoïste*. Editions Menges (traduction française), Paris.
- Deneubourg J.L., Aron S., Goss S., Pasteels J.M. & Duerinck G. 1986. Random behaviour, amplification processes and number of participants: how they contribute to the foraging properties of ants. *Physica*, **22**, 176-186.
- Deneubourg J.L., Goss S., Pasteels J.M., Fresneau D. & Lachaud J.P. 1987. Self-organization mechanisms in ant societies. II. Learning in foraging and division of labor. In: *From Individual to Collective Behavior in Social Insects: les Treilles Workshop*, J.M. Pasteels and J.L. Deneubourg, eds. (Basel: Birkhauser), pp. 177-196.
- Denis D., Chaméron S., Costille L., Pocheville A., Châline L. & Fresneau D. 2008. Workers agonistic interactions in queenright and queenless nests of a polydomous ant society. *Animal Behaviour*, **75**, 791-800.
- Detrain C. & Deneubourg J.L. 2006. Self-organized structures in a superorganism: do ants "behave" like molecules? *Physics of Life Reviews*, **3**, 162-187.

- Detrain C., Deneubourg J.L. & Pasteels J.M. 1999. Decision making in foraging by social insects. In: *Information Processing in Social Insects* (Ed. by C. Detrain & al). Basel, Switzerland: Birkhäuser.
- de Visser J.A.G.M. & S.F. Elena. 2007. The evolution of sex: empirical insights into the roles of epistasis and drift. *Nature Review Genetics*, **8**, 139-149.
- Dietemann V., Liebig J., Hölldobler B. & Peeters C. 2005. Changes in the cuticular hydrocarbons of incipient reproductives correlate with triggering of worker policing in the bulldog ant *Myrmecia gulosa*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **58**, 486-496.
- Dietemann V., Peeters C., Liebig J., Thivet V. & Hölldobler B. 2003. Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and nonreproductives in the ant *Myrmecia gulosa*. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **100**, 10341-10346.
- Dobata S., Sasaki T., Mori H., Hasegawa E., Shimada M. & Tsuji K. 2009. Cheater genotypes in the parthenogenetic ant *Pristomyrmex punctatus*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **276**, 567-574.
- Dreller C. & Page R.E.J. 1999. Genetic, developmental and environmental determinants of honey bee foraging behavior. In: *Information Processing in Social Insects* (Ed. by C. Detrain & al). Basel, Switzerland: Birkhäuser.
- Dussutour A. & Simpson S.J. 2009. Communal nutrition in ants. *Current Biology*, **19**, 740-744.
- Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M., Gill S.R., Nelson K.E., Relman D.A. 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, **308**, 1635-1638.
- Emerson A.E. 1956. Regenerative behavior and social homeostasis in termites. *Ecology*, **37**, 248-258.
- Emlen D.J. & Nijhout H.F. 2000. The development and evolution of exaggerated morphologies in insects. *Annual Review of Entomology*, **45**, 661-708.
- Endler A., Liebig J., Schmitt T., Parker J.E., Jones G.R., Schreier P. & Hölldobler B. 2004. Surface hydrocarbons of queen eggs regulate worker reproduction in a social insect. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **101**, 2945-2950.
- Engelstädter J. 2008. Constraints on the evolution of asexual reproduction. *BioEssays*, **30**, 1138-1150.
- Evans J.D. & Wheeler D.E. 1999. Differential gene expression between developing queens and workers in the honey bee, *Apis mellifera*. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **96**, 5575-5580.
- Evans J.D. & Wheeler D.E. 2001. Gene expression and the evolution of insect polyphenisms. *BioEssays*, **23**, 62-68.

- Fersch R., Buschinger A. & Heinze J. 2000. Queen polymorphism in the Australian ant *Monomorium* sp. *Insectes Sociaux*, **47**, 280-284.
- Fewell J.H. & Page R.E. 1993. Genotypic variation in foraging responses to environmental stimuli by honey-bees, *Apis mellifera*. *Experientia*, **49**, 1106-1112.
- Fewell J.H. & Page R.E. 2000. Colony-level selection effects on individual and colony foraging task performance in honeybees, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **48**, 173-181.
- Fewell J.H. & Winston M.L. 1992. Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **30**, 387-393.
- Fischer O. & Schmid-Hempel P. 2005. Selection by parasites may increase host recombination frequency. *Biology Letters*, **1**, 193-195.
- Fisher R.A. 1930. *The genetical theory of natural selection*. Oxford: Clarendon Press.
- Fjerdingstad E.J. 2005. Control of body size of *Lasius niger* ant sexuals: worker interests, genes and environment. *Molecular Ecology*, **14**, 3123-3132.
- Fjerdingstad E.J. & Crozier R.H. 2006. The evolution of worker caste diversity in social insects. *The American Naturalist*, **167**, 390-400.
- Fjerdingstad E.J., Gertsch P.J. & Keller L. 2003. The relationship between multiple mating by queens, within-colony genetic variability and fitness in the ant *Lasius niger*. *Journal of Evolutionary Biology*, **16**, 844-853.
- Fontaneto D., Herniou E.A., Boschetti C., Caprioli M., Melone G., Ricci C. & Barraclough T.G. 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biology*, **5**, 914-921.
- Fournier D., Estoup A., Orivel J., Foucaud J., Jourdan H., Le Breton J. & Keller L. 2005. Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature*, **435**, 1230-1234.
- Fournier D., Battaille G., Timmermans I. & Aron S. 2008. Genetic diversity, worker size polymorphism and division of labour in the polyandrous ant *Cataglyphis cursor*. *Animal Behaviour*, **75**, 151-158.
- Franks N.R. 1989a. Army ants: a collective intelligence. *American Scientist*, **77**, 139-145.
- Franks N.R. 1989b. Thermoregulation in army ant bivouacs. *Physiological Entomology*, **14**, 397-404.
- Franks N.R. & Tofts C. 1994. Foraging for work: how tasks allocate workers. *Animal Behaviour*, **48**, 470-472.
- Fraser V.S., Kaufmann B., Oldroyd B.P. & Crozier R.H. 2000. Genetic influence on caste in the ant *Camponotus consobrinus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **47**, 188-194.

- Frumhoff P.C. & Baker J.A. 1988. Genetic component to division of labour within honey bee colonies. *Nature*, **333**, 358-361.
- Fuchs S. & Schade V. 1994. Lower performance in honeybee colonies of uniform paternity. *Apidologie*, **25**, 155-169.
- Gabriel W., Lynch M. & Bürger R. 1993. Muller's Ratchet and mutational meltdowns. *Evolution*, **47**, 1744-1757.
- Gardner A., West S.A. & Barton N.H. 2007. The relation between multilocus population genetics and social evolution theory. *The American Naturalist*, **169**, 207-226.
- Gautrais J., Theraulaz G., Deneubourg J.L. & Anderson C. 2002. Emergent polyethism as a consequence of increased colony size in insect societies. *Journal of Theoretical Biology*, **215**, 363-373.
- Gibbs A.G. 2002. Lipid melting and cuticular permeability: new insights into an old problem. *Journal of Insect Physiology*, **48**, 391-400.
- Gibbs A.G. & Crockett E.L. 1998. The biology of lipids: integrative and comparative perspectives. *American Zoologist*, **38**, 265-267.
- Gill S.R. *et al.* 2006. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, **312**, 1355-1359.
- Gordon D.M. 1996. The organization of work in social insect colonies. *Nature*, **380**, 121-124.
- Gösswald K. & Bier K. 1954a. Untersuchungen zur Kastendetermination in der Gattung *Formica*. 3. Die Kastendetermination von *rufa rufo-pratensis minor* Gössw. *Insectes Sociaux*, **1**, 229-246.
- Gösswald K. & Bier K. 1954b. Untersuchungen zur Kastendetermination in der Gattung *Formica*. 4. Physiologische Weislosigkeit als Voraussetzung der Aufzucht von Geschlechtstieren im polygynen Volk. *Insectes Sociaux*, **1**, 305-318.
- Gotzek D. & Ross K.G. 2007. Genetic regulation of colony social organization in fire ants: an integrative overview. *Quarterly Review of Biology*, **82**, 201-226.
- Graham S., Myerscough M.R., Jones J.C. & Oldroyd, B.P. 2006. Modelling the role of intracolony genetic diversity on regulation of brood temperature in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Insectes Sociaux*, **53**, 226-232.
- Grasso D.A., Wenseleers T., Mori A., Le Moli F. & Billen J. 2000. Thelytokous worker reproduction and lack of *Wolbachia* infection in the harvesting ant *Messor capitatus*. *Ethology Ecology and Evolution*, **12**, 309-314.
- Greene M.J. & Gordon D.M. 2003. Social insects - cuticular hydrocarbons inform task decisions. *Nature*, **423**, 32.

- Grodzicki P. & Caputa M. 2005. Social versus individual behaviour: A comparative approach to thermal behaviour of the honeybee (*Apis mellifera* L.) and the American cockroach (*Periplaneta americana* L.). *Journal of Insect Physiology*, **51**, 315-322.
- Grozinger C.M., Sharabash N.M., Whitfield C.W. & Robinson G.E. 2003. Pheromone mediated gene expression in the honey bee brain. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **100**, 14519-14525.
- Haccou P. & Schneider M.V. 2004. Modes of reproduction and the accumulation of deleterious mutations with multiplicative fitness effects. *Genetics*, **166**, 1093-1104.
- Haig D. & Westoby M. 1989. Parent-specific gene-expression and the triploid endosperm. *The American Naturalist*, **134**, 147-155.
- Haig D. 1996. In: *Behavioral Ecology: An Evolutionary Approach*, eds Krebs JR, Davies NB (Blackwell, Oxford), pp 284-304.
- Haig, D. 2000. The kinship theory of genomic imprinting. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **31**, 9-32.
- Hamilton W.D. 1964 The genetical evolution of social behaviour. *Journal of Theoretical Biology*, **7**, 1-52.
- Hamilton W.D., Axelrod R. & Tanese R. 1990. Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites (A Review). *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **87**, 3566-3573.
- Hart A.G., Bot A.N.M. & Brown M.J.F. 2002. A colony-level response to disease control in a leaf-cutting ant. *Naturwissenschaften*, **89**, 275-277.
- Hart A.G. & Ratnieks F.L.W. 2001. Task partitioning, division of labour and nest compartmentalisation collectively isolate hazardous waste in the leafcutting ant *Atta cephalotes*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **49**, 387-392.
- Hartfelder K. & Rembold H. 1991. Caste-specific modulation of juvenile hormone III content and ecdysteroid titer in postembryonic development of the stingless bee, *Scaptotrigona postica depilis*. *Journal of Comparative Physiology*, **160**, 617-620.
- Hartfelder K., Makert G.R., Judice C.C., Pereira G.A.G, Santana W.C., Dallacqua R. & Bitondi M.M.G. 2006. Physiological and genetic mechanisms underlying caste development, reproduction and division of labor in stingless bees. *Apidologie*, **37**, 144-163.
- Hartmann A., Wantia J., Torres J.A. & Heinze J. 2003. Worker policing without genetic conflicts in a clonal ant. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **100**, 12836-12840.
- Hasegawa E. 1997. The optimal caste ratio in polymorphic ants: estimation and empirical evidence. *The American Naturalist*, **149**, 706-722.

- Heinze J. 1998. Intercastes, intermorphs, and ergatoid queens: Who is who in ant reproduction? *Insectes Sociaux*, **45**, 113-124.
- Heinze J. & Hölldobler B. 1995. Thelytokous parthenogenesis and dominance hierarchies in the ponerine ant, *Platythyrea punctata*. *Naturwissenschaften*, **82**, 40-41.
- Heinze J., Hölldobler B. & Peeters C. 1994. Conflict and cooperation in ant societies. *Naturwissenschaften*, **81**, 489-497.
- Heinze J., Trunzer B., Oliveira P.S. & Hölldobler B. 1996. Regulation of reproduction in the neotropical ponerine ant, *Pachycondyla villosa*. *Journal of Insect Behavior*, **9**, 441-450.
- Heinze J., Stengl B. & Sledge M.F. 2002. Worker rank, reproductive status and cuticular hydrocarbon signature in the ant, *Pachycondyla inversa*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **52**, 59-65.
- Herbers J.M. 1980. On caste ratios in ant colonies: population responses to changing environments. *Evolution*, **34**, 575-585.
- Hillis D.M. 2007. Asexual evolution: can species exist without sex? *Current Biology*, **17**, R543-544.
- Himler A.G., Caldera E.J., Baer B.C., Fernández-Marín H. & Mueller U.G. 2009. No sex in fungus-farming ants or their crops. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **276**, 2611-2616.
- Hölldobler B. 1982. Communication, raiding behavior and prey storage in *Cerapachys* (Hymenoptera; Formicidae). *Psyche*, **89**, 8461.
- Hölldobler B. & Wilson E.O. 1990. *The Ants* (Belknap, Cambridge, MA).
- Hoover S.E.R., Keeling C.I., Winston M.L. & Slessor K.N. 2003. The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. *Naturwissenschaften*, **90**, 477-480.
- Hora R.R., Doums C., Poteaux C., Feneron R., Valenzuela J., Heinze J. & Fresneau D. 2005. Small queens in the ant *Ectatomma tuberculatum*: a new case of social parasitism. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **59**, 285-292.
- Houghton A.N. & Guevara-Patino J.A. 2004. Immune recognition of self in immunity against cancer. *The Journal of Clinical Investigation*, **114**, 468-471.
- Howard R.W. & Blomquist G.J. 2005. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annual Review of Entomology*, **50**, 371-393.
- Huang Z.Y. & Robinson G.E. 1996. Regulation of honey bee division of labor by colony age demography. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **39**, 147-158.

- Huang Z.Y. & Robinson G.E. 1999. Social control of division of labour in the honey bee colonies. In: *Information Processing in Social Insects* (Ed. by J. M. Pasteels), pp. 165-186. Basel, Switzerland: Birkhäuser
- Hughes W.O.H. & Boomsma J.J. 2007. Genetic polymorphism in leaf-cutting ants is phenotypically plastic. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **274**, 1625-1630.
- Hughes W.O.H. & Boomsma J.J. 2008. Genetic royal cheats in leaf-cutting ant societies. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **105**, 5150-5153.
- Hughes W.O.H., Sumner S., Van Borm S. & Boomsma J.J. 2003. Worker caste polymorphism has a genetic basis in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **100**, 9394-9397.
- Hunt G.J. & Page R.E. 1995. Linkage map of the honey bee *Apis mellifera* based on RAPD markers. *Genetics*, **139**, 1371-1382.
- Hurst L.D., Atlan A., Bengtsson D.O. 1996. Genetic conflicts. *Quarterly Review of Biology*, **71**, 317-364.
- Hurst L.D. & Peck J.R. 1996. Recent advances in understanding of the evolution and maintenance of sex. *Trends in Ecology and Evolution*, **11**, 46-52.
- Ichinose K. & Lenoir A. 2009. Ontogeny of hydrocarbon profiles in the ant *Aphaenogaster senilis* and effects of social isolation *Comptes Rendus de Biologies*, **332**, 697-703.
- Ito F. & Higashi S. 1991. A linear dominance hierarchy regulating reproduction and polyethism of the queenless ant *Pachycondyla subleavis*. *Naturwissenschaften*, **78**, 80-82.
- Itow T., Kobayashi K., Kubota M., Ogata K., Imai H.T. & Crozier R.H. 1984. The reproductive cycle of the queenless ant *Pristomyrmex pungens*. *Insectes Sociaux*, **31**, 87-102.
- Jaffe R., Kronauer D.J.C., Kraus F.B., Boomsma J.J. & Moritz R.F.A. 2007. Worker caste determination in the army ant *Eciton burchellii*. *Biology Letters*, **3**, 513-516.
- Jaisson P. 1993. *La fourmi et le sociobiologiste*. Editions Odile Jacob, Paris.
- Jaisson P., Fresneau D. & Lachaud J.P. 1988. Individuals traits of social behavior in ants. In: *Interindividual behavioral variability in social insects* (Ed. by R. L. Jeanne), pp. 1-51. Boulder: Westview Press.
- Jeanne R.L. 1986. The evolution of the organization of work in social insects. *Monitore Zoologico Italiano*, **20**, 119-134.
- Jeanson R., Clark R. M., Holbrook C.T., Bertram S., Fewell J.H. & Kukuk P.F. 2008. Division of labour and socially induced changes in response thresholds in associations of solitary halictine bees. *Animal Behaviour*, **76**, 593-602.

- Jeanson R., Fewell J.H., Gorelick R. & Bertram S. 2007. Emergence of division of labor as a function of group size. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **62**, 289-298.
- Jha S., Casey-Ford R.G., Pedersen J.S., Platt T.G., Cervo R., Queller D.C. & Strassmann J.E. 2006. The queen is not a pacemaker in the small-colony wasps *Polistes instabilis* and *P. dominulus*. *Animal Behaviour*, **71**, 1197-1203.
- Johnson B.R. 2005. Limited flexibility in the temporal caste system of the honey bee. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **58**, 219-226.
- Johnson R.A. 1991. Learning, memory, and foraging efficiency in two species of desert seed-harvester ants. *Ecology*, **72**, 1408-1419.
- Jones J.C., Myerscough M.R., Graham S. & Oldroyd B.P. 2004. Honey bee nest thermoregulation: diversity promotes stability. *Science*, **305**, 402-404.
- Jones J.C. & Oldroyd B.P. 2007. Nest thermoregulation in social insects. *Advances in Insect Physiology*, **33**, 153-191.
- Jouventin P. & Aubin T. 2002. Acoustic systems are adapted to breeding ecologies: individual recognition in nesting penguins. *Animal Behaviour*, **64**, 747-757.
- Julian G.E., Fewell J.H., Gadau J., Johnson R.A. & Larrabee D. 2002 Genetic determination of the queen caste in an ant hybrid zone. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **99**, 8157-8160.
- Julian G.E. & Fewell J.H. 2004. Genetic variation and task specialization in the desert leaf-cutter ant, *Acromyrmex versicolor*. *Animal Behaviour*, **68**, 1-8.
- Kaib M., Franke S., Franke W. & Brandl R. 2002. Cuticular hydrocarbons in a termite: phenotypes and a neighbour-stranger effect. *Physiological Entomology*, **27**, 189-198.
- Karsai I. & Hunt J.H. 2002. Food Quantity affects traits of offspring in the paper wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Environmental Entomology*, **31**, 99-106.
- Keller L. & Chapuisat M. 2001. Eusociality and cooperation. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1-8.
- Keller L. & Nonacs P. 1993. The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal? *Animal Behaviour*, **45**, 787-794.
- Keller L., Passera L. & Suzzoni J.P. 1989. Queen execution in the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis*. *Physiological Entomology*, **14**, 157-163.
- Ken T., Hepburn H.R., Radloff S.E., Yusheng Y., Yiqiu L., Danyin Z. & Neumann P. 2005. Heat-balling wasps by honeybees. *Naturwissenschaften*, **92**, 492-495.
- Kerr W.E. 1950. Genetic determinants of castes in the genus *Melipona*. *Genetics*, **35**, 143-152.

- Kleineidam C. & Roces F. 2000. Carbon dioxide concentrations and nest ventilation in nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri*. *Insectes Sociaux*, **47**, 241-248.
- Kleineidam C., Ernst R. & Roces F. 2001. Wind induced ventilation of the giant nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri*. *Naturwissenschaften*, **88**, 301-305.
- Klobuchar E.A. & Deslippe R.J. 2002. A queen pheromone induces workers to kill sexual larvae in colonies of the red imported fire ant (*Solenopsis invicta*). *Naturwissenschaften*, **89**, 302-304.
- Kolmer K. & Heinze J. 2000. Rank orders and division of labour among unrelated cofounding ant queens. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **267**, 1729-1734.
- Kondrashov A.S. 1982. Selection against harmful mutations in large sexual and asexual populations. *Genetical Research*, **40**, 325-332.
- Kondrashov A.S. 1993. Classification of hypotheses on the advantage of amphimixis. *Journal of Heredity*, **84**, 372-387.
- Kortylewski M., Kujawski M., Wang T.H., Wei S., Zhang S.M., Pilon-Thomas S., Niu G.L., Kay H., Mule J., Kerr W.G., Jove R., Pardoll D. & Yu H. 2005. Inhibiting Stat3 signaling in the hematopoietic system elicits multicomponent antitumor immunity. *Nature Medicine*, **11**, 1314-1321.
- Kronauer D.J.C., Johnson R.A. & Boomsma J.J. 2007. The evolution of multiple mating in army ants. *Evolution*, **61**, 413-422.
- Kryger P., Kryger U. & Moritz R.F.A. 2000. Genotypical variability for the tasks of water collecting and scenting in a honey bee colony. *Ethology*, **106**, 769-779.
- Langridge E.A., Franks N.R. & Sendova-Franks A.B. 2004. Improvement in collective performance with experience in ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **56**, 523-529.
- Langridge E.A., Sendova-Franks A.B. & Franks N.R. 2008. How experienced individuals contribute to an improvement in collective performance in ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **62**, 447-456.
- Lattorff H.M.G., Moritz R.F.A., Crewe R.M. & Solignac M. 2007. Control of reproductive dominance by the thelytoky gene in honeybees. *Biology Letters*, **3**, 292-295.
- Le Conte Y. & Hefetz A. 2008. Primer pheromones in social Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, **53**, 523-542.
- Le Conte Y., Mohammedi A., Robinson G.E. 2001. Primer effects of a brood pheromone on honeybee behavioural development. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **268**, 163-168.
- Lenoir A. 1979. Feeding behaviour in young societies of the ant *Tapinoma erraticum* L.: trophallaxis and polyethism. *Insectes Sociaux*, **26**, 19-37.

- Lenoir A. 1987. Factors determining polyethism in social insects. In: *From individual to collective behavior in social insects : les Treilles Workshop* (Ed. by Pasteels, J. M. & Deneubourg, J. L.), pp. 219-240. Basel: Birkhauser.
- Lenoir A., Fresneau D., Errard C., Hefetz A.. 1999. Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: *Information Processing in Social Insects*, ed. JLDC Detrain, JM Pasteels, pp. 219-37. Basel: Birkhauser Verlag.
- Lenoir A., Cuisset D. & Hefetz A. 2001. Effects of social isolation on hydrocarbon pattern and nestmate recognition in the ant *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, **48**, 101-109.
- Leoncini I., Le Conte Y., Costagliola G., Plettner E., Toth A.L., Wang M.W., Huang Z., Becard J.M., Crauser D., Slessor K.N. & Robinson G.E. 2004. Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **101**, 17559-17564.
- Liebig J., Peeters C., & Hölldobler B. 1999. Worker policing limits the number of reproductives in a ponerine ant. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **266**, 1865-1870.
- Liebig J., Peeters C., Oldham N.J., Markstadter C. & Hölldobler B. 2000. Are variations in cuticular hydrocarbons of queens and workers a reliable signal of fertility in the ant *Harpegnathos saltator*? *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **97**, 4124-4131.
- Liebig J., Monnin T. & Turillazzi S. 2005. Direct assessment of queen quality and lack of worker suppression in a paper wasp. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **272**, 1339-1344.
- Liu Z.B., Bagnères A.G., Yamane S., Wang Q.C. & Kojima J. 2001. Intra-colony, inter-colony and seasonal variations of cuticular hydrocarbon profiles in *Formica japonica* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, **48**, 342-346.
- Lockey K.H. & Metcalfe N.B. 1988. Cuticular hydrocarbons of adult *Himatismus* species and a comparison with 21 other species of adult Tenebrionid beetle using multivariate analysis. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, **91**, 371-382.
- Lumsden C.J., 1982. The social regulation of physical caste: the superorganism revived. *Journal of Theoretical Biology*, **95**, 749-781.
- Lushai G., Loxdale H.D. & Allen J.A. 2003. The dynamic clonal genome and its adaptive potential. *Biological Journal of the Linnean Society*, **79**, 193-208.
- Martin S.J., Beekman M., Wossler T.C. & Ratnieks F.L.W. 2002. Parasitic Cape honeybee workers, *Apis mellifera capensis*, evade policing. *Nature*, **415**, 163-165.

- Martin S.J. & Drijfhout F.P. 2009. Nestmate and task cues are influenced and encoded differently within ant cuticular hydrocarbon profiles. *Journal of Chemical Ecology*, **35**, 368-374
- Martin S.J., Weihao Z. & Drijfhout F.P. 2009. Long-term stability of species-specific cuticular hydrocarbon profiles in hornets. *Biological Journal of the Linnean Society*, (in press).
- Mattila H.R., Burke K.M. & Seeley T.D. 2008. Genetic diversity within honeybee colonies increases signal production by waggle dancing foragers. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **275**, 809-816.
- Mattila H.R. & Seeley T.D. 2007. Genetic diversity in honey bee colonies enhances productivity and fitness. *Science*, **317**, 362-364.
- Maynard Smith J. 1964. Group selection and kin selection. *Nature*, **201**, 1145-1147.
- Maynard-Smith J. 1971. What use is sex? *Journal of Theoretical Biology*, **30**, 319-335.
- Maynard Smith J. 1976. Group selection. *Quarterly Review of Biology*, **51**, 277-283.
- Maynard-Smith J. 1978. *The evolution of sex*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Maynard-Smith J. 1989. *Evolutionary genetics*. Oxford: Oxford University Press.
- McDonald P. & Topoff H. 1985. Social regulation of behavioral development in the ant *Novomessor albiguttatus* (Mayr). *Journal of Comparative Psychology*, **99**, 3-14.
- McInnes D.A. & Tschinkel W.R. 1995. Queen dimorphism and reproductive strategies in the fire ant *Solenopsis geminata* (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **36**, 367-375.
- Michener C.D. 1974. *The Social Behavior of Bees* (Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press).
- Merkle D. & Middendorff M. 2004. Dynamic polyethism and competition for task in threshold reinforcement models of social insects. *Adaptive Behavior*, **12**, 251-262.
- Molina Y. & O'Donnell S. 2009. Worker reproductive competition affects division of labor in a primitively social paperwasp (*Polistes instabilis*). *Insectes Sociaux*, **56**, 14-20.
- Molloy S. 2006. Snapshot of a superorganism. *Nature Reviews Microbiology*, **4**, 490-491.
- Monnin T. 2006. Chemical recognition of reproductive status in social insects. *Annales Zoologici Fennici*, **43**, 515-530.
- Monnin T. & Peeters C. 1999. Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. *Behavioral Ecology*, **10**, 323-332.

- Monnin T. & Ratnieks F.L.W. 2001. Policing in queenless ponerine ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **50**, 97-108.
- Monnin T., Ratnieks F.L.W., Jones G.R. & Beard R. 2002. Pretender punishment induced by chemical signalling in a queenless ant. *Nature*, **419**, 61-65.
- Moore T. & Haig D. 1991. Genomic imprinting in mammalian development - a parental tug-of-war. *Trends in Genetics*, **7**, 45-49.
- Moreau C.S., Bell C.D., Vila R., Archibald S.B. & Pierce N.E. 2006. Phylogeny of the ants: diversification in the age of angiosperms. *Science*, **312**, 101-104.
- Moritz R.F.A. 2002. Population dynamics of the Cape bee phenomenon: the impact of parasitic laying worker clones in apiaries and natural populations. *Apidologie*, **33**, 233-244.
- Moritz R.F.A. & Fuchs S. 1998. Organization of honeybee colonies: characteristics and consequences of a superorganism concept. *Apidologie*, **29**, 7-21.
- Moritz R.F.A., Lattorff H.M.G., Neumann P., Kraus F.B., Radloff S.E. & Hepburn H.R. 2005. Rare royal families in honeybees, *Apis mellifera*. *Naturwissenschaften*, **92**, 488-491.
- Morisita M., Kubota M., Onoyama K., Ogata K., Terayama M., Kondoh M. & Imai H.T. 1989. A guide for the identification of Japanese ants. I. Ponerinae, Cerapachyinae, Pseudomyrmecinae, Dorylinae, and Leptanillinae (Hymenoptera: Formicidae). [en Japonais]. Tokyo: Myrmecological Society of Japan.
- Myerscough M.R. & Oldroyd B.P. 2004. Simulation models of the role of genetic variability in social insect task allocation. *Insectes Sociaux*, **51**, 146-152.
- Müller H.J. 1932. Some genetic aspects of sex. *The American Naturalist*, **66**, 118-138.
- Müller H.J. 1964. The relation of recombination to mutational advance. *Mutational Research*, **1**, 2-9.
- Naug D. & Gadagkar R. 1998. Division of labor among a cohort of young individuals in a primitively eusocial wasp. *Insectes Sociaux*, **45**, 247-254.
- Neems R.M. & Butlin R.K. 1995. Divergence in cuticular hydrocarbons between parapatric subspecies of the meadow grasshopper, *Chorthippus parallelus* (Orthoptera, Acrididae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **54**, 139-149.
- Nicolson S.W. 2009. Water homeostasis in bees, with the emphasis on sociality. *The Journal of Experimental Biology*, **212**, 429-434.
- Nielsen J., Boomsma J.J., Oldham N.J., Petersen H.C. & Morgan E.D. 1999. Colony-level and season-specific variation in the cuticular hydrocarbon profiles of individual workers in the ant *Formica truncorum*. *Insectes Sociaux*, **58**, 58-65.

- Nijhout H.F. 2003. Development and evolution of adaptive polyphenisms. *Evolution & Development*, **5**, 9-18.
- Nijhout H.F. & Wheeler D.E. 1982. Juvenile hormone and the physiological-basis of insect polymorphisms. *Quarterly Review of Biology*, **57**, 109-133.
- O'Donnell S. 1998a. Genetic effects on task performance, but not on age polyethism, in a swarm-founding eusocial wasp. *Animal Behaviour*, **55**, 417-426.
- O'Donnell S. 1998b. Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annual Review of Entomology*, **43**, 323-346.
- O'Donnell S. 1998c. Effects of experimental forager removals on division of labor in the primitively eusocial wasp *Polistes instabilis* (Hymenoptera: Vespidae). *Behaviour*, **135**, 173-193.
- O'Donnell S. 1998d. Dominance and polyethism in the eusocial wasp *Mischocyttarus mastigophorus* (Hymenoptera: Vespidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **43**, 327-331.
- O'Donnell S. 2001. Worker biting interactions and task performance in a swarm-founding eusocial wasp (*Polybia occidentalis*, Hymenoptera: Vespidae). *Behavioral Ecology*, **12**, 353-359.
- O'Donnell, S. 2003. The development of biting interactions and task performance in a tropical eusocial wasp. *Behaviour*, **140**, 255-267.
- O'Donnell S. 2006. Polybia wasp biting interactions recruit foragers following experimental worker removals. *Animal Behaviour*, **71**, 709-715.
- O'Donnell S. & Foster R.L. 2001. Thresholds of response in nest thermoregulation by worker bumble bees, *Bombus bifarius nearcticus* (Hymenoptera: Apidae). *Ethology*, **107**, 387-399.
- Ogata K. 1983. The ant genus *Cerapachys* F. Smith of Japan, with description of a new species (Hymenoptera, Formicidae). *Esakia*, **20**, 131-137.
- Ohkawara K., Nakayama M., Satoh A., Trindl A. & Heinze J. 2006. Clonal reproduction and genetic caste differences in a queen-polymorphic ant, *Vollenhovia emeryi*. *Biology Letters*, **2**, 359-363.
- Oldroyd B.P. 2002. The Cape honeybee: an example of a social cancer. *Trends in Ecology and Evolution*, **17**, 249-251.
- Oldroyd, B.P. & Fewell, J.H. 2007. Genetic diversity promotes homeostasis in insect colonies. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**, 408-413.
- Oldroyd B.P., Sylvester H.A., Wongsiri S. & Rinderer T.E. 1994. Task specialization in a wild-bee, *Apis florea* (Hymenoptera, Apidae), revealed by RFLP banding. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **34**, 25-30.

- Oldroyd B.P., Allsopp M.H., Gloag R.S., Lim J., Jordan L.A. & Beekman M. 2008. Thelytokous parthenogenesis in unmated queen honeybees (*Apis mellifera capensis*): central fusion and high recombination rates. *Genetics*, **180**, 359-366.
- Oliveira P.S. & Hölldobler B. 1990. Dominance orders in the ponerine ant *Pachycondyla apicalis* (Hymenoptera, Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **27**, 385-393.
- Oster G.F. & Wilson E.O. 1978. *Caste and Ecology in the Social Insects* (Princeton: Princeton University Press).
- Otto S.P. 2009. The evolutionary enigma of sex. *The American Naturalist*, **174**, S1-S14.
- Otto S.P. & Lenormand T. 2002. Resolving the paradox of sex and recombination. *Nature Reviews Genetics*, **3**, 252-261.
- Page R.E., Robinson G.E., Fondrk M.K. & Nasr M.R. 1995. Effects of worker genotypic diversity on honey-bee colony development and behaviour (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **36**, 387-396.
- Palmer K.A. & Oldroyd B.P. 2000. Evolution of multiple mating in the genus *Apis*. *Apidologie*, **31**, 235-248.
- Palmer K.A. & Oldroyd B.P. 2003. Evidence for intra-colonial genetic variance in resistance to American foulbrood of honey bees (*Apis mellifera*): further support for the parasite/pathogen hypothesis for the evolution of polyandry. *Naturwissenschaften*, **90**, 265-268.
- Pankiw T., Page R.E. & Fondrk M.K. 1998. Brood pheromone stimulates pollen foraging in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **44**, 193-198.
- Pankiw, T. 2004. Worker honey bee pheromone regulation of foraging ontogeny. *Naturwissenschaften*, **91**, 178-181.
- Passera L. 1969. Biologie de la reproduction chez *Plagiolepis pygmaea* Latr. et ses deux parasites sociaux *Plagiolepis grassei* Le Mas. et Pas. et *Plagiolepis xene* St. (Hymenoptera : Formicidae). *Annales des Sciences Naturelles-Zoologie et Biologie Animale*, 12e sér., **11**, 327-482.
- Passera L. 1974. Différenciation des soldats chez la fourmi *Pheidole pallidula* Nyl. (Formicidae Myrmicinae). *Insectes Sociaux*, **21**, 71-86.
- Passera L. 1980. La fonction inhibitrice des reines de la fourmi *Plagiolepis pygmaea* Latr.: rôle des phéromones. *Insectes Sociaux*, **27**, 212-225.
- Passera L. & Suzzoni J.P. 1979. Le rôle de la reine de *Pheidole pallidula* (Nyl.) (Hymenoptera : Formicidae) dans la sexualisation du couvain après traitement par l'hormone juvénile. *Insectes Sociaux*, **26**, 343-353.

- Passera L., Roncin E., Kaufmann B. & Keller L. 1996 Increased soldier production in ant colonies exposed to intraspecific competition. *Nature*, **397**, 630-631.
- Passera L. & Aron S. 2005. *Les fourmis : comportement, organisation sociale et évolution*. Les Presses scientifiques du CNRC, Ottawa, Canada. 480pp.
- Pearcy M., Aron S., Doums C. & Keller L. 2004. Conditional use of sex and parthenogenesis for worker and queen production in ants. *Science*, **306**, 1780-1783.
- Pearcy M., Hardy O. & Aron S. 2006. Thelytokous parthenogenesis and its consequences on inbreeding in an ant. *Heredity*, **96**, 377-382.
- Peck J.R., Yearsley J. & Barreau G. 1999. The maintenance of sexual reproduction in a structured population. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **266**, 1857-1863.
- Peeters C. 1991. Ergatoid queens and intercastes in ants: two distinct adult forms which look morphologically intermediate between workers and winged queens. *Insectes Sociaux*, **38**, 1-15.
- Peeters C. & Ito F. 2001. Colony dispersal and the evolution of queen morphology in social Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, **46**, 601-630.
- Peeters C., Monnin T. & Malosse C. 1999. Cuticular hydrocarbons correlated with reproductive status in a queenless ant. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **266**, 1323-1327.
- Peeters C. & Tsuji K. 1993. Reproductive conflict among ant workers in *Diacamma sp.* from Japan- dominance and oviposition in the absence of the gamergate. *Insectes Sociaux*, **40**, 119-136.
- Pettis J.S., Westcott L.C. & Winston M.L. 1998. Balling behaviour in the honey bee in response to exogenous queen mandibular gland pheromone. *Journal of Apicultural Research*, **37**, 125-131.
- Plowright R.C. & Plowright C.M.S. 1988. Elitism in social insects: A positive feedback model. In: *Interindividual Behavioral Variability in Social Insects*, R.L. Jeanne, ed. (Boulder, CO: Westview Press), pp. 419-431.
- Powell S. & Tschinkel W. 1999. Ritualized conflict in *Odontomachus brunneus* and the generation of interaction-based task allocation: a new organizational mechanism in ants. *Animal Behaviour*, **58**, 965-972.
- Premnath S., Sinha A. & Gadagkar R. 1996. Dominance relationship in the establishment of reproductive division of labour in a primitively eusocial wasp (*Ropalidia marginata*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **39**, 125-132.
- Queller D.C. & Strassmann J.E. 1998. Kin selection and social insects. *Bioscience*, **48**, 165-175.

- Queller D.C. & Strassmann J.E. 2002. The many selves of social insects. *Science*, **296**, 311-313.
- Queller D.C., Zacchi F., Cervo R., Turillazzi S., Henshaw M.T., Santorelli L.A. & Strassmann J.E. 2000. Unrelated helpers in a social insect. *Nature*, **405**, 784-787.
- Rabeling C., Brown J.M. & Verhaagh M. 2008. Newly discovered sister lineage sheds light on early ant evolution. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **105**, 14913-14917.
- Ratnieks F.L.W. 1993. Egg-laying, egg-removal, and ovary development by workers in queenright honey-bee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **32**, 191-198.
- Ratnieks F.L.W. & Reeve H.K. 1992. Conflict in single-queen hymenopteran societies: the structure of conflict and processes that reduce conflict in advanced eusocial species. *Journal of Theoretical Biology*, **158**, 33-65.
- Ravary F. 2003. Comportement et organisation sociale de la fourmi parthénogénétique *Cerapachys biroi* (forel). pp. 202. Thèse. Université paris 13.
- Ravary F. & Jaisson P. 2002. The reproductive cycle of thelytokous colonies of *Cerapachys biroi* Forel (Formicidae, Cerapachyinae). *Insectes Sociaux*, **49**, 114-119.
- Ravary F. & Jaisson P. 2004. Absence of individual sterility in thelytokous colonies of the ant *Cerapachys biroi* Forel (Formicidae, Cerapachyinae). *Insectes Sociaux*, **51**, 67-73.
- Ravary F., Jahyny B. & Jaisson P. 2006. Brood stimulation controls the phasic reproductive cycle of the parthenogenetic ant *Cerapachys biroi*. *Insectes Sociaux*, **53**, 20-26.
- Reeve H.K. 1991. Polistes. In: *The Social Biology of Wasps* (Ross, K.G. and Matthews, R.W., Eds.). Comstock, Ithaca. pp 99-148.
- Reeve H.K. & Hölldobler B. 2007. The emergence of a superorganism through intergroup competition. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **104**, 9736-9740.
- Rembold H., Czoppelt C. & Rao P.J. 1974. Effect of juvenile hormone treatment on caste differentiation in the honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology*, **20**, 1193-1202.
- Rheindt F.E., Strehl C.P. & Gadau J. 2005. A genetic component in the determination of worker polymorphism in the Florida harvester ant *Pogonomyrmex badius*. *Insectes Sociaux*, **52**, 163-168.
- Rissing S.W., Pollock G.B., Higgins M.R., Haven R.H. & Smith D.R. 1989. Foraging specialization without relatedness or dominance among co-founding ant queens. *Nature*, **338**, 420-422.
- Robinson G.E. 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annual Review of Entomology*, **37**, 637-665.

- Robinson G.E. & Page R.E. 1988. Genetic determination of guarding and undertaking in honey-bee colonies. *Nature*, **333**, 356-358.
- Robinson G.E. & Page R.E. 1989. Genetic determination of nectar foraging, pollen foraging, and nest-site scouting in honey bee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **24**, 317-323.
- Robinson G.E. & Page R.E. 1995. Genotypic constraints on plasticity for corpse removal in honey-bee colonies. *Animal Behaviour*, **49**, 867-876.
- Robinson G.E., Page R.E. & Huang Z.Y. 1994. Temporal polyethism in social insects is a developmental process. *Animal Behaviour*, **48**, 467-469.
- Robinson G.E., Page R.E., Strambi C. & Strambi A. 1992. Colony integration in honey bees: mechanisms of behavioral reversion. *Ethology*, **90**, 336-348.
- Röseler P.F. & Röseler I. 1974. Morphologische und physiologische Differenzierung der Kasten bei den Hummelarten *Bombus hyponorum* (L.) und *Bombus terrestris* (L.). *Zoologische Jahrbücher Physiologische*, **78**, 175-198.
- Rosengaus R.B., Maxmen A.B., Coates L.E. & Traniello J.F.A. 1998. Disease resistance: a benefit of sociality in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Isoptera: Termopsidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **44**, 125-134.
- Rosengaus R.B., Jordan C., Lefebvre M.L. & Traniello J.F.A. 1999. Pathogen alarm behavior in a termite: a new form of communication in social insects. *Naturwissenschaften*, **86**, 544-548.
- Rosset H., Keller L. & Chapuisat M. 2005. Experimental manipulation of colony genetic diversity had no effect on short-term task efficiency in the Argentine ant *Linepithema humile*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **58**, 87-98.
- Schilder K. 1999. Safer without sex? Thelytokous parthenogenesis and regulation of reproduction in the ant *Platythyrea punctata*. pp. 160. Thèse. Würzburg: Julius-Maximilians University.
- Schilder K., Heinze J. & Hölldobler B. 1999a. Colony structure and reproduction in the thelytokous parthenogenetic ant *Platythyrea punctata* (F. Smith) (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, **46**, 150-158.
- Schilder K., Heinze J., Gross R. and Hölldobler B. 1999b. Microsatellites reveal clonal structure of populations of the thelytokous ant *Platythyrea punctata* (F. Smith) (Hymenoptera; Formicidae). *Molecular Ecology*, **8**, 1497-1507.
- Schlichting C.D. & Pigluicci M. 1998. *Phenotypic evolution: A reaction norm perspective*. Sinauer, Sunderland, MA. 387pp.
- Schmickl T. & Crailsheim K. 2004. Inner nest homeostasis in a changing environment with special emphasis on honey bee brood nursing and pollen supply. *Apidologie*, **35**, 249-263.

- Schmid-Hempel P. 1992. Worker castes and adaptive demography. *Journal of Evolutionary Biology*, **5**, 1-12.
- Schneirla T.C. 1957. A comparison of species and genera in the ant subfamily Dorylinae with respect to functional pattern. *Insectes Sociaux*, **4**, 259-298.
- Schneirla T.C. 1971. *Army ants. A study in social organization*. (Edited by H. R. Topoff.). San Francisco: W. H. Freeman & Co.
- Schwander T., Rosset H. & Chapuisat M. 2005. Division of labor and worker size polymorphism in ant colonies: the impact of social and genetic factors. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **59**, 215-221.
- Schwander T., Humbert J.Y., Brent C.S., Cahan S.H., Chapuis L., Renai E. & Keller L. 2008. Maternal effect on female caste determination in a social insect. *Current Biology*, **18**, 265-269.
- Schwander T. & Keller L. 2008. Genetic compatibility affects queen and worker caste determination. *Science*, **322**, 522.
- Seeley T.D. 1989. The honey bee colony as a superorganism. *American Scientist*, **77**, 546-553.
- Seeley T.D. & Buhrman S.C. 1999. Group decision making in swarms of honey bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **45**, 19-31.
- Seeley T.D. & Heinrich B. 1981. Regulation of temperature in the nests of social insects. In: *Insect Thermoregulation*, B. Heinrich, Ed. (John Wiley and Sons, New York) pp.159-234.
- Sendova-Franks A.B. & Franks N.R. 1995. Division of labour in a crisis: task allocation during colony emigration in the ant *Leptothorax unifasciatus* (Latr.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **36**, 269-282.
- Sherman P.W. 1979. Insect chromosome-numbers and eusociality. *The American Naturalist*, **113**, 925-935.
- Sherman P.W., Seeley T.D. & Reeve H.K. 1988. Parasites, pathogens and polyandry in social hymenoptera. *The American Naturalist*, **131**, 602-610.
- Slessor K.N., Winston M.L. & Le Conte Y. 2005. Pheromone communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Chemical Ecology*, **31**, 2731-2745.
- Smith A.A., Hölldobler B. & Liebig J. 2008. Hydrocarbon signals explain the pattern of worker and egg policing in the ant *Aphaenogaster cockerelli*. *Journal of Chemical Ecology*, **34**, 1275-1282.
- Smith A.A., Hölldobler B. & Liebig J. 2009. Cuticular hydrocarbons reliably identify cheaters and allow enforcement of altruism in a social insect. *Current Biology*, **19**, 78-81.

- Smith C.R., Anderson K.E., Tillberg C.V., Gadau J. & Suarez AV. 2008a. Caste determination in a polymorphic social insect: nutritional, social and genetic factors. *The American Naturalist*, **172**, 497-507.
- Smith C.R., Toth A.L., Suarez A.V. & Robinson G.E. 2008b. Genetic and genomic analyses of the division of labour in insect societies. *Nature Reviews genetics*, **9**, 735-748.
- Snyder L.E. 1992. The genetics of social behavior in a polygynous ant. *Naturwissenschaften*, **79**, 525-527.
- Sommer K. & Hölldobler B. 1992. Coexistence and dominance among queens and mated workers in the ant *Pachycondyla tridentate*. *Naturwissenschaften*, **79**, 470-472.
- Soroker V., Fresneau D. & Hefetz A. 1998. Formation of colony odor in ponerine ant *Pachycondyla apicalis*. *Journal of Chemical Ecology*, **24**, 1077-1090.
- Southwick E.E. 1991. The colony as a thermoregulating superorganism. In: *The behaviour and physiology of bees*, Goodman L.J., Fischer R.C. (Eds.), C.A.B. International, Wallingford, pp. 28-47.
- Stabentheiner A., Kovac H. & Schmaranzer S. 2007. Thermal behaviour of honeybees during aggressive interactions. *Ethology*, **113**, 995-1006.
- Starks P.T. & Gilley D.C. 1999. Heat shielding: a novel method of colonial thermoregulation in honey bees. *Naturwissenschaften*, **86**, 438-440.
- Starks P.T., Blackie C.A. & Seeley T.D. 2000. Fever in honey bee colonies. *Naturwissenschaften*, **87**, 229-231.
- Starks P.T., Johnson R.N., Siegel A.J. & Decelle M.M. 2005. Heat shielding: a task for youngsters. *Behavioral Ecology*, **16**, 128-132.
- Stow A., Briscoe D., Gillings M. *et al.* 2007. Antimicrobial defences increase with sociality in bees. *Biology Letters*, **3**, 422-424.
- Strassmann J. 2001. The rarity of multiple mating by females in the social Hymenoptera. *Insectes Sociaux*, **48**, 1-13.
- Stuart R.J. & Page R.E. 1991. Genetic component to division of labor among workers of a Leptothoracine ant. *Naturwissenschaften*, **78**, 375-377.
- Suzzoni J.P., Passera L. & Strambi A. 1980. Ecdysteroid titer and caste determination in the ant *Pheidole pallidula* (Nyl.) (Hym., Form.). *Experientia*, **36**, 1228-1229.
- Szathmary E. & Maynard Smith J. 1995. The major evolutionary transitions. *Nature*, **374**, 227-231.
- Tabony J. 2006. Microtubules viewed as molecular ant colonies. *Biology of the Cell*, **98**, 603-617.

- Tate A.J., Fischer H., Leigh A.E. & Kendrick K.M. 2006. Behavioural and neurophysiological evidence for face identity and face emotion processing in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **361**, 2155-2172.
- Tentschert J., Bestmann H.J. & Heinze J. 2002. Cuticular compounds of workers and queens in two *Leptothorax* ant species - a comparison of results obtained by solvent extraction, solid sampling, and SPME. *Chemoecology*, **12**, 15-21.
- Terayama M., Kubota S., Sakai H. & Kawazoe A. 1988. Rediscovery of *Cerapachys sauteri* Forel, 1913 (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) from Taiwan, with Notes on the Taiwanese Species of the Genus *Cerapachys*. *Bulletin of the Biogeographical Society of Japan*, **43**, 35-38.
- Terron G. 1977. Evolution des colonies de *Tetraponera anthracina Santschi* (Formicidae Pseudomyrmecinae) avec reines. *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, **111**, 115-181.
- Theraulaz G., Bonabeau E. & Deneubourg J.L. 1998. Response threshold reinforcements and division of labour in insect societies. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **265**, 327-332.
- Tibbetts E.A. 2002 Visual signals of individual identity in the wasp *Polistes fuscatus*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **269**, 1423-1428.
- Tofts C. 1993. Algorithms for task allocation in ants. (A study of temporal polyethism: theory). *Bulletin of Mathematical Biology*, **55**, 891-918.
- Tofts C. & Franks N.R. 1992. Doing the right thing: ants, honeybees and naked mole-rats. *Trends in Ecology & Evolution*, **7**, 346-349.
- Toth A.L. & Robinson G.E. 2005. Worker nutrition and division of labour in honeybees. *Animal Behaviour*, **69**, 427-435.
- Tofilski A. 2002. Influence of age polyethism on longevity of workers in social insects. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **51**, 234-237.
- Traniello J.F.A., Rosengaus R.B. & Savoie K. 2002. The development of immunity in a social insect: Evidence for the group facilitation of disease resistance. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **99**, 6838-6842.
- Tripet F. & Nonacs P. 2004. Foraging for work and age-based polyethism: the role of age and previous experience on task choice in ants. *Ethology*, **110**, 863-877.
- Trivers R.L. & Hare H. 1976. Haplodiploidy and the evolution of the social insects. *Science*, **191**, 249-263.
- Trunzer B., Heinze J. & Hölldobler B. 1998. Cooperative colony founding and experimental primary polygyny in the ponerine ant *Pachycondyla villosa*. *Insectes Sociaux*, **45**, 267-276.

- Tsuji K. 1988. Obligate parthenogenesis and reproductive division of labor in the Japanese queenless ant *Pristomyrmex pungens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **23**, 247-255.
- Tsuji K. 1990. Reproductive division of labour related to age in the Japanese queenless ant, *Pristomyrmex pungens*. *Animal Behaviour*, **39**, 843-849.
- Tsuji K. 1994. Inter-colonial selection for the maintenance of cooperative breeding in the ant *Pristomyrmex pungens*: a laboratory experiment. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **35**, 109-113.
- Tsuji K. 1995. Reproductive conflicts and levels of selection in the ant *Pristomyrmex pungens*: contextual analysis and partitioning of covariance. *The American Naturalist*, **146**, 586-607.
- Tsuji K., Egashira K. & Hölldobler B. 1999. Regulation of worker reproduction by direct physical contact in the ant *Diacamma* sp. from Japan. *Animal Behaviour*, **58**, 337-343.
- Tsuji K. & Yamauchi K. 1995. Production of females by parthenogenesis in the ant *Cerapachys biroi*. *Insectes Sociaux*, **42**, 333-336.
- Van Valen L.M. 1973. A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*, **1**, 1-30.
- Vargo E.L. & Passera L. 1991. Pheromonal and behavioral queen control over the production of gynes in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **28**, 161-169.
- Vargo E.L. & Passera L. 1992. Gyne development in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis*: role of overwintering and queen control. *Physiological. Entomology*, **17**, 193-201.
- Verma L.R. & Ruttner F. 1983. Cytological analysis of the thelytokous parthenogenesis in the Cape honeybee (*Apis mellifera capensis* Escholtz). *Apidologie*, **14**, 47-57.
- Victoir K. & Dujardin J.C. 2002. How to succeed in parasitic life without sex? Asking *Leishmania*. *Trends in Parasitology*, **18**, 81-85.
- Volny V.P. & Gordon D.M. 2002. Genetic basis for queen-worker dimorphism in a social insect. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **99**, 6108-6111.
- Wagner D., Tissot M., Cuevas W. & Gordon D.M. 2000. Harvester ants utilize cuticular hydrocarbons in nestmate recognition. *Journal of Chemical Ecology*, **26**, 2245-2257.
- Weidenmüller A. 2004. The control of nest climate in bumblebee (*Bombus terrestris*) colonies: interindividual variability and self reinforcement in fanning response. *Behavioral Ecology*, **15**, 120-128.
- Weismann A. 1889. The significance of sexual reproduction in the theory of natural selection. In: *Essays upon heredity and kindred biological problems*. E.B. Poulton, S. Schönland & A.E. Shipley, eds. Clarendon, Oxford. Pages: 251-332.

- Wenseleers T., Hart A.G., Ratnieks F.L.W. & Quezada-Euan J.J.G. 2004a Queen execution and caste conflict in the stingless bee *Melipona beecheii*. *Ethology*, **110**, 725-736.
- Wenseleers T., Helanterä H., Hart A. & Ratnieks F.L.W. 2004b. Worker reproduction and policing in insect societies: an ESS analysis. *Journal of Evolutionary Biology*, **17**, 1035-1047.
- West S.A., Lively C.M. & Read A.F. 1999. A pluralist approach to sex and recombination. *Journal of Evolutionary Biology*, **12**, 1003-1012.
- West S.A., Griffin A.S. & Gardner A. 2007a. Social semantics: altruism, cooperation, mutualism, strong reciprocity and group selection. *Journal of Evolutionary Biology*, **20**, 415-432.
- West S.A., Griffin A.S. & Gardner A. 2007b. Evolutionary explanations for cooperation. *Current Biology*, **17**, R661-672.
- West S.A., Griffin A.S. & Gardner A. 2008. Social semantics: how useful has group selection been? *Journal of Evolutionary Biology*, **21**, 374-385.
- West-Eberhard M.J. 1981. Intragroup selection and the evolution of insect societies. In: *Natural selection and social behavior* (Ed. by D. W. Tinkle), pp. 3-17. Concord: Chiron Press.
- West-Eberhard M.J. 2003. *Developmental plasticity and evolution*. Oxford, Oxford Univ. Press, U.K.
- Wheeler W.M., 1911. The ant colony as an organism. *Journal of Morphology*, **22**, 307-325.
- Wheeler W.M., 1926. *Les sociétés d'Insectes. Leur Origine, leur Evolution*. Gaston Douin, Paris.
- Wheeler D.E. & Nijhout H.F. 1983. Soldier determination in *Pheidole bicarinata*: effect of methoprene on caste and size within castes. *Journal of Insect Physiology*, **29**, 847-854.
- Wheeler D.E. & Nijhout H.F. 1984. Soldier determination in the ant *Pheidole bicarinata*: inhibition by adult soldiers. *Journal of Insect Physiology*, **30**, 127-135.
- Wheeler D.E. 1986. Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *The American Naturalist*, **128**, 13-34.
- Wheeler D.E. 1991. The developmental basis of worker caste polymorphism in ants. *The American Naturalist*, **138**, 1218-1238.
- Whitfield C.W., Cziko A.M. & Robinson G.E. 2003. Gene expression profiles in the brain predict behavior in individual honey bees. *Science*, **302**, 296-299.
- Wiernasz D.C., Hines J., Parker D.G. & Cole B.J. 2008. Mating for variety increases foraging activity in the harvester ant, *Pogonomyrmex occidentalis*. *Molecular Ecology*, **17**, 1137-1144.

- Wiernasz D.C., Perroni D.L. & Cole B.J. 2004. Polyandry and fitness in the western harvester ant, *Pogonomyrmex occidentalis*. *Molecular Ecology*, **13**, 1601-1606.
- Wilfert L., Gadau J. & Schmid-Hempel P. 2007. Variation in genomic recombination rates among animal taxa and the case of social insects. *Heredity*, **98**, 189-197.
- Wilfert L. & Schmid-Hempel P. 2008. The genetic architecture of susceptibility to parasites. *BMC Evolutionary Biology*, **8**, 187.
- Williams G.C. 1966. *Adaptation and Natural Selection*. Princeton: Princeton University Press.
- Williams G.C. 1975. *Sex and evolution*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Williams G.C. 1986a. A defense of reductionism in evolutionary biology. In: *Oxford surveys in evolutionary biology*. Vol 2. (Dawkins, R. & Ridley, M., eds) pp. 1-27. Oxford, England: Oxford University Press.
- Williams G.C. 1986b. Review of E. Sober's The Nature of Selection. *Biology & Philosophy*, **1**, 114-122.
- Wilson D.S. & Sober E. 1989. Reviving the superorganism. *Journal of Theoretical Biology*, **136**, 337-356.
- Wilson E.O. 1953. The origin and evolution of polymorphism in ants. *Quarterly Review of Biology*, **28**, 136-156.
- Wilson E.O. 1958. Observations on the behavior of the cerapachyine ants. *Insectes Sociaux*, **57**, 129-140.
- Wilson E.O. 1971. *The Insect Societies* (Cambridge, MA: Harvard University Press).
- Wilson E.O. 1985. The sociogenesis of insect colonies. *Science*, **228**, 1489-1495.
- Wilson E.O. 1983. Caste and division of labor in leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). 3. Ergonomic resiliency in foraging by *Atta cephalotes*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **7**, 143-156.
- Winston M.L. 1987. *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Winston M.L. & Slessor K.N. 1998. Honey bee primer pheromones and colony organization: gaps in our knowledge. *Apidologie*, **29**, 81-95.
- Winter U. & Buschinger A. 1986. Genetically mediated queen polymorphism and caste determination in the slave-making ant, *Harpagoxenus sublaevis* (Hymenoptera, Formicidae). *Entomologia Generalis*, **11**, 125-137.

- Wirtz P. & Beetsma J. 1972. Induction of caste differentiation in the honey-bee (*Apis mellifera*) by juvenile hormone. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **15**, 517-520.
- Wynne-Edwards V.C. 1962. *Animal dispersion in relation to social behavior*. Edinburgh: Oliver and Boyd.
- Wynne-Edwards V.C. 1986. *Evolution through group selection*. Oxford: Blackwell.

Collaboration

Article 4: Blacher, P., **Lecoutey, E.**, Fresneau, D. & Nowbahari, E. 2009. Reproductive hierarchies and status discrimination in orphaned colonies of *Pachycondyla apicalis* ants. *Animal behaviour* (sous presse)

Encadrement

Master 2 Recherche d’Ethologie de Farouk Bourogâa (2009). Les mécanismes régissant le budding chez la fourmi parthénogénétique *Cerapachys biroi*.

Résumé:

Le succès écologique remarquable des insectes sociaux est le fruit d'une coopération basée notamment sur une division du travail dans laquelle les individus de la société sont répartis en (sous-)castes. Les mécanismes pré-imaginaux et imaginaux de différenciation sociale, à l'origine respectivement d'une spécialisation morphologique et comportementale, ont été étudiés chez la fourmi *Cerapachys biroi*. Les colonies de *C. biroi* présentent la particularité de ne posséder ni reines ni mâles. Une reproduction asexuée, par parthénogenèse thélytoque, est alors distribuée entre les ouvrières (à fertilité réduite) et les quelques intercastes (spécialisées dans la ponte) qui composent ces colonies. L'étude des mécanismes de différenciation indique que les sociétés de *C. biroi* procèdent à une régulation adaptative du ratio intercastes/ouvrières: globalement, les colonies stériles favorisent la production d'intercastes tandis que les colonies fertiles contraignent les larves à se développer en ouvrières. Chez cette espèce où la reproduction est essentiellement assurée par des ouvrières à fertilité limitée, un tel mécanisme autorégulé restaure la fertilité coloniale ou favorise le développement de la société. Grâce à ses caractéristiques particulières, la fourmi *C. biroi* a permis de montrer que l'expérience individuelle pouvait, à elle seule, générer une division du travail durable entre des ouvrières identiques. L'analyse des profils cuticulaires a révélé que les sociétés de *C. biroi*, ainsi que les différentes (sous-)castes qu'elles contiennent, présentent des signatures chimiques différentes.

Sur la base du concept de super-organisme, une comparaison des mécanismes de différenciation en jeu chez les cellules immunitaires et les insectes sociaux est finalement présentée. Cette démarche novatrice, qui conduit à l'élaboration d'un nouveau modèle de différenciation en immunologie, démontre tout l'intérêt heuristique potentiel d'une telle approche en biologie.

Social differentiation and its regulation in a clone: the case of the parthenogenetic ant *Cerapachys biroi*

Abstract:

The striking ecological success of social insects results from an extreme cooperation notably based on a division of labour. This labour division is achieved either by morphological specialization or by behavioural task specialization of colony members. The preimaginal and imaginal mechanisms leading to these (sub)caste differentiations have been investigated in the ant *Cerapachys biroi*. In this species, there are neither queens nor males. Within a colony, reproduction is evenly distributed among all workers and intercastes through thelytokous parthenogenesis. Workers reproduce in their youth, before ceasing as they become foragers, while intercastes display higher and lasting laying capacities. The study of caste differentiation showed that, faced with colonial sterility, societies of *C. biroi* alter caste ratios by considerably increasing the production of intercastes. In fertile conditions, larval development is constrained to worker fate by a contact pheromone probably applied during brood care. In this species in which reproduction mainly relies on young workers with finite fertility, an adaptive self-regulated mechanism of caste regulation thus allows to restore colonial fertility or to enhance colony growth. Furthermore, the singular traits exhibited by *C. biroi* ants have allowed to show that individual experience alone can generate a lasting labour division among similar workers.

Moreover, the cuticular profile analyses revealed that *C. biroi* colonies present different chemical signature. This also turned to be true for the different (sub)castes of this species.

Finally, according to the superorganism paradigm, the differentiation mechanisms in T cells and in social insects are compared. This unprecedented analysis gives rise to a new model for T cell differentiation and thus points out the heuristic significance for such a cross-disciplinary approach in biology.

Discipline: Ethologie

Mots-clés: *Cerapachys biroi*, insectes sociaux, différenciation, caste, division du travail, expérience, seuil de réponse, comportement, parthénogenèse thélytoque, hydrocarbures cuticulaires, lymphocyte T