

Les relations jeunes-adultes chez les fourmis : sollicitations alimentaires des larves de l'espèce Ectatomma tuberculatum

Matilde Sauvaget

▶ **To cite this version:**

Matilde Sauvaget. Les relations jeunes-adultes chez les fourmis : sollicitations alimentaires des larves de l'espèce Ectatomma tuberculatum. Autre. Université Sorbonne Paris Cité, 2017. Français. NNT : 2017USPCD053 . tel-02272571

HAL Id: tel-02272571

https://theses.hal.science/tel-02272571

Submitted on 27 Aug 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ PARIS 13
Ecole Doctorale Galilée

THÈSE

présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS 13
Discipline : Ethologie

par

Matilde SAUVAGET

Les relations jeunes-adultes chez les fourmis : sollicitations alimentaires des larves de l'espèce *Ectatomma tuberculatum*

Soutenue le 8 février 2017 devant le jury composé de :

Maria Cristina Lorenzi	Professeur (Université Paris 13)	Président
Mathieu Molet	Maître de conférences (Université Pierre et Marie Curie)	Rapporteur
Claire Detrain	Directrice de recherche (Université Libre de Bruxelles)	Rapporteur
Gérard Leboucher	Professeur (Université Paris 10)	Examinateur
Dominique Fresneau	Professeur (Université Paris 13)	Examinateur (Directeur de thèse)
Renée Fénéron	Maître de conférences (Université Paris 13)	Examinateur (Encadrant de thèse)

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée, E.A. 4443

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon jury pour avoir accepté de juger mon travail de thèse.

Je remercie mes encadrants, qui ont opté pour une division du travail. Je remercie
Dominique Fresneau qui a permis la fondation et l'achèvement de cette thèse,
Renée Fénéron qui s'est investie suite à mes quémandes, conformément aux intérêts en
fitness prédits par les théories sur les relations doctorant-encadrant
et Fabrice Savarit qui est intervenu dans le système de communication.

Je remercie spécialement les personnes qui ont accepté de relire des parties de cette thèse et sans qui je n'aurais pu terminer cette thèse dans les délais : Stéphane Chameron, Heiko Rödel, Tatiana Forestier, Nicolas Châline et Chantal Poteaux.

Je remercie tous les membres, anciens membres et stagiaires du LEEC
qui m'ont aidée au cours de cette thèse et en particulier
Stéphane, Boris, Margot, Marjorie, Tatiana, Paul, Aurélie, Léa, Othman,
Chantal, Emilie, Chloé, Heiko, Serafino, Gilles, Nicolas, David...
Je remercie également les personnes en dehors du LEEC qui m'ont aidée sur le terrain,
Mathieu, Julien, Franck en Australie et Jean-Paul, Gabriela au Mexique.

Je remercie mes parents et mon frangin pour leur soutien inconditionnel.
Je remercie ma famille et mes amis.
Enfin, mille mercis ne suffiraient pas pour celui qui m'a soutenue
et aidée chaque jour de cette thèse.

Sommaire

Introduction 7

A. Succès reproducteur, notion clé du vivant 10

B. Communication animale 11

1. Communication, signal, indice 11
2. L'honnêteté de la communication 13

C. Investissement parental et quémandes 14

1. Investissement parental au cœur des relations familiales 14
2. Les quémandes comme communication honnête 17

D. Comportements de quémandes avec une attention particulière pour les quémandes chez les insectes 18

1. Les quémandes induisent un apport alimentaire 19
2. Les quémandes sont liées au besoin 23

E. Particularités du modèle fourmis 25

1. Eusocialité, origines et implications 25
2. Déterminisme des castes 27
3. Division du travail entre ouvrières 28
4. Organisation spatiale de la colonie et du couvain 29
5. Soins aux larves et quémandes alimentaires des larves 30

F. Objectifs de la thèse et organisation du manuscrit 33

Présentation du modèle 37

Chapitre 1 : Influences de l'état nutritionnel et du stade de développement sur les mouvements larvaires et l'apport alimentaire par les ouvrières 53

Chapitre 2 : Interactions sociales et organisation spatiale dans le contexte de l'apport alimentaire aux larves par les ouvrières 77

Chapitre 3 : Influences de la caste des larves femelles sur les apports alimentaires 99

Chapitre 4 : Odeurs des larves selon leur état nutritionnel et influence sur les ouvrières 115

Discussion..... 133

A. Prédictions des modèles de quémandes honnêtes 135

B. Les quémandes des larves de fourmi 137

C. Organisation sociale et apport alimentaire 139

1. Organisation spatiale et distribution alimentaire 139
2. Division du travail et approvisionnement alimentaire 143
3. Communication multimodale 145

D. Conflit ou coopération ? Quelques perspectives 147

1. Conflits, compétition 147
2. Coopération 148

E. Conclusion 149

Bibliographie 150

Introduction

"*In ants it is clear that there is much room for improvement in the capacity to transmit information from larvae to workers, and a study of this relation under carefully supervised food supply should be rewarding.*"

Brian 1956

A. Succès reproducteur, notion clé du vivant

La théorie de la sélection naturelle selon Darwin a permis la compréhension de l'évolution des espèces puisque chaque individu qui diffère un peu des autres d'une manière qui augmente sa survie ou sa descendance sera favorisé et cette variation tendra à se répandre (Darwin 1872). Ces variations interindividuelles dépendent notamment de facteurs génétiques dont les mutations peuvent entrainer des différences phénotypiques (Kutschera & Niklas 2004). L'évolution des traits phénotypiques d'ordre morphologique et comportemental est donc expliquée par la survie et le succès reproducteur qu'ils confèrent, formant la valeur sélective d'un individu. Cependant, l'existence des castes stériles chez les insectes et la coopération entre les animaux restaient difficilement expliquées par les mécanismes darwiniens (Costa 2013).

En 1964, Hamilton montre qu'on peut élargir la notion de succès reproducteur aux effets de l'individu sur ses apparentés autres que ses descendants (succès reproducteur indirect). Il s'agit de prendre en compte l'échelle du gène et non plus seulement de l'individu. Ainsi, favoriser un individu apparenté aboutit à favoriser ses propres gènes dans une certaine mesure, car deux individus apparentés ont une plus forte probabilité de partager les mêmes gènes que deux individus au hasard dans une population. Le succès reproducteur indirect (*indirect fitness*), additionné au succès reproducteur classique, fitness directe, aboutit au succès reproducteur total d'un individu, l'*inclusive fitness*.

Cependant, aider un apparenté n'est bénéfique pour son propre succès reproducteur total que si le bénéfice de cette aide est supérieur au coût (c) nécessaire pour aider l'apparenté. Le bénéfice correspond au nombre de descendants supplémentaires qu'a pu produire l'apparenté grâce à l'aide (b), rapporté au niveau d'apparentement entre l'individu et son apparenté (r). Cette relation s'écrit couramment sous la forme suivante.

$$b \cdot r - c > 0$$

Cette notion d'*inclusive fitness* est une théorie clé pour comprendre l'existence et l'évolution de la coopération entre les individus apparentés (West et al. 2007, Abbot et al. 2011). Cette coopération est impliquée dans les relations familiales et sociales, notamment lors du développement des jeunes profitant de soins parentaux. Ainsi, dans un premier temps nous aborderons la communication et les relations sociales autour des soins parentaux. Le principe de l'*inclusive fitness* permet aussi d'expliquer l'évolution vers la socialité la plus poussée, l'eusocialité. Ainsi, dans un second temps, l'eusocialité des Hyménoptères sociaux et en particulier des fourmis sera présentée, en lien avec les soins aux jeunes.

B. Communication animale

1. Communication, signal, indice

La communication animale est fréquemment observée, pour autant, la définition de la communication ne fait pas consensus et est toujours discutée entre les spécialistes, reflétant la diversité des observations, des interprétations et des cadres théoriques entourant la communication (Rendall et al. 2009).

Une définition de la communication au sens strict correspond à la transmission d'un signal entre deux individus, un émetteur et un récepteur. Le signal est défini par Maynard Smith & Harper (2003) comme "*any act or structure which alters the behaviour of other organisms, which evolved because of that effect, and which is effective because the receiver's response has also evolved*[1]". Cependant, cette définition possède plusieurs versions, utilisant notamment la notion d'information, employée depuis longtemps de manière intuitive, et qui peut être vu comme une réduction de l'incertitude sur l'environnement (Rendall et al. 2009). Ainsi, la communication implique un émetteur qui délivre une information à un récepteur qui utilise cette information pour prendre une décision (Otte 1974, Théry & Heeb 2008). D'autres auteurs ont cependant préféré les formulations indiquant une modification ou une influence sur le comportement du récepteur (Rendall et al. 2009, Owren et al. 2010). Enfin, certains utilisent les deux notions en considérant la communication comme une tentative d'influence des autres du point de vue de l'émetteur et comme apportant de l'information du point de vue du récepteur (Maynard Smith & Harper 1995, Ruxton & Schaefer 2011). Le signal, par définition, a été sélectionné pour l'avantage adaptatif qu'il procure à la fois à l'émetteur et au récepteur (Maynard Smith & Harper 2003, Théry & Heeb 2008) bien que le bénéfice pour le récepteur soit discuté (Owren et al. 2010). Pour l'émetteur, c'est la réponse du récepteur lui procure un avantage adaptatif. Pour le récepteur, c'est l'honnêteté du signal qui lui permet d'agir de manière adaptée.

Une définition plus large de la communication permet de s'affranchir de l'"intentionnalité" de l'émission du signal et donc du bénéfice pour l'émetteur (Théry & Heeb 2008). Dans cette situation, on parle d'indice et non de signal. Un indice, par définition, peut être utilisé par l'animal récepteur comme guide pour une action future mais l'indice n'a pas été spécifiquement sélectionné pour cet effet, contrairement au signal (Otte 1974, Maynard Smith & Harper 2003).

[1] Tout acte ou structure qui modifie le comportement d'un autre organisme, qui a évolué à cause de cet effet et qui est efficace parce que la réponse du récepteur a aussi évolué. (Traduction : MS)

Les signaux et les indices utilisent différents canaux sensoriels : ils peuvent être visuels, acoustiques, chimiques, tactiles, électriques... Les signaux chimiques, considérés comme les plus anciens et les plus utilisés, possèdent un vocabulaire particulier : on parle par exemple de phéromone, qui déclenchent une réaction spécifique chez un individu récepteur de la même espèce (Wyatt 2010). L'effet immédiat d'une phéromone sur le comportement du récepteur (*releaser*) a été particulièrement étudié, mais les phéromones possèdent parfois un effet physiologique sur le long terme (*primer*) (Wyatt 2003). L'émission simultanée de plusieurs signaux et/ou indices semble fréquente (Bro-Jørgensen 2010). Ces signaux multiples sont dits multimodaux si plusieurs canaux de communication sont utilisés (Partan & Marler 1999, 2005). Parmi les signaux multimodaux ou multiples, certains sont redondants, induisant la même réponse du récepteur, ils peuvent alors être équivalents ou se renforcer (Johnstone 1996, Partan & Marler 1999). Au contraire, les signaux non redondants induisent séparément une réponse différente du récepteur. Quand ils sont associés, ces signaux initialement non redondants peuvent produire des réponses indépendantes ou bien un nouveau type de réponse comme une réponse uniquement au signal dominant, une réponse modulée ou encore une autre réponse, dite émergente (Partan & Marler 1999). Par rapport à un signal utilisant un seul canal, les signaux multimodaux peuvent permettre d'attirer l'attention du récepteur par différents canaux, de moduler le signal ou d'assurer la réception d'un signal dans un environnement très bruité (Johnstone 1996, Candolin 2003).

Les signaux évolueraient souvent par ritualisation à partir de traits préexistants chez l'émetteur et utilisés initialement comme indices par le récepteur (Théry & Heeb 2008, Bradbury & Vehrencamp 2011a). Lorsque l'émetteur de l'indice obtient un avantage sélectif grâce à la réponse du récepteur, l'émission de l'indice peut co-évoluer avec la réponse pour former un signal (Maynard Smith & Harper 2003, Bradbury & Vehrencamp 2011a). Les signaux visuels, acoustiques ou tactiles peuvent donc avoir pour précurseurs des mouvements d'intention, des conflits motivationnels ou des réponses du système nerveux dans des conditions de stress menant par exemple aux comportements de substitution. Les signaux chimiques peuvent quant à eux évoluer à partir des produits du métabolisme ou des molécules libérées lors de blessures (Wyatt 2003). De plus, un biais sensoriel chez le récepteur ayant évolué dans un autre contexte peut être exploité dans le cadre de la communication (Théry & Heeb 2008, Mas & Kölliker 2008). Cependant, une pression de sélection par l'environnement, les prédateurs ou les parasites ne permet qu'à certains signaux seulement d'évoluer (Endler 1992, Laidre & Johnstone 2013).

2. L'honnêteté de la communication

Lors de l'étude de la communication animale, il est apparu que les animaux ont souvent des intérêts divergents quant à la situation sur laquelle ils communiquent. La possibilité pour un émetteur de tricher sur ses objectifs réels afin d'obtenir davantage de ressources est alors envisageable (Théry & Heeb 2008). Le signal ne serait alors qu'un moyen de manipuler le récepteur. Dans ce cas, le récepteur aurait un intérêt à ne plus répondre au signal, qui perdrait alors sa valeur communicative et disparaîtrait (Laidre & Johnstone 2013). Comment alors les signaux peuvent-ils se maintenir ? Une réponse est venue de Zahavi, qui a formulé en 1975 le principe du handicap, un mécanisme permettant de garantir l'honnêteté du signal (Zahavi 1975, Bradbury & Vehrencamp 2011b).

Le principe du handicap de Zahavi (1975), formalisé mathématiquement par Grafen (1990), se place initialement dans le contexte du choix du partenaire sexuel. Ainsi, les individus émetteurs diffèrent dans leur qualité, mais cette qualité est cryptique. Pour le récepteur, choisir et répondre à l'individu émetteur ayant la meilleure qualité est important mais n'est donc pas possible directement. Or les individus émetteurs émettent un signal qui est lié à leur qualité, le récepteur choisit alors l'individu avec le meilleur signal, qui sera donc dans ce cas le partenaire sexuel ayant la meilleure qualité. Ce système est évolutivement stable si le niveau du signal augmente avec la qualité de l'émetteur, c'est-à-dire si le signal est honnête, et si le signal est de plus en plus coûteux pour un signal de meilleure qualité. Ce coût est donc le handicap qui garantit que l'émetteur possède effectivement les qualités signalées (Zahavi 1975, Bradbury & Vehrencamp 2011b). Les individus de basse qualité ne peuvent se permettre un coût trop important alors que les individus de bonne qualité peuvent émettre un signal coûteux (Zahavi 1975, Grafen 1990).

Plus précisément, le coût d'un signal se compose théoriquement d'un coût de réalisation et d'un coût stratégique, même si ces deux coûts sont difficiles à séparer expérimentalement (Guilford & Dawkins 1991, Számadó 2011, Higham 2014). Le coût de réalisation est lié à l'envoi du signal lui-même alors que le coût stratégique représente le coût supplémentaire pour promouvoir, mettre en avant le signal (Guilford & Dawkins 1991, Maynard Smith & Harper 1995, 2003). C'est donc le coût stratégique qui représente le handicap et permet l'honnêteté du signal selon Zahavi.

Pour autant, l'existence d'un coût stratégique selon le principe du handicap n'est pas le seul mécanisme permettant à la communication d'être honnête (Maynard Smith & Harper 2003, Ruxton & Schaefer 2011). Quelques-uns de ces autres mécanismes assurant l'honnêteté sont cités ici (Zahavi 2008, Grose 2011, Ruxton & Schaefer 2011, Számadó 2011, Higham 2014). (i) Certains signaux, appelés index, sont impossibles à manipuler, donc honnêtes, car ils sont

reliés intrinsèquement à la qualité des individus (Maynard Smith & Harper 1995, Ruxton & Schaefer 2011, Biernaskie et al. 2014). (ii) Dans les cas d'alignement d'intérêt entre les deux protagonistes, aucun des protagonistes ne peut y gagner en trichant, le signal est donc honnête, même sans coût associé (Bradbury & Vehrencamp 2000, Grose 2011). (iii) Un signal peu informatif, ne comprenant que deux modalités (signaler ou ne pas signaler), peut être stable et non coûteux, même sans alignement d'intérêt entre les protagonistes (Bergstrom & Lachmann 1998, Brilot & Johnstone 2002, Broom & Ruxton 2013). (iv) Enfin, le coût pourrait être uniquement pour les tricheurs par exemple s'il s'agit d'un coût en *inclusive fitness* (Hurd 1995, Lachmann et al. 2001, Számadó 2011). Malgré ces différents mécanismes permettant à la communication d'être honnête, il existe des cas de communication malhonnête mais elle ne peut se maintenir évolutivement que si sa fréquence est faible (Théry & Heeb 2008, Ruxton & Schaefer 2011). Les modèles de communication animale que nous venons de rappeler ont été appliqués en particulier pour les quémandes alimentaires des jeunes auprès de leurs parents, point que nous allons développer.

C. Investissement parental et quémandes

1. Investissement parental au cœur des relations familiales

Les soins parentaux sont définis comme tout trait parental qui augmente la fitness des descendants et qui a probablement eu pour origine et/ou qui est actuellement maintenu pour cette fonction (Royle et al. 2012a). Les soins parentaux comprennent des traits non comportementaux (comme la production et l'approvisionnement énergétique des gamètes) et des traits comportementaux, comme l'établissement et le maintien d'un nid ou d'un territoire, les soins aux œufs et aux jeunes, l'approvisionnement alimentaire post-natal et les soins après l'indépendance nutritionnelle (Royle et al. 2012b). Ces soins peuvent être réalisés par un ou les deux parents ou encore par des individus, souvent apparentés, qui aident pour les soins. Les soins parentaux et notamment les apports alimentaires sont souvent précédés de comportements des jeunes interprétés comme des quémandes, tels que piaillements, cris, postures, ouvertures de la cavité buccale, colorations particulières ou encore bousculades (Kilner 2002). Ces quémandes alimentaires des jeunes auprès de leurs parents ont été observées depuis longtemps et ont été considérées comme un système permettant la coopération pacifique entre les jeunes et les parents (Kilner 2001).

A partir des années 1970, Trivers introduit la notion d'investissement parental qui permet de modéliser évolutivement les relations parentales : l'investissement parental correspond à

tout ce que les parents peuvent faire qui augmente les chances de survie d'un jeune, au prix d'une diminution de l'investissement possible des parents dans les autres jeunes de cette portée et des suivantes (Trivers 1972). Les parents répartissent donc leur investissement de telle sorte que leur succès reproducteur soit maximal (Parker et al. 2002). Grâce au concept d'*inclusive fitness* (Hamilton 1964), Trivers (1974) a introduit l'idée que les jeunes pourraient eux aussi intervenir dans la relation jeune-parent. En effet, les jeunes pourraient chercher à optimiser leur propre succès reproducteur. Chaque jeune devrait alors quémander le plus de soin possible pour lui-même, au détriment de ses frères et sœurs, afin d'augmenter son propre succès reproducteur. Cependant, demander et obtenir davantage de soins induit une diminution de l'investissement parental pour les autres frères et sœurs. Ainsi, augmenter le succès reproducteur direct diminue le succès reproducteur indirect, tel que défini par Hamilton (1964). Chaque jeune demandera l'investissement parental qui lui permettra d'atteindra son succès reproducteur total le plus élevé (Trivers 1974).

Cependant, l'investissement parental optimisé du point de vue des parents pour chaque jeune peut différer, et souvent être inférieur, à l'investissement parental optimisé du point de vue de chaque jeune (Trivers 1974). Cette différence prédit donc l'existence d'un conflit potentiel entre les parents et les jeunes. De plus, les modèles ont permis de montrer qu'au sein de la famille, il existe d'autres conflits que le conflit entre parents et jeunes. Ainsi, on peut montrer que les jeunes sont en conflit entre eux puisque chacun veut plus d'investissement parental pour lui-même (Parker & Macnair 1979). Ce conflit peut exister entre les jeunes d'une même portée si les parents procurent une quantité fixée de soins à la portée (*intrabrood conflict*) ou bien entre les jeunes de portées différentes lorsque les parents augmentent leur investissement pour une portée, au détriment des portées suivantes (*interbrood conflict*) (Parker et al. 2002, Royle et al. 2004). Selon Parker et al. (2002), le conflit entre jeunes d'une même portée concerne majoritairement la distribution des ressources entre les jeunes, tandis que le conflit entre portées concerne l'approvisionnement, la quantité totale d'aliment apporté au nid.

Plusieurs conflits émergent donc de l'analyse du niveau optimal d'investissement parental pour chaque protagoniste (Figure 1) (Parker et al. 2002, Bradbury & Vehrencamp 2011c) : conflit entre jeunes et parents (Trivers 1974), conflit entre jeunes (Parker & Macnair 1979) ou encore conflit entre parents puisque chacun des parents bénéficierait que l'autre s'investisse davantage (McNamara et al. 2003, Johnstone & Hinde 2006).

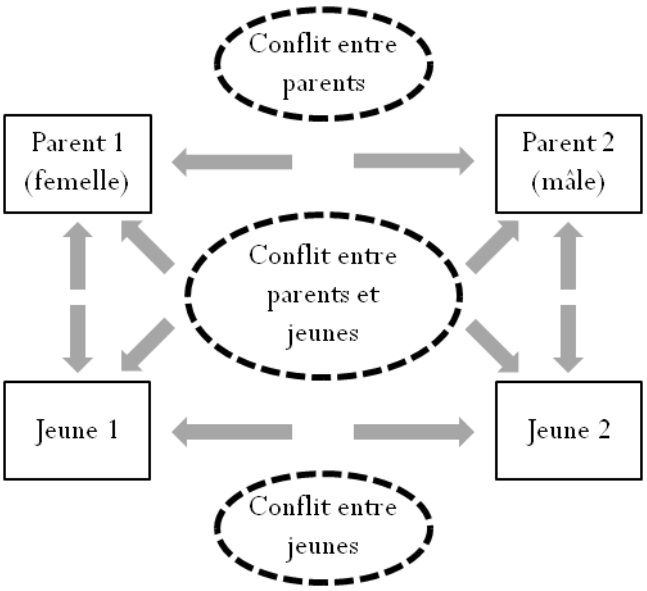


Figure 1 : Les conflits familiaux pour l'investissement parental (d'après Parker et al (2002)).

L'existence de ces conflits théoriques est difficile à démontrer expérimentalement (Mock & Forbes 1992). En effet, il n'est ni nécessaire ni suffisant d'observer un comportement conflictuel entre les individus ; il faut montrer que les optima divergent et qu'une modification de l'investissement parental augmente les bénéfices d'une partie et réduit les bénéfices de l'autre partie (Royle et al. 2012b). Des confirmations expérimentales de ces prédictions de conflit ont été trouvées lors de l'étude des hyménoptères sociaux, et en particulier l'étude du sex-ratio des descendants d'une colonie, ainsi que dans les résultats récents en génétique quantitative (Kilner & Hinde 2008).

La distribution des soins parentaux résulte donc de la résolution simultanée de plusieurs conflits. Pour étudier la résolution de ces conflits, les modèles se focalisent sur une partie de ce système global et deux modèles principaux ont émergé (Parker et al. 2002, Smiseth et al. 2008, Bradbury & Vehrencamp 2011c). Le premier ensemble de modèles suppose que les jeunes contrôlent l'apport alimentaire (Parker & Macnair 1978) tandis que le deuxième ensemble de modèles suppose au contraire que les parents contrôlent l'apport alimentaire (Godfray 1991, 1995b).

Les premiers modèles envisagent ainsi les quémandes des jeunes comme moyen de manipulation afin d'obtenir le plus de nourriture possible (Macnair & Parker 1978, 1979, Parker & Macnair 1978). Le jeune qui quémande le plus ou surpasse les autres jeunes obtient un supplément de nourriture. Les jeunes contrôlent donc la distribution, *i. e.* répartition des aliments (Macnair & Parker 1978). De plus, les jeunes sont capables d'influencer l'approvisionnement alimentaire dans le cas de compétition entre portées

différentes (Parker & Macnair 1979). Une escalade évolutive du niveau de manipulation des parents et du conflit entre les jeunes d'une même portée (*scramble competition*) en résulterait (Bradbury & Vehrencamp 2011c). Cependant, ces quémandes d'intensité toujours croissante ont un coût qui aurait pour conséquence de limiter le niveau de compétition entre jeunes (Macnair & Parker 1979). Ces premiers modèles basés sur la manipulation ont permis d'interpréter l'existence des comportements de quémande coûteux et exubérants, mais d'autres modèles ont ensuite pris le parti d'une communication non manipulatrice (Johnstone 1999).

2. Les quémandes comme communication honnête

En 1991, Godfray propose une approche différente des quémandes des jeunes. Il applique les théories de la communication et plus précisément le principe du handicap de Zahavi aux quémandes alimentaires afin de résoudre le conflit entre jeunes et parents (Zahavi 1975, Grafen 1990). Les quémandes seraient donc des signaux coûteux dirigés vers les parents. Pour adapter le principe du handicap aux quémandes, Godfray suppose que l'intensité du signal des jeunes augmente avec le besoin de l'émetteur, et non avec sa qualité. Le besoin des jeunes étant cryptique, les parents utilisent les quémandes qui reflètent honnêtement le besoin. Cela permet ainsi aux parents de distribuer la nourriture de la manière qui optimise leur propre fitness (Godfray & Johnstone 2000). Dans ce modèle, les parents contrôlent donc la répartition de la nourriture en s'appuyant sur les signaux de quémandes des jeunes. Le système est évolutivement stable grâce à deux conditions (Godfray 1991). Premièrement, les quémandes doivent être coûteuses pour les jeunes. Deuxièmement, le gain pour un jeune doit augmenter avec le besoin, c'est-à-dire que les jeunes en mauvais état bénéficient mieux d'une ressource alimentaire que les jeunes en bon état.

Cette interprétation des quémandes des jeunes a changé la façon de considérer les relations jeunes-adultes, puisqu'elle permet le retour de l'honnêteté, tout en résolvant les conflits entre parents et jeunes et en expliquant le coût des quémandes (Godfray & Johnstone 2000). Les modèles de compétition (Parker & Macnair 1978) et de communication (Godfray 1991, 1995b) ne sont cependant pas indépendants (Godfray 1995a, Parker et al. 2002). Les signaux de quémande dirigés vers les parents auraient ainsi pu évoluer depuis une situation de compétition entre jeunes (Rodríguez–Gironés 1999, Royle et al. 2004). Les modèles de communication honnête et de compétition entre jeunes peuvent même être considérés comme un continuum en fonction de l'importance de chaque partie dans le contrôle de la distribution alimentaire, du contrôle total par les parents (communication honnête) au

contrôle total par les jeunes (compétition entre jeunes) (Rodríguez-Gironés et al. 2001, Parker et al. 2002, Johnstone & Roulin 2003).

Les modèles de quémandes honnêtes sont cependant particulièrement utilisés pour expliquer et prédire le niveau de quémande et de réponse. Les prédictions expérimentales de ces modèles nous intéressent spécialement et ont été résumées par Kilner & Johnstone (1997). Premièrement, le niveau de quémande du jeune est corrélé à son niveau de besoin. Deuxièmement, les parents apportent la nourriture en fonction du niveau de quémande des jeunes. Enfin, troisièmement, les quémandes alimentaires sont coûteuses.

L'obligation d'un coût pour les quémandes a été par la suite largement discutée, tout comme dans les modèles plus généraux de communication (Maynard Smith 1991, 1994, Ruxton & Schaefer 2011, Higham 2014). Un coût théorique faible ou nul est alors souvent attendu, ce qui semble en accord avec les mesures expérimentales du coût des quémandes (Moreno-Rueda 2007, mais voir Kilner 2001). Ce coût des quémandes peut être direct, en lien avec les dépenses énergétiques des quémandes, ou bien indirect, lié à une réduction de la survie en cas d'augmentation du risque de prédation par exemple (Godfray 1995a, Moreno-Rueda 2007). La comparaison des dépenses énergétiques montrerait que la dépense pour les quémandes est faible par rapport aux dépenses énergétiques totales des jeunes (McCarty 1996). L'impact de la quémande sur la croissance des jeunes a aussi été mesuré mais semble limité à quelques espèces d'oiseaux (Rodríguez-Gironés et al. 2001, Kilner 2001). L'augmentation du risque de prédation lorsque les quémandes augmentent semble aussi expérimentalement faible (Haskell 1999, Moreno-Rueda 2007). Cependant les expériences mesurant les coûts sont relativement peu nombreuses et la notion de coût reste fréquemment utilisée dans les modèles et explications liés aux conflits familiaux (Moreno-Rueda 2007).

D. Comportements de quémandes avec une attention particulière pour les quémandes chez les insectes

Les modèles théoriques développés dans les paragraphes précédents ont pour objectif d'expliquer et de prédire les comportements que nous observons. Les deux principales prédictions testées expérimentalement sont : (i) la réponse des parents serait corrélée à l'intensité du signal et (ii) l'intensité du signal d'un jeune serait corrélée à son besoin (Kilner & Johnstone 1997). Dans ce paragraphe, nous présenterons les principaux résultats des tests de ces prédictions, et en particulier, nous nous focaliserons sur les modèles insectes eusociaux (Tableau 1).

1. Les quémandes induisent un apport alimentaire

Il s'agit de valider la valeur de quémande des différents signaux, de démontrer un lien entre un signal et l'apport alimentaire par les adultes, ce qui correspond à valider une des prédictions des modèles de quémandes : l'apport alimentaire augmente en fonction de l'intensité du signal (Kilner & Johnstone 1997). La mesure de l'apport alimentaire peut porter sur l'approvisionnement ou bien sur la distribution.

Les études cherchant à démontrer cet effet modifient expérimentalement l'intensité des quémandes des jeunes et mesurent la réponse chez les parents. Pour les quémandes visuelles comme la coloration des oisillons, les expérimentateurs peuvent colorer ou décolorer artificiellement les oisillons, montrant ainsi un effet sur la distribution alimentaire (Ayala et al. 2007, Kilner & Hinde 2008). Pour les quémandes acoustiques des oisillons ou jeunes mammifères notamment, la diffusion d'enregistrements de quémandes ou de sons peut là encore montrer que ce sont bien les quémandes qui modifient la réponse des parents, pour l'approvisionnement et la distribution (Ottosson et al. 1997, Burford et al. 1998, Hinde 2006). Un cas de communication acoustique a ainsi été décrit chez les insectes eusociaux (Tableau 1), le frelon *Vespa orientalis*, où les larves du dernier stade émettent des vibrations par le frottement de leurs mandibules sur les parois de la cellule (Schaudinischky & Ishay 1968, Yamane 1976). Ces vibrations attirent les ouvrières qui nourrissent alors l'individu dans la cellule, voire tentent de nourrir le microphone expérimentalement introduit pour simuler des quémandes (Schaudinischky & Ishay 1968, Ishay et al. 1974).

Chez les insectes, le canal chimique est le plus utilisé pour la communication en général et on le trouve aussi fréquemment pour les quémandes alimentaires (Tableau 1). Les larves du bourdon *Bombus terrestris* émettent un signal chimique, perceptible par les ouvrières à faible distance et induisant une distribution alimentaire aux larves (Smeets & Duchateau 2001, Pereboom et al. 2003, Den Boer & Duchateau 2006). Chez l'abeille domestique *Apis mellifera*, la visite des cellules contenant les larves est influencée par l'état d'affamement des larves et la distribution alimentaire est influencée par la quantité de nourriture présente dans les cellules (Le Conte et al. 1990, Huang & Otis 1991a, b). Il a récemment été montré qu'un signal chimique, la E-beta-ocimene, avait un rôle direct de quémande alimentaire puisque l'ajout d'ocimene dans les cellules vides ou sur les larves augmente les visites des ouvrières dans ces cellules (Tableau 1) (He et al. 2016). Enfin, chez la fourmi *Solenopsis invicta,* les ouvrières semblent capables de distribuer l'alimentation selon des signaux ou des indices chimiques variant avec l'état nutritionnel, mais la ou les molécules n'ont pas été identifiées (Cassill & Tschinkel 1995).

Tableau 1 : Principales études testant les prédictions des modèles de communication sur les quémandes alimentaires chez les insectes sub-sociaux et eusociaux : (1) Les quémandes des jeunes induisent-elles le nourrissage par les adultes ? (2) Le niveau de besoin des jeunes est-il lié au niveau de quémande ? Il est indiqué le type de signal (par exemple, signal de faim) et la modification expérimentale testée (par exemple, affamement de 2 jours) par rapport au contrôle (non mentionné, alimentation normale).

	Nature des quémandes	(1) Quémandes induisent nourrissage ?	(2) Besoin lié aux quémandes ?	Références principales
Perce-oreille *Forficula auricularia*	Chimique	Femelle exposée à odeur augmente nourrissage de la portée	Signal de bonne condition : Affamement pendant 2 j	Mas et al. 2009, Mas & Kölliker 2011
Punaise *Sehirus cinctus*	Chimique : Mélange de 8 composés	Femelle exposée à odeur augmente nourrissage de la portée	Signal de mauvaise condition : Quantité d'aliment faible ou élevée durant le 1er stade larvaire	Kölliker et al. 2005, 2006
Nécrophores *Nicrophorus vespilloides* et *N. orbicollis*	Tactile : Approcher et toucher les parties buccales des parents	Nombre de jeunes augmente nourrissage de la portée ; Corrélation entre quémande et nourrissage	Signal de faim : Affamement pendant 2 h	Rauter & Moore 1999, 2004, Smiseth & Moore 2004, 2007, 2008
Termite *Reticulitermes speratus*	Tactile : Approcher et picorer les ouvriers (*pecking*)	Corrélation entre quémande et nourrissage	Signal de faim/de mauvaise condition : Qualité d'aliment variable ou affamement pendant 2 j	Kawatsu 2013
Abeille domestique *Apis mellifera*	Chimique : l'ocimene et la phéromone de couvain	Corrélation entre affamement et nourrissage ; Ouvrières exposées à odeur augmentent les visites (ocimene) et le fourragement	Signal de faim : Affamement pendant 45 min	Huang & Otis 1991b, Le Conte et al. 2006, Maisonnasse et al. 2009, He et al. 2016
Bourdon *Bombus terrestris*	Chimique	Ouvrières exposées à odeur augmentent nourrissage	Signal de faim : Affamement pendant 24 h	Den Boer & Duchateau 2006
Frelon *Vespa orientalis*	Acoustique : Frottement des mandibules sur les parois de la cellule	Ouvrières exposées à vibrations augmentent nourrissage	Signal de faim (effectif faible) : Affamement de 5 et 7 jours	Schaudinischky & Ishay 1968, Ishay et al. 1974
Fourmi *Mesoponera caffraria*	Tactile : Balancement de la partie antérieure du corps	Corrélation entre quémande et nourrissage	Non testé	Agbogba 1991
Fourmi *Solenopsis invicta*	Chimique ?	Corrélation entre affamement et nourrissage	Non testé	Cassill & Tschinkel 1995
Fourmi *Myrmica rubra*	Tactile : Partie antérieure du corps relevée (*stretching*)	Corrélation entre quémande et nourrissage	Non testé	Creemers et al. 2003
Fourmi *Gnamptogenys striatula*	Tactile : Rotation de la partie antérieure du corps (*swaying*)	Corrélation entre quémande et nourrissage	Signal de faim : Affamement pendant 24 h	Kaptein et al. 2005

En plus de ces signaux chimiques, la communication par contact est aussi fréquente chez les insectes, en particulier pour les espèces où les jeunes ne sont pas élevés dans des cellules, comme les termites et les fourmis (Tableau 1). Parmi les espèces sub-sociales, les nécrophores, *Nicrophorus vespilloides* et *N. orbicollis*, ont été particulièrement étudiés pour leurs signaux tactiles, voire visuels (Rauter & Moore 1999, Smiseth & Moore 2002, 2004, 2007). Les jeunes sont partiellement dépendants des parents puisqu'ils peuvent se nourrir seuls ou bien bénéficier de régurgitations des parents, mais la présence des soins parentaux augmente la croissance et la survie des jeunes (Eggert et al. 1998). Les jeunes quémandent et obtiennent des régurgitations de la part des parents s'approchant et touchant les pièces buccales des parents (Rauter & Moore 1999). Conformément à la prédiction des modèles de quémande, les parents augmentent l'apport alimentaire quand le nombre de jeunes augmente (Rauter & Moore 1999, 2004). La situation ainsi décrite chez les nécrophores est similaire à celle observée chez un autre insecte hétérométabole, mais cette fois ayant atteint l'eusocialité : les juvéniles du termite *Reticulitermes speratus* obtiennent de la nourriture en approchant et picorant les ouvriers (*pecking*) (Kawatsu 2013). Chez les fourmis, le lien entre les mouvements ou la posture des larves et le nourrissage par les ouvrières a été montré expérimentalement chez trois espèces (Tableau 1), *Mesoponera* (ex-*Pachycondyla*) *caffraria* (Agbogba 1991), *Myrmica rubra* (Creemers et al. 2003), et *Gnamptogenys striatula* (Kaptein et al. 2005). Ainsi, les études chez les insectes montrent souvent une corrélation voire un lien de causalité entre quémandes et répartition des ressources alimentaires entre les jeunes, similairement à ce qui est trouvé dans les autres espèces animales en particulier les oiseaux (Kilner & Hinde 2008).

En plus d'influencer la répartition des ressources, les larves ou juvéniles sont aussi capables de modifier l'approvisionnement alimentaire, c'est-à-dire la quantité totale d'aliment apportée au nid. Ainsi, les signaux chimiques émis par les larves de certains insectes sub-sociaux augmentent l'approvisionnement alimentaire maternel pour l'ensemble des larves (Kölliker et al. 2005, 2006, Mas et al. 2009, Mas & Kölliker 2011). Chez les insectes eusociaux, en particulier les fourmis et l'abeille domestique, il est supposé depuis longtemps que les larves d'insectes jouent un rôle important dans le niveau d'activité et de fourragement d'une colonie (Vowles 1955). En particulier la phase nomade des fourmis légionnaires est initiée par les jeunes ouvrières mais entretenue par un stimulus en provenance des larves (Schneirla 1958). Cette théorie de l'existence d'un stimulus larvaire pour le fourragement "*brood stimulation theory*" expliquerait au niveau proximal le déclenchement et l'ajustement de l'approvisionnement alimentaire aux besoins de la colonie (Schneirla 1958). Dans l'espèce *Cerapachys biroi* dont le fonctionnement cyclique se rapproche de celui des fourmis

légionnaires, le nombre de larves augmente en effet le fourragement des ouvrières (Ulrich et al. 2016).

En l'absence de cycle synchronisant l'ensemble du couvain, un lien entre le déclenchement ou le maintien du fourragement et le développement des larves pourrait aussi exister. Lorsque le nombre de larves ou leur état d'affamement augmente, les besoins nutritionnels de la colonie augmentent et on s'attend donc à observer une augmentation du niveau de fourragement (Hölldobler & Wilson 1990, Seeley 1998). Au niveau proximal, l'augmentation du niveau du stimulus d'origine larvaire déclencherait le fourragement pour un plus grand nombre d'ouvrières et/ou augmenterait l'efficacité individuelle du fourragement (Seeley 1998, Beshers et al. 1999). Chez l'abeille domestique, deux phéromones émises par le couvain, la phéromone de couvain et la E-beta-ocimene, ont un effet sur le comportement et la physiologie des ouvrières de la colonie : la phéromone de couvain augmente notamment le nombre de fourrageuses à pollen et leur effort individuel de fourragement (Pankiw et al. 1998, Pankiw 2004) ; l'ocimene inhibe le développement ovarien des ouvrières et accélère la transition des ouvrières vers le fourragement (Maisonnasse et al. 2009, 2010). Chez les fourmis, plusieurs travaux montrent aussi l'influence des larves sur le fourragement par modification de l'effort de fourragement au niveau collectif ou individuel. On observe ainsi chez *Solenopsis invicta* une augmentation de la quantité de nourriture ramenée dans la colonie lorsque les larves sont affamées (Sorensen et al. 1985). Chez *Lasius niger*, la présence de couvain augmente l'efficacité du fourragement, par augmentation du nombre de fourmis marquant une piste (Portha et al. 2002, 2004). Chez *Ectatomma tuberculatum*, les ouvrières augmentent leur effort individuel dans le fourragement (vitesse de fourragement, nombre de sorties) quand le nombre de larves augmente (Fénéron et al. 2008) ou lorsque une odeur de larves affamées est ajoutée (Daumas et al. 2012). Chez *Pogonomyrmex badius*, l'ajustement du nombre de fourrageuses n'est pas observé en cas d'ajout de larves dans la colonie (Kwapich & Tschinkel 2015) mais l'ajustement pourrait se faire par modification de l'effort individuel comme observé chez *E. tuberculatum*. Les ouvrières des colonies de fourmis seraient donc capables d'ajuster le fourragement selon les besoins nutritionnels de la colonie, et en particulier selon la présence ou l'affamement des larves.

Les résultats expérimentaux que nous venons de voir montrent donc qu'une des prédictions des modèles de sollicitation honnête, l'apport alimentaire augmente en fonction de l'intensité du signal (Kilner & Johnstone 1997), a été validée dans de nombreuses espèces et en particulier chez les insectes eusociaux. Les larves ou les jeunes sont capables d'influencer l'approvisionnement et la répartition alimentaire par leurs quémandes.

2. Les quémandes sont liées au besoin

Les quémandes alimentaires pourraient alors varier avec le besoin des jeunes, tels que le prédisent les modèles de quémande honnête (Kilner & Johnstone 1997). Pour le tester expérimentalement, il convient de mesurer le besoin des jeunes ou de le faire varier. La notion de besoin semble intuitive mais il s'agit d'un concept difficile à mesurer et sujet à de nombreuses discussions (Clark 2002, Kölliker 2011). Le besoin se définit comme "*a measure of the increase in an offspring's personal fitness resulting from receipt of a unit of food*[2]" (Royle et al. 2002), "*the benefits that offspring stand to gain from eliciting additional investment*[3]" (Johnstone & Kilner 2011) ou encore "*the value of extra resources to [young]*[4]" (Godfray & Johnstone 2000). Le bénéfice pour le jeune se comprend comme un gain à court terme mais aussi à long terme, les deux pouvant être liés. Au niveau pratique, de nombreux auteurs ont utilisé avec succès le niveau de faim supposé des jeunes suite à des modifications de l'état nutritionnel (Clark 2002, Kölliker 2011), malgré quelques critiques (Mock et al. 2011). Il s'agit soit de priver les jeunes d'aliments durant des durées variables (par exemple Iacovides & Evans 1998, Krebs 2001), soit au contraire de les gaver artificiellement (par exemple Mondloch 1995, Leonard & Horn 1998). Ces études montrent alors très souvent un lien entre le niveau de faim et le niveau de quémande chez les oiseaux (Budden & Wright 2001), chez les mammifères (Drake et al. 2007, Manser et al. 2008) et chez les insectes (Mas & Kölliker 2008). Parmi les insectes eusociaux (Tableau 1), l'effet direct de la faim des larves a été validé pour l'émission d'ocimene chez l'abeille (He et al. 2016), pour la production d'un composé chimique chez le bourdon *B. terrestris* (Den Boer & Duchateau 2006) et pour la durée des mouvements larvaires chez la fourmi *G. striatula* (Kaptein et al. 2005). Les ouvrières de la fourmi *S. invicta* nourrissent davantage les larves affamées, ce qui indiquerait que les signaux ou indices larvaires varient selon le niveau de faim (Cassill & Tschinkel 1995). Enfin, chez le frelon *V. orientalis*, la fréquence des vibrations produites par les larves varieraient selon leur affamement (Ishay et al. 1974).

Le besoin peut donc être évalué par l'état d'affamement, mais une autre approche consiste à utiliser la condition des individus, les individus en moins bonne condition ayant des besoins supérieurs que les individus en meilleure condition (Royle et al. 2004). Les individus en moins bonne condition quémanderont donc à un niveau supérieur, comme attendu dans le cadre d'un signal de besoin (*signal of need*). Cependant, certaines observations montrent parfois un effet inverse de la condition des individus sur le niveau de quémande : les jeunes en meilleure condition possèdent un signal de plus forte intensité. Dans ce cas, plusieurs

[2] Une mesure du gain en fitness d'un jeune résultant de l'obtention d'un item de nourriture (Traduction : MS)
[3] Le bénéfice gagné par un jeune qui recueille un investissement additionnel (Traduction : MS)
[4] La valeur d'une ressource supplémentaire pour le jeune (Traduction : MS)

auteurs parlent de signal de qualité (*signal of quality*) par opposition au signal de besoin (Mock et al. 2011), bien que cette notion soit fortement discutée (Johnstone & Kilner 2011, Hinde & Godfray 2011). Les parents pourraient parfois avoir un avantage évolutif à préférer les individus en meilleure condition, en particulier lorsque les ressources sont limitées, ce qui permettrait l'évolution d'un signal de qualité (Caro et al. 2016). En effet, les individus en meilleure condition ont plus de chances de survivre et confèrent aux parents les meilleures chances d'augmenter leur succès reproducteur. Expérimentalement, la condition des individus est estimée par des indices physiques et physiologiques tels que la taille, la masse ou le niveau de coloration du bec chez les oiseaux (Price et al. 1996, Quillfeldt 2002, Ayala et al. 2007). La condition peut aussi être artificiellement modifiée de diverses manières : par des privations ou des suppléments alimentaires sur une longue durée, par des compléments alimentaires en caroténoïde par exemple chez les oiseaux ou encore par modification de la charge parasitaire (Tschirren et al. 2005, Villaseñor & Drummond 2007, O'Connor et al. 2014). Ces observations ou manipulations de la condition des jeunes montrent souvent un lien avec les quémandes acoustiques ou visuelles des oiseaux (Iacovides & Evans 1998, Quillfeldt 2002, Jacob et al. 2011). Cependant, ce résultat n'est pas toujours retrouvé, en particulier, une diminution expérimentale de l'état de santé des jeunes (parasitisme, stimulation immunitaire) n'augmente pas le niveau des quémandes (Saino et al. 2000, O'Connor et al. 2014). Chez les insectes, la bonne ou mauvaise condition des larves a été modifiée lors de quelques expériences (Tableau 1). Chez *Sehirus cinctus*, punaise sub-sociale, les jeunes signalent leur mauvaise condition par un signal chimique volatile (Kölliker et al. 2005, 2006). De même, les jeunes termites *R. speratus* augmentent leurs sollicitations quand la qualité de l'alimentation diminue (Kawatsu 2013). A l'inverse, le signal chimique des larves du perce-oreille *Forficula auricularia* augmente quand les individus sont en bonne condition, reflétant un signal de qualité plutôt qu'un signal de besoin (Mas et al. 2009, Mas & Kölliker 2011).

Enfin, la définition du besoin inclut le besoin à long terme, le niveau de faim d'un individu reflèterait alors non seulement les besoins immédiats mais aussi ceux à plus long terme (Clark 2002, Johnstone & Kilner 2011, Hinde & Godfray 2011). Ces besoins énergétiques à plus long terme seraient liés à des différences structurelles ou physiologiques, par exemple entre les individus mâles ou femelles, ou bien entre reproducteurs ou non reproducteurs chez les espèces eusociales. Pour tester si les quémandes varient en fonction du besoin à long terme, certains auteurs comparent donc des individus différant sur le long terme, entre femelles et mâles ayant un dimorphisme marqué par exemple (Price et al. 1996). Les études ciblées sur l'influence du besoin à long terme sont moins nombreuses que pour la faim ou la condition mais semblent montrer que les individus ayant des besoins à long terme

supérieurs (pour atteindre une plus grande taille par exemple) ont un niveau de quémande plus élevé chez quelques espèces d'oiseaux (Price et al. 1996). Aucune expérience n'a testé à notre connaissance l'effet du besoin à long terme sur les quémandes alimentaires chez les insectes.

Malgré les variations d'approches et de définition du besoin, ces mesures expérimentales permettent généralement de montrer un lien entre besoin et niveau de quémande des jeunes (Smiseth et al. 2008), allant dans le sens des prédictions des modèles de communication (Godfray 1995a, Kilner & Johnstone 1997). Chez les insectes eusociaux, les tests validant ces hypothèses sont finalement peu nombreux, malgré la diversité de l'organisation coloniale, des traits d'histoire de vie et des caractéristiques morphologiques des larves entre espèces. En particulier, sur les 14096[5] espèces de fourmis répertoriées, une seule espèce à notre connaissance et pour une seule durée d'affamement a été testée (Kaptein et al. 2005). C'est pourquoi nous avons choisi dans cette thèse d'étudier le modèle fourmi dans le cadre des modèles de communication pour les soins alimentaires.

E. Particularités du modèle fourmis

1. Eusocialité, origines et implications

De nombreuses espèces d'hyménoptères ont atteint l'eusocialité, et en particulier toutes les espèces de fourmis. L'eusocialité, niveau de socialité le plus avancé, est caractérisée par une coopération pour les soins aux jeunes, une division de la reproduction et un chevauchement de deux générations au moins pour l'élevage des jeunes (Wilson 1971, Crespi & Yanega 1995). Le principe de l'*inclusive fitness* de Hamilton (1964) a permis de comprendre comment des gènes codant pour un altruisme de reproduction aussi avancé ont pu être sélectionnés (West et al. 2007, Bourke 2011, 2014). L'évolution vers l'eusocialité a aussi été probablement favorisée par plusieurs traits d'histoire de vie comprenant la monogamie (Boomsma 2009, Boomsma et al. 2011), une manipulation maternelle empêchant la dispersion des jeunes (Alexander 1974, Ratnieks & Wenseleers 2008), le partage des soins parentaux ou encore la présence d'un nid défendable (Queller & Strassmann 1998). L'haplo-diploïdie des hyménoptères induit aussi des niveaux d'apparentement particuliers au sein des fratries qui auraient pu favoriser l'apparition de l'eusocialité (Hamilton 1964, Trivers & Hare 1976), même si cette hypothèse n'est plus considérée comme un prérequis (Queller &

[5] Le 24 septembre 2016, d'après http://osuc.biosci.ohio-state.edu/

Strassmann 1998, Foster et al. 2006). En effet, les mâles sont formés par parthénogenèse arrhénotoque et les femelles sont ordinairement issues d'une fécondation. L'haplo-diploïdie permet de calculer les niveaux d'apparentement suivants (en prenant le cas d'une colonie monogyne et monoandre) : une femelle avec sa sœur a un coefficient d'apparentement de 0,75 alors qu'une femelle avec sa fille a un coefficient d'apparentement de 0,5. Elever une sœur permettrait donc d'avoir une *inclusive fitness* plus élevée qu'en élevant sa propre fille et l'haplo-diploïdie aurait ainsi pu contribuer à favoriser l'évolution vers l'altruisme de reproduction et l'eusocialité.

Si l'*inclusive fitness* permet d'expliquer les différents niveaux de coopération entre apparentés, elle prédit aussi l'existence de conflits au sein même de ces systèmes coopératifs (Ratnieks et al. 2006). Il suffit en effet que les intérêts des membres divergent pour qu'un conflit potentiel existe, ce qui arrive dans plusieurs situations comme pour le ratio mâle/femelle produit par une colonie, la production des mâles ou encore le déterminisme en reine ou ouvrières -pas ou peu fertiles (Heinze et al. 1994, Ratnieks et al. 2006). Ce dernier conflit potentiel porte sur les larves femelles totipotentes en développement. Ces larves femelles sont en conflit avec les adultes puisque chaque larve a pour optimum une destinée reproductive (Bourke & Ratnieks 1999, Wenseleers et al. 2003). Au contraire, les ouvrières ont pour optimum une quantité supérieure d'ouvrières tant que la taille de la colonie n'est pas suffisante (Peeters & Molet 2010). La production d'ouvrières dans cette période de croissance coloniale permet d'améliorer la productivité de la colonie alors que la production de gynes nécessite plus de ressources et fait perdre une potentielle ouvrière pour la colonie. La production d'un grand nombre de gynes risquerait de provoquer une tragédie des biens communs, diminuant la productivité actuelle et future de la colonie, jusqu'à sa possible disparition (Hardin 1968, Peeters & Molet 2010). Cependant, lorsque la colonie atteint une taille suffisante, le conflit est réduit puisque l'optimum des ouvrières change : la colonie s'oriente vers la production de gynes permettant la perpétuation des gènes et leur dispersion.

La résolution de ce conflit pour une destinée reproductive ou non des larves dépend du niveau d'apparentement qui, lorsqu'il augmente, réduit les conflits potentiels, et de la coercition effectuée par les ouvrières pour contraindre les larves dans la caste non reproductive (Wenseleers et al. 2003, Ratnieks et al. 2006). La coercition des ouvrières passe par un contrôle de l'alimentation et parfois par des comportements agressifs (Vargo & Fletcher 1986, Vargo 1998, Ratnieks & Wenseleers 2008, Villalta et al. 2016). Cependant, les larves peuvent intervenir dans ce conflit, dans les cas où elles peuvent contrôler au moins en partie leur alimentation (Bourke & Ratnieks 1999, Beekman & Ratnieks 2003, Kaptein et al. 2005), le cannibalisme d'œufs ou de larves étant par exemple un moyen pour augmenter

leur alimentation (Polis 1981, Rüger et al. 2007, Schultner et al. 2013, 2014). Les larves peuvent aussi éviter la coercition des ouvrières de plusieurs manières, en masquant les indices permettant la reconnaissance de la caste ou en devenant des reines miniatures ayant besoin de peu de ressources pour leur développement (Nonacs & Carlin 1990, Beekman & Ratnieks 2003). La possibilité pour les larves de gagner le conflit augmente lorsque le dimorphisme entre les ouvrières et les reines est peu prononcé (Bourke & Ratnieks 1999). Ce conflit autour du déterminisme des castes est aussi dépendant des caractéristiques mêmes de ce déterminisme, environnemental ou génétique.

2. Déterminisme des castes

Le déterminisme femelle/mâle suit un mécanisme génétique assez simple, bien que les détails ne soient pas encore connus. Le sexe femelle ou mâle est déterminé par un ou plusieurs loci : l'hétérozygotie donne une femelle alors que l'homozygotie, le plus souvent par haploïdie, donne un mâle (Cook & Crozier 1995). Au contraire, le déterminisme au sein des femelles en caste reproductive et non reproductive est plus complexe. Le déterminisme était historiquement supposé d'origine environnementale, mais l'influence des gènes et l'influence épigénétique sont de plus en plus démontrées et l'hypothèse d'un continuum entre déterminisme environnemental et génétique est maintenant proposée (Anderson et al. 2008, Schwander et al. 2010).

Au cours du développement, plusieurs périodes sensibles ou critiques pour le déterminisme interviennent successivement. Des paramètres environnementaux (alimentation, conditions thermiques, influences sociales...) agissent dans ces périodes, soit en inhibant les larves et en les forçant à se déterminer en ouvrières, soit au contraire en facilitant le développement en gyne (Wheeler 1986). En particulier, un apport alimentaire trop faible empêcherait le développement en gyne et, à l'opposé, un apport suffisant d'aliments pourrait déclencher le développement spécifique en reine (*nutritional switch*) (Brian 1970, Wheeler 1986, mais voir Bonavita-Cougourdan & Passera 1978). En effet, les reines ayant une taille souvent supérieure à celle des ouvrières, on considère qu'elles ont des besoins alimentaires supérieurs en période de croissance (Bonavita-Cougourdan & Passera 1978, Wheeler 1986). Le mécanisme par lequel l'alimentation agirait est une modification de la quantité d'hormone juvénile : si cette hormone dépasse un certain seuil, elle entraine un développement en gyne, comme montré chez l'abeille domestique (Wheeler et al. 2006). L'application expérimentale topique d'hormone juvénile sur les larves d'une espèce de fourmi, *Harpegnathos saltator*, induit en effet le développement en gyne (Penick et al. 2012). Chez quelques espèces, l'orientation vers le phénotype gyne peut même être

déterminé dès le stade œuf en fonction de la quantité et qualité des nutriments fournis par la reine lors de la ponte ou directement de la quantité d'hormone juvénile (Wheeler 1986). En plus des facteurs alimentaires, la présence de la reine inhibe le développement en gyne dans les colonies de nombreuses espèces (Boulay et al. 2009). L'inhibition d'origine royale, de nature chimique, agit sur la cascade hormonale des larves ou bien influence les comportements de soin ou de coercition des ouvrières dirigés vers les larves (Brian 1970, Wheeler 1986, Vargo 1998, Anderson et al. 2008).

Anderson et al. (2008) soulignent que ces paramètres environnementaux peuvent tous avoir une influence génétique ou épigénétique. Il est en effet montré une base génétique au seuil de déterminisme ou une influence du génotype des ouvrières sur le devenir des larves chez un nombre croissant d'espèces (Anderson et al. 2008, Schwander et al. 2010, Teseo et al. 2014). Cependant, discriminer les effets génétiques de ceux de l'environnement social est particulièrement difficile dans ces espèces eusociales (Anderson et al. 2008, Lo et al. 2010).

3. Division du travail entre ouvrières

En plus de la division reproductive du travail, une des caractéristiques clés des colonies de fourmis est l'existence d'une division du travail entre ouvrières (Hölldobler & Wilson 1990). La spécialisation des ouvrières aurait été favorisée pour l'avantage adaptatif qu'elle procure, les ouvrières spécialisées dans une tâche devenant plus efficaces (Robinson 1992). Le polyéthisme est dit temporel, lorsque la tâche d'une ouvrière est corrélée à son âge, et morphologique, lorsque les ouvrières effectuent des tâches pour lesquelles elles présentent des adaptations morphologiques (Hölldobler & Wilson 1990). Le polyéthisme temporel, le plus fréquemment observé, suppose une association entre la maturation de l'ouvrière et les tâches effectuées. L'ontogenèse du comportement se caractérise souvent par la séquence suivante, qui suit une évolution centrifuge : soins au couvain, nettoyage, gardiennage et enfin, fourragement (Hölldobler & Wilson 1990, Robinson 1992). La relation entre l'ontogenèse et l'âge de l'ouvrière n'est cependant pas linéaire puisque des individus issus de la même cohorte effectuent souvent des tâches différentes (Sendova-Franks & Franks 1994, Robinson et al. 1994). Au niveau ultime, ce polyéthisme temporel pourrait être adaptatif puisque les ouvrières les plus âgées, dont l'espérance de vie est moindre, effectuent les tâches les plus dangereuses (Goldsby et al. 2012).

La division du travail est souvent expliquée par les modèles à seuil qui supposent que chaque tâche est associée à un stimulus dont le niveau varie en fonction de l'environnement (Beshers et al. 1999, Beshers & Fewell 2001). L'ouvrière effectue la tâche si le stimulus est

supérieur à son seuil interne de réponse. Une division du travail se met en place si les seuils diffèrent entre les ouvrières. Les seuils internes pourraient varier notamment par auto-renforcement, en considérant que la réussite d'une tâche abaisse le seuil interne pour cette tâche et que l'échec augmente le seuil (Theraulaz et al. 1998). De plus, en considérant que les seuils varient avec la maturation des ouvrières, le polyéthisme temporel se met alors en place.

D'autres modèles proximaux expliquant la mise en place et le maintien de la division du travail s'appuient sur le principe de l'auto-organisation (Page & Mitchell 1990, Bonabeau et al. 1997, Beshers & Fewell 2001). L'auto-organisation considère que les comportements collectifs complexes peuvent apparaitre à partir de comportements individuels simples, basés sur une information locale et non centralisée (Bonabeau et al. 1997, Seeley 2002). L'auto-organisation permet alors la création de structures spatio-temporelles (Bonabeau et al. 1997, Seeley 2002). Les caractéristiques de l'auto-organisation en font un principe applicable à la modélisation de la mise en place et du maintien de la division du travail de manière non mutuellement exclusive (Deneubourg & Goss 1989, Boomsma & Franks 2006, Detrain & Deneubourg 2006). Ainsi, à partir du principe d'auto-organisation, les modèles de "*foraging for work*" proposent une organisation linéaire du travail (Tofts & Franks 1992, Tofts 1993, Tripet & Nonacs 2004). Dans le "*foraging for work*", une ouvrière recherche une tâche, l'accomplit, la refait tant qu'elle est disponible, sinon, elle avance à la recherche d'une autre tâche (Tofts & Franks 1992, Beshers & Fewell 2001). Les tâches seraient reliées linéairement et spatialement entre elles, comme dans une ligne de production, depuis les soins au couvain vers le fourragement à l'extérieur du nid, ce qui permet l'émergence d'un polyéthisme temporel.

4. Organisation spatiale de la colonie et du couvain

Comme on le voit pour le "*foraging for work*", l'organisation spatiale au sein de la colonie peut aussi contribuer à expliquer les mécanismes permettant la division du travail et le polyéthisme temporel (Hatcher et al. 1992, Sendova-Franks & Franks 1994). Les nids de fourmis sont en effet souvent organisés spatialement, avec des chambres dédiées à une fonction selon leur position ; le couvain est par exemple souvent situé dans les chambres profondes du nid (Hölldobler & Wilson 1990). De plus, chaque ouvrière possèderait, pour une période de sa vie, une zone de fidélité (Fresneau 1985, Hölldobler & Wilson 1990, Sendova-Franks & Franks 1994, 1995, Mersch et al. 2013). La fidélité à la zone du nid possède une forte résilience puisqu'elle se retrouve après un déménagement (Sendova-Franks & Franks 1994). L'organisation spatiale des ouvrières pourrait donc aussi permettre

une optimisation des tâches puisque les ouvrières effectueraient un faible déplacement entre chaque tâche (Seeley 1982).

L'organisation spatiale est particulièrement marquée pour le couvain et donc possiblement, pour les soins au couvain. Le couvain est ainsi souvent regroupé par taille ou organisé de manière concentrique ou linéaire, parfois en lien avec des facteurs environnementaux tels que la température ou l'humidité (Le Masne 1980, Fresneau et al. 1989, Hölldobler & Wilson 1990, Franks & Sendova-Franks 1992, Lim & Lee 2005) ou grâce à un mécanisme auto-organisé (Deneubourg et al. 1990, Sendova-Franks et al. 2004). Une disposition alternative des larves est observée chez certaines espèces, les larves sont éparpillées sur l'ensemble de la surface du nid, séparées les unes des autres, ce qui pourrait avoir pour fonction de limiter le cannibalisme (Le Masne 1953, Urbani 1991, Rüger et al. 2007). Le tri du couvain pourrait s'appuyer sur leur taille mais aussi sur des indices morphologiques puisque la croissance des larves est divisée en stades larvaires qui diffèrent parfois par la présence, la quantité ou la morphologie des soies (Petralia & Vinson 1979, Baratte et al. 2005, Ramos Lacau et al. 2008, Solis et al. 2010a, b, 2013). En plus du tri par taille, les ouvrières de quelques espèces pourraient discriminer le sexe, mâle ou femelle, du couvain possiblement par des différences morphologiques ou chimiques (Helms et al. 2000, Sundström et al. 1996, mais voir Hammond et al. 2002). [6]

5. Soins aux larves et quémandes alimentaires des larves

Le couvain ainsi agencé par les ouvrières est entièrement dépendant de ces dernières pour sa survie et sa croissance (Markin 1970, Le Masne 1980). Les soins aux larves consistent alors à les nourrir, nettoyer leur cuticule, les assister lors des mues, les transporter et les trier (Le Masne 1953, 1980). Nous nous focaliserons ici sur l'alimentation des larves et sur les comportements précédant le nourrissage.

L'alimentation des larves de premiers stades est composée de liquides protéinés ou sucrés, fournis par trophallaxie ou grâce au transport de gouttelettes par les ouvrières, appelé pseudo-trophallaxie (Markin 1970, Wheeler & Wheeler 1976, Buschinger & Schaefer 2006). Les larves peuvent aussi être nourries d'œufs trophiques pondus par les ouvrières (Le Masne

[6] Par ailleurs, les ouvrières de nombreuses espèces sont capables de discriminer le couvain hétérospécifique, et parfois le couvain hétérocolonial (Febvay et al. 1984, Carlin 1988, Fénéron & Jaisson 1992, Hare 1996, Fouks et al. 2011). Ces différents niveaux de discrimination pourraient se faire grâce aux différences morphologiques ou bien de la même manière que la reconnaissance entre ouvrières, grâce aux hydrocarbures cuticulaires (D'Ettorre & Lenoir 2010), puisque les larves présentent un profil cuticulaire souvent similaire à celui des ouvrières de leur colonie, bien que la quantité de composants larvaires soit plus faible (Akino et al. 1999, Al Diri 2004, Villalta et al. 2016).

1980). A un stade plus avancé, les larves peuvent recevoir des proies : selon l'espèce, la mobilité et la taille des larves, les morceaux de proie seront posés sur les pièces buccales, sur la partie ventrale des larves ou bien les larves sont elles-mêmes déposées sur les proies de grande taille (Le Masne 1953, Wheeler & Wheeler 1976, Agbogba 1986, Buschinger & Schaefer 2006). Enfin, les larves de nombreuses espèces de fourmis peuvent consommer des œufs en développement ou d'autres larves (Le Masne 1980, Masuko 2003, Rüger et al. 2007).

Autour du nourrissage des larves, des descriptions font référence soit à des mouvements des larves pour solliciter les ouvrières (hypothèse de la quémande alimentaire), soit à une situation un peu différente où ce sont les ouvrières qui testent si les larves sont disponibles pour le nourrissage (test pré-nourrissage) (Le Masne 1953, Brian 1956, Creemers et al. 2003). Avant d'explorer l'hypothèse de la quémande alimentaire chez les larves de fourmis, examinons le cas du test pré-nourrissage, dont la description la plus complète est celle de Le Masne (1953). Cette description s'appuie sur des observations de comportements préparatoires au nourrissage chez plusieurs espèces, que ce soit pour une trophallaxie ou un dépôt de proie. L'ouvrière, positionnée à proximité de la larve, réalise des mouvements caractéristiques des antennes dirigés vers la larve, parfois accompagnés d'un léchage de la larve. La larve répond à la stimulation de l'ouvrière en redressant la tête, ou la partie antérieure de son corps selon sa morphologie, et en bougeant les mandibules. Lorsque la larve répond ainsi, l'ouvrière commence à régurgiter ou bien dépose sa proie. Si la larve ne réagit pas, l'ouvrière se dirige vers une autre larve.

Les données expérimentales peuvent être interprétées dans l'hypothèse des tests pré-nourrissages dans trois espèces, *Solenopsis invicta*, *Mesoponera* (ex-*Pachycondyla*) *caffraria* et *Myrmica rubra*. Cassill et Tschinkel ont ainsi particulièrement étudié la distribution de l'alimentation dans les colonies de *S. invicta* (Cassill & Tschinkel 1995, 1996, 1999, Cassill et al. 1998). Les larves sont inspectées continuellement par les ouvrières et nourries par des trophallaxies fréquentes, de même durée (Cassill & Tschinkel 1995, 1996). Les ouvrières sont capables de nourrir individuellement les larves selon leur besoin : le nombre de trophallaxies est supérieur pour les larves affamées ou de plus grande taille (Cassill & Tschinkel 1995). Cette discrimination serait basée sur l'existence de signaux ou d'indices chimiques, non-volatiles, informant de l'état de satiété des larves (Cassill & Tschinkel 1995). D'autres auteurs proposeraient cependant pour cette même espèce l'existence de mouvements larvaires qui pourraient aussi contribuer à la relation larve-ouvrière (O'Neal & Markin 1973). Qu'il s'agisse de composés chimiques ou de mouvements, la situation chez cette espèce correspondrait à un test pré-nourrissage, tel que décrit par Le Masne (1953). Une autre situation, décrite chez *M. caffraria*, se place aussi parmi les tests pré-nourrissage. Les ouvrières séparent les larves

qu'elles vont nourrir des autres larves et le tri s'effectue en fonction de la réponse ou de l'absence de réponse de la larve (balancement ou étirement du corps) à une stimulation tactile de l'ouvrière (Agbogba 1991). Enfin, chez *M. rubra*, Brian (1956) indique que le nourrissage des larves suit un test tactile des ouvrières pour repérer les larves qui acceptent la nourriture, les larves sont alors considérées comme attendant passivement le test des ouvrières. La tête des larves et surtout l'acceptation de la nourriture par les larves seraient un stimulus pour les ouvrières pour l'apport de nourriture et le nourrissage (Brian & Abbott 1977). Le niveau d'acceptation de nourriture par les larves dépendrait aussi de l'activité des ouvrières : plus les ouvrières proposent de la nourriture, lorsqu'elles ont elles-mêmes été affamées au préalable par exemple, plus les larves accepteraient les trophallaxies (Brian & Abbott 1977).

Comme indiqué par Le Masne (1953), les larves peuvent directement solliciter de la nourriture (hypothèse de la quémande alimentaire) par les mêmes mouvements que ceux effectués en réponse aux stimulations de l'ouvrière. Deux études montrent ainsi une sollicitation initialement émise par les larves. De manière surprenante, l'une de ces études porte sur l'espèce précédemment décrite par Brian (1956) comme utilisant un test pré-nourrissage, *M. rubra*. Chez cette espèce, Creemers et al. (2003) ont en effet montré que les larves étaient capables de quémander directement de la nourriture aux ouvrières, par le biais d'une position relevée de la tête (*stretching posture*), adoptée par la larve indépendamment des inspections et des léchages des ouvrières. Ces résultats montrent que les larves peuvent signaler leur besoin en dehors des tests par les ouvrières. Les tests pré-nourrissage seraient alors utilisés particulièrement lorsque les ressources alimentaires sont abondantes (Brian 1956, Creemers et al. 2003). La deuxième étude interprétant les mouvements larvaires comme une quémande concerne l'espèce *Gnamptogenys striatula*, dont les ouvrières nourrissent davantage les larves qui effectuent un mouvement de rotation de la partie antérieure du corps, ou bien les larves qui sont placées plus près de la source de nourriture (Kaptein et al. 2005).

Cependant, la distinction entre test pré-nourrissage et quémande des larves n'est pas si évidente à faire expérimentalement, puisque l'activité générale des ouvrières et celle des larves sont en permanence liées et que d'autres types de signaux pourraient être associés à cette relation larve-ouvrière, comme des signaux chimiques, par exemple chez *S. invicta* (Cassill & Tschinkel 1995). La possibilité pour les larves d'effectuer des mouvements de quémande ou d'attendre un test pré-nourrissage pourrait aussi dépendre des mouvements anatomiquement réalisables. Ces possibilités anatomiques de mouvements pourraient être déduites de la classification morphologique des larves effectuée par Wheeler et Wheeler (1976). Il apparaitrait alors que, pour la plupart des genres de fourmis, les mouvements

larvaires seraient limités aux mandibules et à la partie antérieure du corps. Quelques exceptions sont tout de même à noter, comme le cas des Myrmeciinae ou des Cerapachyinae, qui peuvent effectuer des mouvements assez étendus et se déplacer par ondulation du corps (observation personnelle, *Myrmecia brevinoda*, *M. nigrocincta* et *Cerapachys biroi*, Wheeler & Wheeler 1976). Les mouvements de la seule partie antérieure du corps des larves sembleraient cependant être suffisants pour permettre des quémandes alimentaires, comme observés chez *M. rubra* et *G. striatula* (Creemers et al. 2003, Kaptein et al. 2005).

F. Objectifs de la thèse et organisation du manuscrit

L'entière dépendance du couvain aux soins des ouvrières (Markin 1970, Le Masne 1980) a longtemps laissé supposer que les larves attendent passivement le nourrissage par les ouvrières et que ces dernières contrôlent entièrement l'alimentation des larves (Brian 1956, Hölldobler & Wilson 1990). Les ouvrières semblent en effet contrôler l'alimentation des larves chez de nombreuses espèces mais certains traits d'histoire de vie laissent une plus grande place à un contrôle de l'alimentation par les larves. Ainsi, les larves qui sont placées sur un grand morceau de proie pourraient se nourrir davantage, tant que les ouvrières ne retirent pas la proie. Une autre possibilité serait une attraction voire une manipulation des ouvrières par des composés nutritifs, rejetés par les larves et consommés par les ouvrières (Wheeler 1918, Le Masne 1953, Wheeler & Wheeler 1976, Sorensen et al. 1983). Enfin, comme nous venons de le voir, les larves pourraient utiliser un système de quémande afin d'obtenir davantage de nourriture et d'informer les ouvrières de leurs besoins (Creemers et al. 2003, Kaptein et al. 2005). C'est ce dernier point sur une communication entre larves et ouvrières qui est au cœur de cette thèse.

En effet l'hypothèse d'une communication par quémande des larves est soutenue par plusieurs arguments théoriques. Premièrement, les colonies de fourmis contiennent un grand nombre d'individus, larves et ouvrières, en interaction. Au sein d'une même colonie, les larves forment un groupe assez hétérogène car elles diffèrent par leur taille, stade larvaire, future caste ou état (nutrition, santé) (Wilson 1971, Hölldobler & Wilson 1990). Les larves ont donc potentiellement des besoins différents. Les ouvrières quant à elles nourrissent souvent plusieurs larves, et les larves sont nourries par plusieurs ouvrières. L'information sur l'état et le besoin de chaque larve ne peut donc être mémorisé par chaque ouvrière. Un système de communication comprenant un signal émis par les larves et informant les ouvrières sur leur niveau de besoin est attendu et permettrait d'optimiser la

régulation des ressources alimentaires dans la colonie (Brian 1956, Seeley 1998, Mas & Kölliker 2008).

Deuxièmement, les larves totipotentes peuvent augmenter leur fitness si elles atteignent la caste reproductive (Bourke & Ratnieks 1999, Ratnieks et al. 2006). Comme le déterminisme des castes chez les fourmis repose en partie sur l'alimentation, les larves totipotentes pourraient alors chercher à augmenter leur alimentation (Wenseleers et al. 2003). Or, comme les ouvrières ont pour fitness optimale qu'un grand nombre de larves totipotentes atteignent la caste ouvrière tant que la colonie n'a pas atteint une taille suffisante, il en résulte un conflit entre larves et ouvrières pour l'apport alimentaire (Bourke & Ratnieks 1999, Ratnieks et al. 2006, Peeters & Molet 2010). Les quémandes alimentaires pourraient alors permettre aux larves d'exprimer ce conflit en quémandant davantage lors des périodes critiques pour le déterminisme (Parker et al. 2002, Kaptein et al. 2005, Kilner & Hinde 2008).

Nous avons donc émis l'hypothèse d'un système de quémandes larvaires chez les fourmis, comme attendu dans les théories de communication. Or les sociétés de fourmis, de part leur fort niveau d'altruisme reproductif et leur coopération poussée dans les colonies matures, dépassent le système familial constitué des jeunes et de leurs parents et utilisé dans les théories de la communication. Des différences dans les optima et dans les conflits potentiels existent alors entre le système familial et le système eusocial. Ainsi, en dehors de la période de fondation où la reine est seule, les soins aux larves sont effectués par de nombreuses ouvrières et non par les parents, qui sont dans notre situation la ou les reines. Cet investissement, afin d'augmenter les chances de survie des larves, ne se fait donc pas directement au prix d'une diminution de l'investissement possible dans les autres générations, différant ainsi de la définition initiale de l'investissent parental (Trivers 1972). De plus, dans un système eusocial, la fitness des ouvrières dépend fortement voire exclusivement de leur fitness indirecte (Bourke 2011). Une pression de sélection favorisant toute optimisation de la gestion des ressources favoriserait donc l'évolution de la coopération et donc d'une communication honnête plutôt que des conflits entre les membres de la colonie (Rauter & Moore 1999, Kaptein et al. 2005).

Soutenu par ces arguments, l'objectif de cette thèse était donc d'explorer les relations larves-ouvrières lors de la distribution alimentaire dans le cadre théorique de la communication jeunes-parents et en particulier dans l'hypothèse de la quémande alimentaire. Le modèle animal, la fourmi *Ectatomma tuberculatum*, a été choisi pour sa morphologie larvaires et ses comportements larvaires ainsi que pour ses traits d'histoire de vie (approvisionnement et distribution alimentaire aux larves, organisation spatiale, dimorphisme reine-ouvrière...). De plus, des données obtenues au préalable avaient montré

que les ouvrières pouvaient modifier leur comportement d'approvisionnement alimentaire en fonction de la présence de larves ou d'odeur larvaire (Fénéron et al. 2008, Daumas et al. 2012). L'espèce est présentée plus en détails dans la partie suivante "Présentation du modèle animal".

Nous avons alors testé dans le chapitre 1 l'hypothèse d'une communication honnête, reflétant les besoins des larves et induisant un apport alimentaire par les ouvrières. Il s'agissait d'examiner si ces deux prédictions de la communication honnête (Kilner & Johnstone 1997), étaient applicable à notre modèle, grâce à un signal de quémande tactile constitué de mouvements des larves. Dans la colonie, le besoin des larves peut notamment varier avec l'état nutritionnel et le stade de développement. Dans ce chapitre, nous avons donc proposé aux ouvrières des larves différant dans leur état nutritionnel ou leur stade de développement et nous avons observé le choix des ouvrières et les mouvements larvaires. Nous montrons alors que les mouvements larvaires sont bien corrélés à la distribution alimentaire par les ouvrières.

Cependant, les mouvements semblent avoir d'autres facteurs proximaux de déclenchement que les besoins des larves. Ces résultats du chapitre 1 nous ont donc amenées à explorer, dans le chapitre 2, les détails de la relation individuelle entre chaque larve et les ouvrières au moment du nourrissage afin de caractériser quels autres facteurs (interactions sociales, organisation spatiale) pouvaient influencer les ouvrières au moment du choix de la larve à nourrir.

En plus de ces facteurs, les larves de castes différentes peuvent avoir des besoins nutritionnels différents. En particulier, les larves de gynes auraient des besoins supérieurs puisque le dimorphisme entre les ouvrières et les larves de notre modèle est marqué. Dans le chapitre 3, nous avons donc intégré une nouvelle variable, la présence de larves de futures gynes et nous avons testé si ce paramètre pouvait influencer l'approvisionnement et la distribution alimentaire. Les résultats de ce chapitre indiquent que les larves de gyne pourraient moduler l'apport alimentaire.

Ces résultats, combinés à des données obtenues avant cette thèse (Fénéron et al. 2008, Daumas et al. 2012), nous ont alors conduit à tester si les ouvrières étaient capables de modifier leur comportement suite à la perception de composés chimiques produits par les larves dont le besoin varie. Le chapitre 4 apporte ainsi des informations sur l'existence d'un autre canal de communication et possiblement une communication multimodale entre larves et ouvrières.

Présentation du modèle

Présentation du modèle, la fourmi *Ectatomma tuberculatum*

BIOLOGIE DE L'ESPECE

Ectatomma tuberculatum est une fourmi néotropicale dont l'aire de répartition s'étend du Mexique au Brésil (Weber 1946). Aujourd'hui classée parmi les Ectatomminae (Hymenoptera : Formicidae : Ectatomminae) (Bolton 2003), cette fourmi ponéromorphe brune d'environ 1 cm a longtemps été classée parmi les ponérines. Observée par Cook au début du XXème siècle qui l'appelait *kelep* en référence au nom donné par des populations locales du Guatemala, cette fourmi a été relativement bien étudiée, en particulier pour sa possible utilisation en lutte biologique contre les insectes nuisibles dans les plantations de coton, café et cacao (Cook 1905, Majer & Delabie 1993, Ibarra-Núñez et al. 2001). Les fourrageuses arboricoles et solitaires rapportent des proies, vivantes ou mortes à part égale (fourmis, autres hyménoptères, chenilles, termites…), principalement pour les larves (Wheeler 1986, Dejean & Lachaud 1992, Lachaud et al. 1996). Elles collectent aussi des nectars floraux et extra-floraux, représentant un tiers à la moitié des apports au nid, et peuvent aussi élever des Homoptères (Wheeler 1986, Dejean & Lachaud 1992, Lachaud et al. 1996). Le fourragement est souvent crépusculaire mais peut être nocturne ou matinal selon les populations (Wheeler 1986).

Le nid, souterrain, est situé entre les racines d'un arbre et contient plusieurs chambres organisées verticalement en suivant la racine principale de l'arbre (Cook 1905). L'entrée du nid, caractéristique de l'espèce, est une cheminée de végétaux remontant le long du tronc de l'arbre sur une ou plusieurs dizaines de centimètres (Figure 1, Wheeler 1986).

Les colonies sont facultativement polygynes et contiennent une cinquantaine à quelques centaines d'ouvrières (Hora et al. 2005b, Zinck et al. 2007, Fénéron et al. 2013). Le dimorphisme entre ouvrières et reines est relativement marqué : les reines sont plus grandes et possèdent un appareil reproducteur plus développé, comprenant 8 ou 9 ovarioles contre 1 à 3 pour la majorité des ouvrières (Fénéron & Billen 1996). Les reines, spécialisées dans la ponte, diffèrent des gynes non accouplées au niveau cuticulaire leur conférant une apparence plus mate (Hora et al. 2008). Des reines miniatures parfois observées dans certaines colonies sont en réalité une espèce distincte et parasite, *E. parasiticum* (Hora et al. 2005a, Feitosa et al. 2008). En cas de danger, les ouvrières peuvent émettre des stridulations dans les ultra-sons, grâce à un appareil stridulatoire localisé au niveau du gastre (De Carli et al. 1996). Un polyéthisme temporel est observé entre ouvrières avec une éthogenèse

individuelle classique depuis les soins au couvain vers les activités extérieures au nid, en particulier le fourragement (Fénéron et al. 1996). Les jeunes ouvrières sont capables de discriminer le couvain homocolonial du couvain hétérocolonial de même espèce (Fénéron & Jaisson 1992, 1995).

LES LARVES

Stades et morphologie

La description de Wheeler and Wheeler (1976) basée sur des critères morphologiques permet de classer les larves d'*E. tuberculatum* parmi les larves de forme pogonomyrmecoïde (Figure 2). Le nombre de stades larvaires n'étant pas connu chez cette espèce, nous avons déterminé les différents stades larvaires à partir d'observations de leur morphologie externe sous loupe binoculaire. Pour cela, nous avons observé plusieurs centaines de larves issues d'une dizaine de colonies. Les longueurs des larves sont données à titre indicatif à partir des larves d'une colonie (Tableau 1, Figure 3).

Nous avons pu discriminer quatre stades larvaires, grâce à la disposition des soies et à la taille des larves (Figure 4). La taille des larves augmente avec le stade, mais des chevauchements de taille entre stades sont observés (Tableau 1, Figure 3). Les larves du premier stade (L1) sont très claires, presque blanches, et aucune soie n'est visible sous loupe binoculaire. Ces larves adhèrent fortement entre elles et aux œufs. Les larves du deuxième stade (L2) possèdent une ou deux rangées de soies par métamère, les larves du troisième stade (L3) possèdent environ quatre rangées de soies par métamère et les larves du quatrième stade larvaire (L4) possèdent plus de six rangées de soies par métamère. Ce dernier stade est facilement reconnaissable, y compris à l'œil nu avec un peu de pratique, de par sa taille et sa forte densité de soies.

Notre identification de quatre stades est donc basée sur ce critère du nombre de rangées de soies par métamère, complété par quelques indices comme l'observation de quelques mues entre les stades ainsi décrits et la différence d'aspect des larves, cuticule externe tendue ou présentant des replis, probablement avant et après la mue respectivement. Cependant, nous ne pouvons exclure la possibilité qu'un cinquième stade existe avec le même nombre de soies par métamère qu'un des stades précédemment décrit. De nombreuses espèces possèdent trois ou quatre stades larvaires (Petralia & Vinson 1979, Baratte et al. 2005, De Jesus et al. 2010, Penick et al. 2012), mais certaines en possèderaient cinq, exceptionnellement six (Wheeler & Wheeler 1976, Hölldobler & Wilson 1990, Ramos Lacau et al. 2008). Au cours de cette thèse, nous avons utilisé des larves de troisième et quatrième

stade, et pour le quatrième stade, nous avons pris soin d'éviter les larves de très grande taille, susceptibles d'atteindre un autre stade ou un stade pré-nymphal.

Lors des prélèvements larvaires, nous avons pu observer quelques larves en train de muer. Dans ce cas, la cuticule de la larve s'ouvre à partir de la face dorsale de la partie antérieure de la larve. La partie antérieure de la larve sort ensuite de l'exuvie, suivie par le corps et enfin la partie postérieure de la larve (Figure 4). Cette description est proche des descriptions des mues chez *Solenopsis sp*. (Petralia & Vinson 1979, Fox et al. 2011) et *Diacamma ceylonense* (Baratte et al. 2005).

Comportements larvaires

Le répertoire comportemental des larves de fourmi est rarement décrit, y compris pour les larves d'*E. tuberculatum* qui n'avaient pas été étudiées jusqu'à présent, à l'exception des extravagantes descriptions de Cook, qui croyait que cette espèce n'était pas une fourmi (Cook 1905). Nous décrivons donc ici les principaux mouvements des larves, suite à des observations directes ou suite à des enregistrements filmés.

Les larves reposent généralement sur la face dorsale, la face ventrale étant dirigée vers le haut et la partie antérieure de la larve étant recourbée vers l'arrière. À partir de cette position de repos, les larves peuvent réaliser deux principaux mouvements. Tout d'abord, le mouvement le plus fréquent (environ 70 % des mouvements observés) est un mouvement dit de rotation (*swaying movement*). La partie antérieure du corps de la larve se redresse et effectue des mouvements dans différentes directions pendant en moyenne 25 secondes, mais pouvant varier de 1 à plus de 120 secondes. Ces mouvements semblent parfois dirigés vers une ouvrières ou vers la nourriture. Le second mouvement est appelé mouvement de balancement (*stretching movement,* environ 25 % des mouvements observés), la partie antérieure du corps de la larve se redresse et s'étend à l'horizontal avant de revenir rapidement dans sa position initiale. Le mouvement dure 1 à 2 secondes dans la plupart des cas et peut être répété plusieurs fois successivement, en séquence de 1 à une dizaine de balancements. Des mouvements des mandibules de la larve sont observés durant ces mouvements de rotation et de balancement. Deux autres mouvements sont observés plus rarement (environ 5 % des mouvements observés). Lorsque la larve est sur le côté, elle peut se redresser sur le dos durant un mouvement appelé redressement, qui dure une dizaine de secondes. Enfin, la larve peut aussi effectuer un mouvement de reptation dans différentes directions, lui permettant de se déplacer d'environ un millimètre en une dizaine de secondes.

Ces mouvements ne sont pas spécifiques de l'espèce et certains peuvent correspondre à ceux décrits sur des espèces proches phylogénétiquement ou dont la morphologie larvaire est semblable. Ainsi, le mouvement de rotation (*swaying movement*) correspond à celui décrit par Kaptein et al. (2005) chez *Gnamptogenys striatula* ("a gentle poising and reaching towards the food or the workers"), même si dans notre cas, le mouvement n'est pas toujours dirigé vers une ouvrière ou vers la nourriture, et ressemble au "*swirling*" de l'espèce *Myrmica rubra* décrit par Creemers et al. (2003) ("a head movement in the stretch position"). Le mouvement de balancement (*stretching movement*) correspond au mouvement décrit par Kaptein et al. (2005) chez *G. striatula* ("an obvious and rhythmic stretching of the whole body"). Le mouvement de reptation est quant à lui mentionné chez *E. ruidum* ("The larvae were seen to progress slowly forward by an undulating motion" Weber 1946).

NOURRISSAGE ET SOINS DES LARVES

Les larves d'*E. tuberculatum* sont principalement nourries de proies, déposées sur le ventre ou à côté des larves (Figure 5). Des nourrissages par des gouttelettes de liquide portées entre les mandibules des ouvrières (pseudo-trophallaxie, Figure 1 et 5) sont aussi observés, ainsi que des nourrissages par des œufs trophiques (Figure 5) (Cook 1905, Fénéron & Billen 1996).

Les autres soins aux larves effectués par les ouvrières sont le nettoyage et le transport des larves (Figure 5) et correspondent aux descriptions classiques des soins aux larves (Le Masne 1953, Hölldobler & Wilson 1990).

Les ouvrières disposent souvent les larves et œufs en plusieurs cercles concentriques (Figure 4), comme rapportés pour d'autres espèces (Hölldobler & Wilson 1990). Dans le détail, on observe que les œufs et les larves du premier stade sont au centre et les cercles de plus en plus larges contiennent les larves de plus en plus grandes. Les plus grandes larves du dernier stade sont séparées des autres larves et disposées avec les cocons, dans une autre chambre.



Figure 1 : *Ectatomma tuberculatum* en images.

Photos : Matilde Sauvaget

Haut, de gauche à droite : Fourrageuse au Mexique. Entrée d'un nid formée d'une cheminée de végétaux. Structure d'un nid lors de l'excavation : trois chambres sont visibles.

Milieu, de gauche à droite : Ouvrière en laboratoire. Transport de gouttelette entre les mandibules.

Bas, de gauche à droite : Reine sur le jeune couvain (œufs foncés, larves L1 et L2). Gyne ailée.

Ci-contre : Une espèce facile à manipuler.

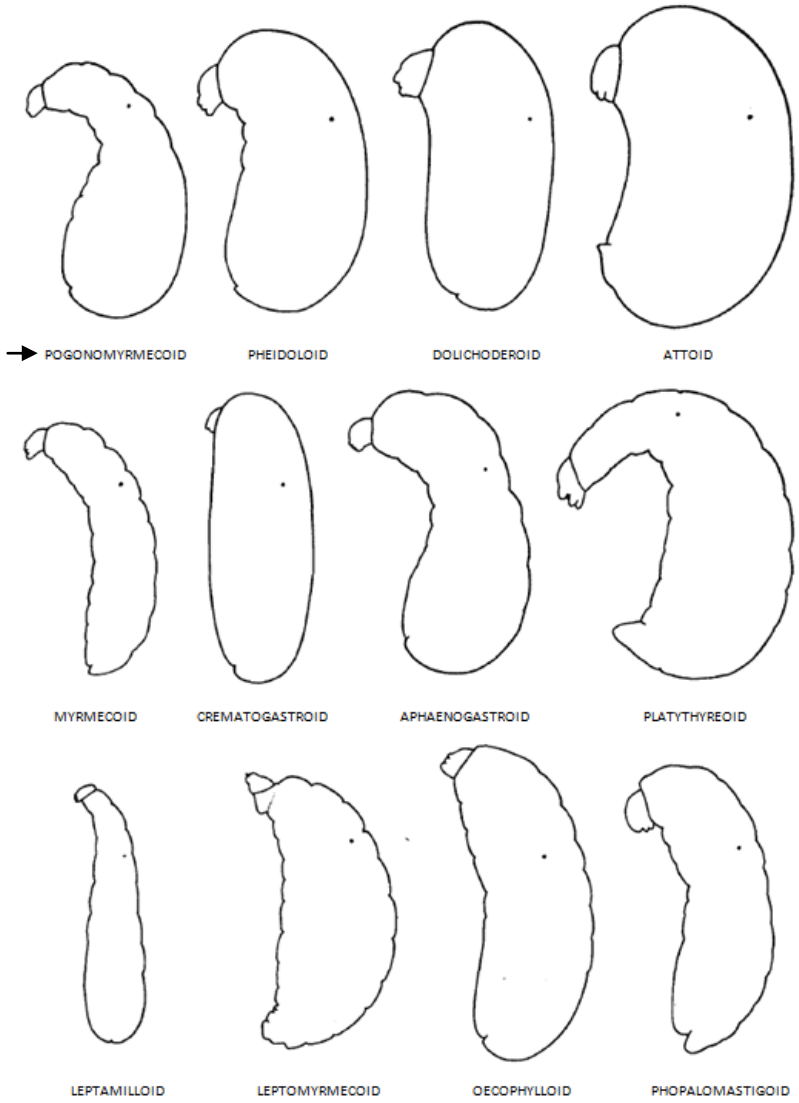


Figure 2 : Classification des formes larvaires (Wheeler & Wheeler 1976). Les larves d'*E. tuberculatum* sont classées parmi les pogonomyrmécoïdes (flèche).

Tableau 1 : Taille et morphologie des larves d'une colonie d'*E. tuberculatum*. La longueur est mesurée en position de repos (partie antérieure repliée sur la face ventrale) et en position latérale (distance depuis les mandibules jusqu'à l'extrémité postérieure en suivant les spiracles des larves).

	Longueur en position de repos (mm) (mean ± SD)	Longueur en position latérale (mm) (mean ± SD)	Soies
L1 (N = 3)	1.1 ± 0.07 Min = 1.1, Max = 1.2	1.6 ± 0.06 Min = 1.5, Max = 1.7	Aucune soie visible
L2 (N = 27)	1.5 ± 0.2 Min = 1.1, Max = 1.9	2.3 ± 0.3 Min = 1.8, Max = 2.8	1 ou 2 rangée(s) de soies par métamère
L3 (N = 41)	2.5 ± 0.5 Min = 1.5, Max = 3.5	3.5 ± 0.6 Min = 2.4, Max = 4.6	4 rangées de soies par métamère
L4 (N = 63)	4.2 ± 1.1 Min = 2.5, Max = 6.6	5.5 ± 1.2 Min = 3.7, Max = 8.2	Plus de 6 rangées de soies par métamère

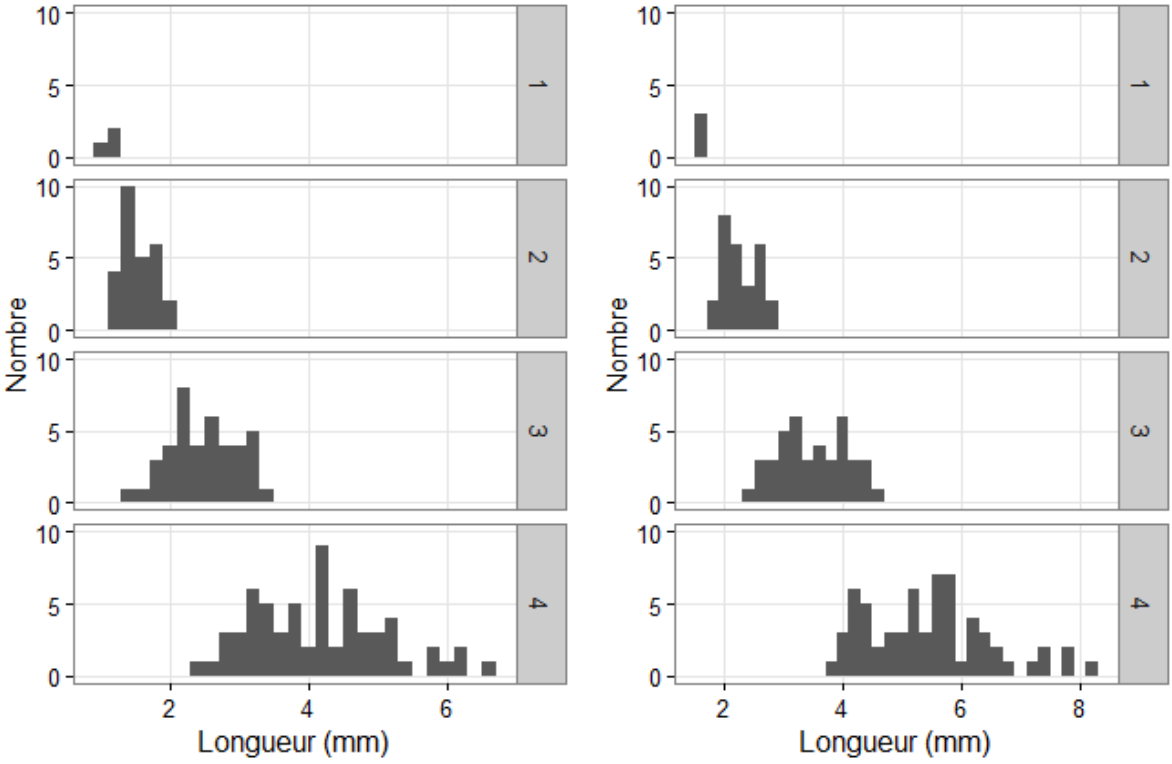


Figure 3 : Répartition de la taille des larves par stade larvaire (de haut en bas, du premier au dernier stade larvaire). A gauche, longueur en position de repos, à droite, longueur en position latérale (mm).



Figure 4 : Stades et mues larvaires de l'espèce *E. tuberculatum*.

Photos : Matilde Sauvaget.

Haut : Œuf et les quatre stades larvaires.

Milieu : Larve en train de muer vers le 3ème stade, la partie antérieure du corps est déjà sortie de l'exuvie.

Ci-contre : Organisation spatiale concentrique des larves et œufs dans le nid.



Figure 5 : Soins aux larves chez *E. tuberculatum*.
Photos : Matilde Sauvaget.

Haut : Distribution d'une proie aux larves.
Milieu, de gauche à droite : Pseudo-trophallaxie avec deux larves ; Deux larves consommant un œuf trophique.
Bas, de gauche à droite : Nettoyage d'une larve ; Transport d'une larve.

Chapitre 1 : Influences de l'état nutritionnel et du stade de développement sur les mouvements larvaires et l'apport alimentaire par les ouvrières

RESUME

Les parents investissent dans l'approvisionnement alimentaire des jeunes, ce qui leur permet d'augmenter leur succès reproducteur. Les parents utilisent alors les signaux de quémande des jeunes comme un facteur proximal pour contrôler l'approvisionnement et la répartition des aliments. Les modèles de sollicitations honnêtes développés autour de ces concepts impliquent que (i) l'intensité des quémandes des jeunes varie en fonction du besoin de ces jeunes et que (ii) les parents répondent par un apport alimentaire selon l'intensité des quémandes. Dans ce chapitre, nous avons testé ces deux prédictions dans une espèce eusociale, la fourmi *Ectatomma tuberculatum*. Dans cette espèce, les larves réalisent des mouvements de la partie antérieure du corps dont nous supposons qu'ils pourraient avoir un rôle de quémande alimentaire. En effet, les colonies de fourmis contiennent un grand nombre de larves ayant des besoins différents et l'existence d'un système de communication honnête grâce aux quémandes des larves pourrait contribuer aux choix de répartition des ressources alimentaires au sein de la colonie et ainsi potentiellement procurer un avantage évolutif. Ici, pour tester nos hypothèses, nous avons utilisé de petits groupes expérimentaux contenant quelques ouvrières et des larves dont le besoin différait : l'état nutritionnel de ces larves différait (larves préalablement bien nourries ou préalablement non nourries) ou bien le stade de développement différait (larves de troisième ou de quatrième -dernier- stade larvaire). Nous avons enregistré les mouvements des larves juste avant que les ouvrières n'aient distribué l'item alimentaire que nous avions fourni. Nous avons aussi noté quelle larve était ainsi nourrie en premier dans chaque groupe par les ouvrières. De manière surprenante, les larves préalablement non nourries n'ont pas réalisés significativement plus de mouvements que les larves préalablement bien nourries. Cependant, les larves les plus âgées dont le besoin est supposé supérieur ont réalisé davantage de mouvements que les larves du stade de développement précédent. La larve nourrie en premier lieu par les ouvrières avait réalisé plus de mouvements que les autres larves. Dans une expérience complémentaire, nous avons isolé des larves de l'influence des contacts avec les ouvrières et l'expression des mouvements de ces larves en fonction de l'état nutritionnel et du stade de développement est similaire. Nous en concluons que les mouvements des larves d'*E. tuberculatum* ne reflètent pas complètement les besoins nutritionnels des larves. Ces mouvements larvaires pourraient porter d'autres informations, et être un signal de qualité ou un indice d'activité général. Nos résultats ne soutiennent donc que partiellement les prédictions des modèles de quémandes honnêtes.

Manuscrit en préparation pour le journal Animal Behaviour

Larval movements in the ant *Ectatomma tuberculatum*: begging signals or general cues?

M. Sauvaget, O. Kerdjani, F. Savarit, D. Fresneau and R. Fénéron

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée E.A. 4443 (LEEC), Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, 93430 Villetaneuse, France

ABSTRACT

Parents often invest in offspring food provisioning to increase their reproductive fitness and they use offspring begging signals as a proximate factor to control food provisioning and allocation. Honest signalling models require that begging intensity varies with offspring needs and that parents respond accordingly by provisioning offspring. These predictions were tested in a highly social insect, the ant species *Ectatomma tuberculatum,* in which larvae display specific movements supposed to be a begging signal. Indeed, as numerous larvae with different needs live within a colony, honest communication through larval begging could contribute to decision making about food allocation and thus potentially increase colony fitness. In our study, we used small experimental groups including workers and larvae varying in their need, with respect to their nutritional state (well-fed *versus* food-deprived and thus expectantly hungry larvae) or their developmental stage (third- *versus* fourth-instar larvae). We monitored the larval movements just before food delivery and recorded which larvae were first supplied with food by workers. Unexpectedly, food-deprived larvae did not display significantly higher frequencies of swaying movements than well-fed larvae. However, older larvae supposed to have greater needs displayed significantly more movements than younger larvae. In both experimental tests, workers preferentially fed larvae displaying more movements. A complementary experiment confirmed that larvae isolated from workers showed similar movement patterns depending on their nutritional state and development stage. We conclude that larval movement displays in *E. tuberculatum* did not encode their nutritional state accurately. Alternatively, larval movement displays might convey other information, such as signals for quality or general cues. Therefore, our results support only partly the predictions of honest signalling models and challenge the generality of larval begging for food in ants.

INTRODUCTION

In various species, parents invest in offspring food provisioning after birth or hatching to increase their reproductive fitness and offspring typically invest in various displays, such as vocalizations, ornaments, releasing odours, postures and movements to obtain more food from the parents, therefore increasing their own reproductive fitness (Trivers 1974, Royle et al. 2012). This situation can be an evolutionary stable strategy in the context of honest communication, which assumes that such offspring begging behaviour conveys reliable information on offspring's needs (Godfray 1991, Royle et al. 2004, Johnstone & Kilner 2011). Parents therefore use begging signal as a proximate factor to control food provisioning and allocation of resources between offspring. Honest signalling models have thus yielded three main predictions (Godfray 1991, 1995, Kilner & Johnstone 1997). First, begging intensity would reflect offspring need. Second, parents would provision young according to begging intensity. Third, begging should be costly for the evolutionary stability of the system. The last prediction has been largely debated and is still controversial (Maynard Smith 1994, Brilot & Johnstone 2003, Moreno-Rueda 2007, Zahavi 2008, Higham 2014). The two first predictions have been tested experimentally in a wide range of taxa, including insects (Budden & Wright 2001, Mas & Kölliker 2008, Bradbury & Vehrencamp 2011). For instance, in the sub-social burying beetle *Nicrophorus spp.* with partial begging, larvae can feed by themselves and benefit from parental regurgitation adopting a typical posture with tactile stimuli towards the mouthparts of the parents (Rauter & Moore 1999). Such behaviour appears more intensive in food-deprived larvae than well-provisioned ones (Smiseth & Moore 2004).

Honest begging models were also tested in highly social insects (Mas & Kölliker 2008). However, due to reproductive altruism, eusocial colonies differ from simple parent-offspring families, as eusocial colonies include many non-reproductive workers specialised in foraging or nursing the brood (Wilson 1971). In this situation, individual inclusive fitness relies mostly on indirect fitness through colony development and honest communication for food needs between nestmates could have been selected as it could optimise resources of the colony (Mas & Kölliker 2008, Bourke 2011). Accordingly and as larvae are highly dependent on worker care, tactile behaviours in the termite *Reticulitermes speratus* (Kawatsu 2013), acoustic vibrations in the wasp *Vespa orientalis* (Ishay & Landau 1972) and chemicals in bumblebees and honey bees (Huang & Otis 1991, Den Boer & Duchateau 2006, He et al. 2016) were shown to be involved in larval food provisioning. In ants, larval movements are usually limited to the anterior part of the body (Le Masne 1953, Wheeler & Wheeler 1976). Nevertheless, ant larvae attract workers in order to obtain food by a stretching posture of the body in *Myrmica rubra* (Brian & Abbott 1977, Creemers et al. 2003) or by swaying movements of the anterior part in *Gnamptogenys striatula* (Kaptein et al. 2005). In these

two ant species, the relation between movements and food provisioning was interpreted as larval begging signals, as stated in the second prediction of begging models (Godfray 1995, Kilner & Johnstone 1997). The first prediction indicating a relation between need and begging was tested in only one ant species *G. striatula*, where hungrier larvae, i.e. with greater need, actually displayed more movements (Kaptein et al. 2005).

Colonies of ants differ from simple parent-offspring families in a further life history trait, as they have overlapping generations with a continuous brood production (Hölldobler & Wilson 1990). Ant colonies then frequently include larvae differing in their hunger state and their developmental instar and, consequently, differing in their need for food. As simultaneous presence of larvae with different needs for food is a common situation in ant colonies, we tested situations where larvae differ in their potential need for food: first, larvae differed in their nutritional state and second, larvae differed in their developmental stage. We used larvae of the poneromorph ant *Ectatomma tuberculatum,* a neotropical Ectatomminae (Weber 1946, Bolton 2003), since these larvae can display some movements of the anterior part that could represent begging signals, as it has been shown in other ant species as well (Creemers et al. 2003, Kaptein et al. 2005).

Our first objective was to investigate whether larval movement intensity varied with larval need, either nutritional state or developmental stage, as in begging models. Food-deprived larvae are supposed to be hungry and to have a higher need, short term need, than well-fed larvae. Larvae of late development instar are supposed to have a higher need for food than larvae of previous instar of development as they have a greater size, a higher growth (Franks & Sendova-Franks 1992, as described in other species: Baratte et al. 2005) and as they may be accumulating resources for their upcoming metamorphosis (Wheeler & Buck 1992). We then expected that these higher needs might be then reflected in a higher movement intensity of larvae. We explored this hypothesis using small experimental nests containing some larvae and a few workers. Our second objective was to study the food provisioning response by the workers and we expected that workers would feed in the first place larvae displaying movements at a high intensity. In addition to our first objective, testing whether larval movement intensity varied with larval need, we monitored the larval movements in another experiment, independently of the workers' behaviours, with larvae isolated from workers. This was done to particularly study the relationship between nutritional state, developmental stage and larval movements in a situation without tactile communication between larvae and workers.

METHODS

General methods

- Stock colonies and rearing conditions

Six stock colonies of *E. tuberculatum* ants were used in this study. Five of them were collected in Apazapan (19,19° N, 96,43° W, Veracruz, Mexico) in 2009 and 2011, and one was funded by sexuals produced and mated in the laboratory. These colonies included one to four queens, several hundred workers and brood.

Stock colonies were maintained in moistened plaster nests (26 x 16 cm) connected to a foraging area (29 x 28 cm) and kept in the breeding room at 27 ±1°C, 65 ±10% relative humidity and 12:12 h light:dark cycle. They were fed with pieces of killed insects (crickets, mealworms) and with a mixture of apple and honey.

- Larval instars and movements

We identified four larval instars in *E. tuberculatum* (unpublished data), but we only used larvae of the last two instars. Larvae of the third-instar are 3.5 ±0.6 mm long (mean ±SE) and have about four rows of hair per somite; larvae of the fourth-instar are 5.5 ±1.2 mm long and have more than six rows of hair per somite. These larvae are usually laying on the dorsal surface with the anterior body part curved ventrally. From this position, they display three kinds of movements (two of them are shown in Video S1 in Supplementary Material). First, for the swaying movement, the larva usually raises the anterior part of the body which waves in various patterns and directions. This movement is frequently (but not always) directed towards workers and food, and seems to correspond to the swirling movement described in *M. rubra* (Creemers et al. 2003) and to the swaying movement described in *G. striatula* (Kaptein et al. 2005). Second, during the stretching movement, the larva raises its anterior body part and pulls it down rapidly in the horizontal plane. This movement occurs singly or repeatedly in a sequence. Third, during the crawling movement, the complete body of the larva moves forward for a few millimetres. Stretching and crawling movements were only rarely observed in this study, and thus were excluded from further analysis.

- Experimental nests and observation conditions

To study the occurrence of larval movements, small groups of workers and larvae were sampled from the same stock colony and were housed in experimental nests. An experimental nest consisted of a small moistened plaster chamber (3.6 x 2.0 cm) connected by the middle of its long side to a plastic foraging area (14 x 10 cm) using a path (0.8 cm

diameter, around 10 cm length). The nest chamber was covered by a glass through which ants could be observed and filmed, and by a removable black cover. During all the experiments, the nest chamber was filmed under red and infrared light conditions with a camcorder Sony HDR-CX740 mounted over the experimental setting.

- Statistical methods

All statistical analyses were performed with R 3.2.2 (R Core Team 2015) using the package coin 1.1 (Hothorn et al. 2008). Group was used as statistical unit. Comparisons of two samples were performed with Fisher-Pitman permutation test with 1,000,000 permutations. Comparisons of more than two samples were performed with General symmetry test with 1,000,000 permutations. When comparison occurred within the same group, the test was stratified by group.

Experiment 1: Effects of nutritional state and developmental stage

In this experiment, we tested whether larval movement intensity reflected the current nutritional state and the developmental stage of the larvae and whether it was associated with food provisioning by the workers.

- Experimental design

Five days before the experiment, third- and fourth-instar larvae were taken from the stock colonies and isolated into preparation nests with some workers to care for them. Larvae were assigned to one of the two following conditions. (i) In the food-provisioned condition, nests were provisioned with pieces of crickets which were renewed the day before the experiment. We expected larvae under this food-provisioned condition were well-fed. (ii) In the food-deprived condition, workers and larvae had no access to any food for five days and we expected larvae under this food-deprived condition were hungry and had higher need. Five days before the experiment as well, workers were sampled randomly, half from the nest and half from the foraging area of stock-colonies. They were paint-marked with dots on thorax and abdomen (uni®Paint Markers), placed into experimental nests by group of eight and deprived of food. Starvation is supposed to enhance foraging and food provisioning during the experimental day. Two larvae were provided to the workers to stimulate them continuing with nursing behaviour, but removed before the experiment began.

During the experiment, eight larvae were introduced into the experimental nest, which already included workers from the same stock colony. To test the effects of nutritional state (a), we used well-fed larvae *versus* food-deprived larvae, four of each, all belonging to the fourth-instar. To test the effects of developmental stage (b), we used third-instar larvae

versus fourth-instar larvae, four of each, all of them being previously food-deprived. Larvae were previously marked with a small spot of red or black china ink (Stantardgraph TM) on the ventral face, switching the colours to avoid any bias.

Five hours after adding the larvae, we provided one small food item, i.e. a piece of cricket, into the foraging area and then filmed the chamber of the experimental nest for six hours.

- Data processing

Each experimental group of eight larvae and eight workers was tested once. To investigate the effects of nutritional state (a), we set up 24 groups. However, only 15 groups were included in the analyses, as single larvae died in five of the groups and no food provisioning occurred during the experiment in four other groups. To investigate the effects of developmental stage (b), we set up 13 groups, but included only 12 groups in the analyses due to larval death.

For each experimental group, we observed which larva was fed in first position by the workers with the food item. This larva is therefore called "first-fed larva" and other larvae are called "non-fed larvae". We recorded the swaying movements of all larvae during the 15 min preceding this first larval feeding. After the first larval feeding, we recorded which larvae were fed in second and in third positions by the workers with the food item.

First, the mean numbers and durations of the movements per group were compared between conditions (a) or between instars (b). Second, we compared the proportion of larvae in each condition (a) or each instar (b) that were first-fed to a proportion of 0.5 with a binomial test. Then, we compared whether larvae of one condition (a) or one instar (b) was more frequently fed than the other when including the two and three first-fed larvae. Finally, the mean numbers and durations of the movements per group were compared between "first-fed larva" and "non-fed larvae" (a & b).

Experiment 2: Effects of nutritional state and developmental stage on movements of isolated larvae

To further explore the relationship between nutritional state, developmental stage and larval movements, we monitored the behaviours of third- and fourth-instar larvae at different nutritional states when isolated from the workers.

- Experimental design

Groups of eight to thirteen larvae plus eight workers were placed into experimental nests. They were supplied with pieces of crickets previously coloured in blue with a food dye

(Brilliant Blue FCF, Vahiné TM). Food dye was used as a marker of food ingestion, colouring the digestive tract of the larvae (e.g. Cassill & Tschinkel 1995). The following day (day 1), we checked under a binocular microscope the dyed well-fed larvae, removed the other larvae from the experimental nest, and deprived well-fed larvae of food for 6 or 7 days. For each group, we observed larval behaviour on day 1 (well-fed) and then at two points during the starvation period (food-deprived), on day 3 or 4 and on day 6 or 7. Finally, at the end of day 6 or 7, pieces of crickets were provided again to the ants and we observed larvae on the following day (day 7 or 8, well-fed). Slight variation in timing was due to the use of two cohorts of groups. For each observational session, we set apart the larvae and placed them in a part of the nest isolated from the workers by a screening mesh. This enabled the larvae to perceive worker odours but kept them from receiving worker contacts.

- Data processing

From four stock colonies, we set up seven groups including 11 to 13 larvae of the third-instar and six groups including 7 to 9 larvae of the fourth-instar. A total of 124 larvae were used. Larval mortality remained low during the starvation period (9 out of 124 larvae).

We recorded larval swaying movements during one hour for each observational session. The mean numbers and durations of the movements per group were compared between nutritional states (paired samples) or between instars (independent samples).

RESULTS

Effects of nutritional state on larval movement and feeding response

More than half of the larvae displayed at least one swaying movement during the 15 minutes preceding food provisioning: 31 out of 60 food-deprived larvae (52%) and 36 out of 60 well-fed larvae (60%). The amount of movements did not significantly differ between food-deprived larvae and well-fed larvae (Fisher-Pitman permutation test for paired samples: $Z = 1.18$, $N_{groups} = 15$, $P = 0.27$, Figure 1a) and similar non-significant results were found using the duration of the movements ($Z = 1.72$, $N_{groups} = 15$, $P = 0.08$, Figure 1b).

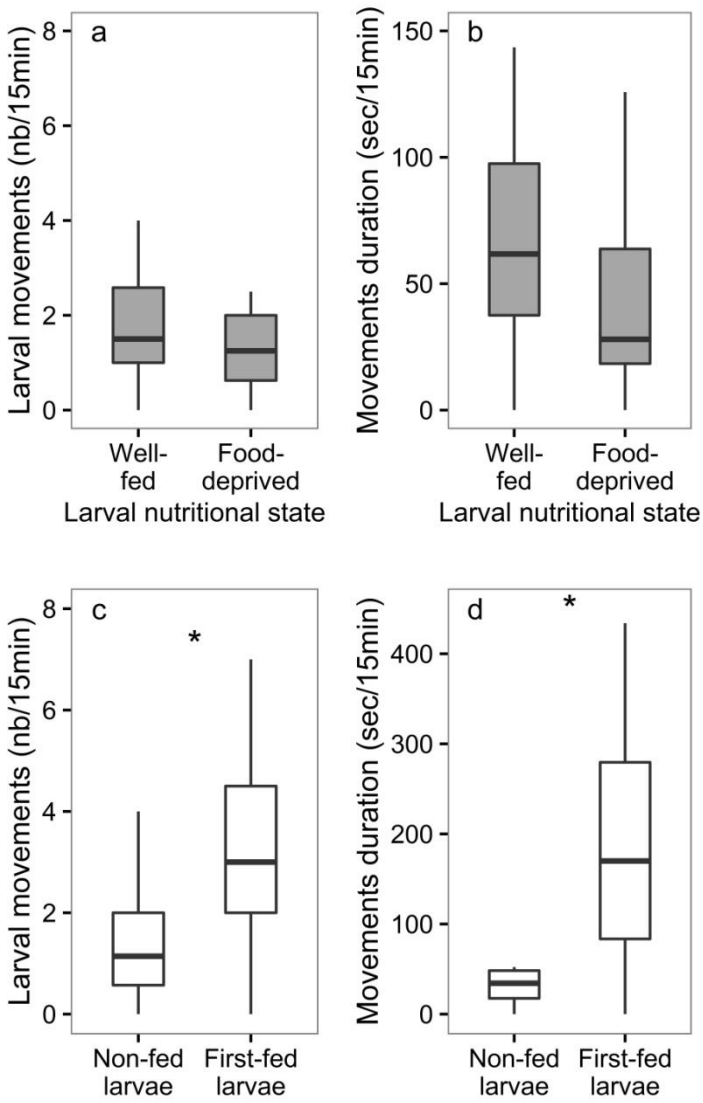


Figure 1: Number (a) and duration (b) of larval swaying movements of well-fed larvae and food-deprived larvae (4 days of starvation) simultaneously present in the experimental nests. Number (c) and duration (d) of larval swaying movements of the "first-fed larva" (fed in the first place by the workers) and the other, "non-fed larvae". The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range. N_{groups} = 15. Comparison by Fisher-Pitman permutation tests for paired samples: * $P < 0.05$.

Workers did not significantly feed food-deprived larvae compared to well-fed larvae in the first place as food-deprived larvae were first-fed in 8 out of 15 groups (Binomial test: N_{groups} = 15, P = 1). No significant preferential choice was observed when including the subsequent

food provisioning (Fisher-Pitman permutation test for paired samples: $Z = 0$, $N_{groups} = 12$, $P = 1$ and $Z = 0.71$, $N_{groups} = 8$, $P = 0.73$, two and three first food provisioning, respectively).

However, the "first-fed larvae" performed significantly more swaying movements than the other, "non-fed larvae" (Fisher-Pitman permutation test for paired samples: $Z = -2.02$, $N_{groups} = 15$, $P = 0.042$, Figure 1c) and their movements lasted significantly longer ($Z = -2.48$, $N_{groups} = 15$, $P = 0.005$, Figure 1d).

Effects of developmental stage on larval movement and feeding response

Just before food provisioning, 9 out of 47 third-instar larvae (19%) and 31 out of 47 fourth-instar larvae (66%) displayed at least one swaying movement during 15 minutes. Fourth-instar larvae displayed significantly more swaying movements than third-instar larvae (Fisher-Pitman permutation test for paired samples: $Z = -2.30$, $N_{groups} = 12$, $P = 0.022$, Figure 2a). Results were not significantly different with respect to the duration of swaying movements ($Z = -0.36$, $N_{groups} = 12$, $P = 0.72$, Figure 2b).

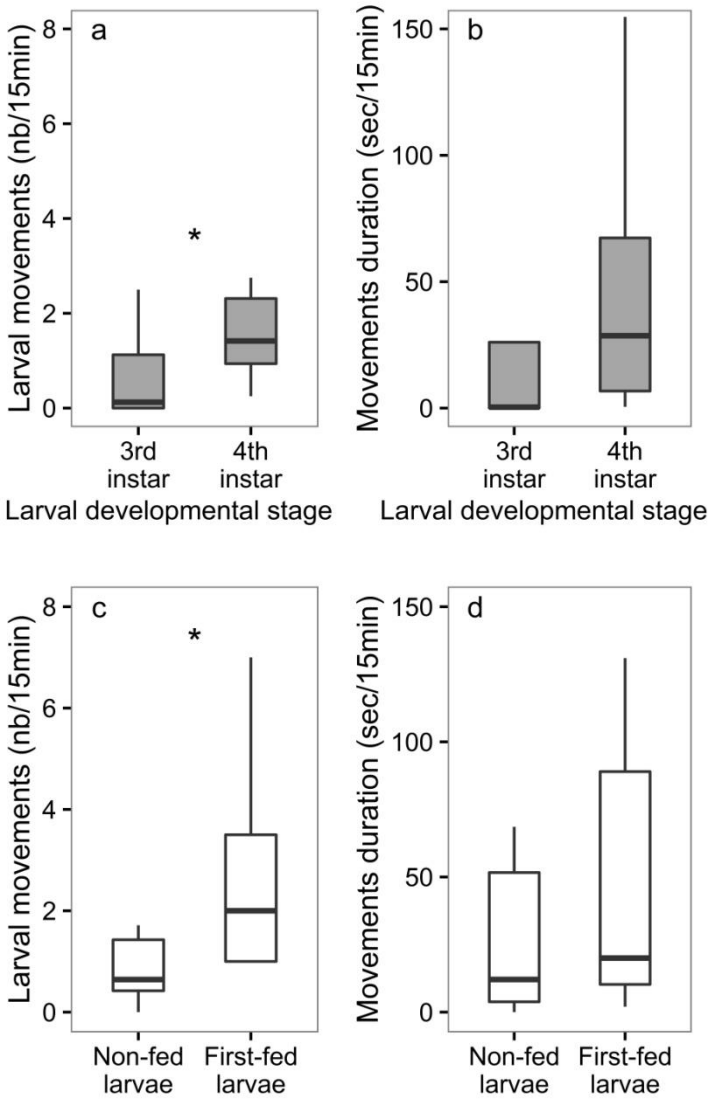


Figure 2: Number (a) and duration (b) of larval swaying movements of third- and fourth-(last) instar larvae simultaneously present in the experimental nests. Number (c) and duration (d) of larval swaying movements of the "first-fed larva" (fed in the first place by the workers) and the other, "non-fed larvae". The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range. N_{groups} = 12. Comparison by Fisher-Pitman permutation tests for paired samples: * $P < 0.05$.

Workers fed in the first place significantly more fourth-instar larvae compared to third-instar larvae as in all observed cases fourth-instar larvae were fed prior to third-instar larvae (Binomial test: N_{groups} = 12, P = 0.0005). Subsequent food provisioning was also significantly

more directed to fourth-instar larvae (Two first larvae fed, Fisher-Pitman permutation test for paired samples: Z = -2.45, N_{groups} = 9, P = 0.032).

"First-fed larvae" displayed significantly more swaying movements than other, "non-fed larvae" (Fisher-Pitman permutation test for paired samples: Z = -2.34, N_{groups} = 12, P = 0.006, Figure 2c). The duration of movements did not significantly differ between "first-fed" and "non-fed larvae" (Z = -1.59, N_{groups} = 12, P = 0.10, Figure 2d).

Movements of larvae isolated from workers

We measured the movements of larvae isolated from workers (Figure 3). First, we compared larval movement at day 1 (well-fed), day 3-4 and day 6-7 (food-deprived) to check for an effect of nutritional state. During one hour, 6% of well-fed larvae and 12% of food-deprived (day 3-4) larvae of the third-instar displayed at least one swaying movement. The number and duration of larval movements of third-instar larvae did not significantly differ according to nutritional state (General symmetry permutation test for paired samples: number: X_2 = 1.25, P = 0.68, Figure 3; duration: X_2 = 2.46, P = 0.18, Figure S1 in Supplementary Material). For fourth-instar larvae, 37% of well-fed larvae and 22% of food-deprived larvae (day 3-4) displayed at least one swaying movement. The number of larval movements significantly differed according to nutritional state (General symmetry permutation test for paired samples: X_2 = 7.91, P = 0.003, Figure 3), but duration of larval movements did not significantly differ (X_2 = 4.84, P = 0.07, Figure S1 in Supplementary Material).

Second, to check for an influence of time within the same instar, we compared larval movements at day 1 (well-fed) and day 7-8 (also well-fed). Well-fed larvae movements did not significantly change between first and second measurement for third-instar larvae (Fisher-Pitman permutation test for paired samples: Z = 0.31, N_{groups} = 7, P = 0.94, Figure 3) and for fourth-instar larvae (Z = 0.18, N_{groups} = 6, P = 0.75, Figure 3).

Fourth-instar larvae displayed significantly more and longer movements than third-instar larvae when larvae were well-fed (Fisher-Pitman permutation test for independent samples: number: Z = -2.60, N_{third} = 7, N_{fourth} = 6, P = 0.001, Figure 3; duration: Z = -2.18, N_{third} = 7, N_{fourth} = 6, P = 0.001, Figure S1 in Supplementary Material). However, when larvae were food-deprived, third-instar and fourth-instar larval movements did not differ significantly with respect to their frequency (Z = -0.71, N_{third} = 7, N_{fourth} = 6, P = 0.49, Figure 3) and duration (Z = -0.71, N_{third} = 7, N_{fourth} = 6, P = 0.47, Figure S1 in Supplementary Material).

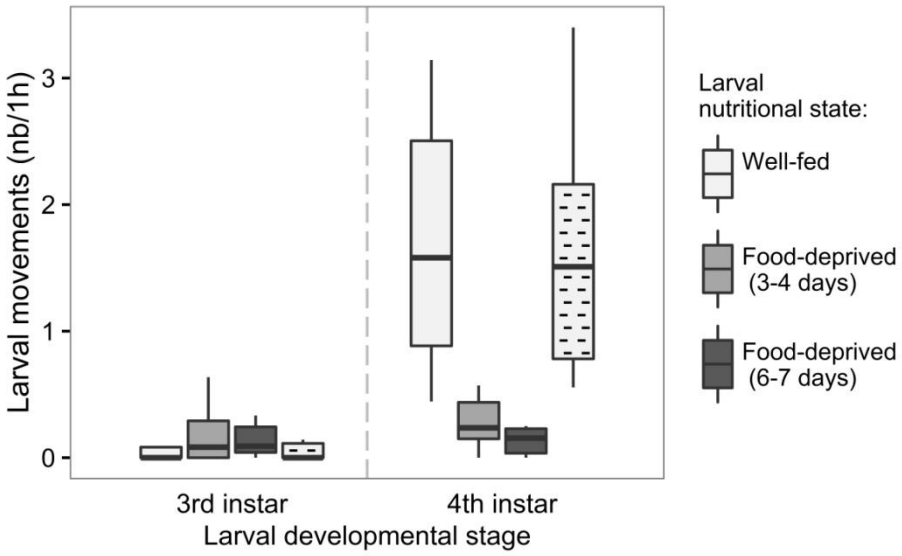


Figure 3: Number of larval swaying movements for larvae of the third-larval instar (N_{groups} = 7, N_{larvae} = 78) and for larvae of the fourth-(last) larval instar (N_{groups} = 6, N_{larvae} = 46). Movements were observed at four times: on day 1 just after being fed (well-fed, represented in white), after 3-4 days of starvation (represented in light grey), after 6-7 days of starvation (represented in dark grey) and finally on day 7-8, after a new meal, as a control for the well-fed situation (well-fed, represented in white with dashes). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range. See text for details on statistics.

DISCUSSION

In this study, we tested larval begging signals for food provisioning in the ant *Ectatomma tuberculatum*. Food-deprived larvae, which were expectantly in a state of hunger, did not display significantly more movements than well-fed larvae when in contact to workers. However, we found a clear effect of the developmental stage, as fourth-instar larvae displayed significantly more movements than third-instar larvae. The larva that was first-fed by the workers in our experimental setting was displaying more movements than the other larvae before the allocation of food by the workers.

First food provisioning by workers was then related to an increase in larval movement intensity both in occurrence and duration, confirming previous studies in ants (Creemers et al. 2003, Kaptein et al. 2005) and several observations between social parasites and their ant host (Hölldobler 1978, Elmes et al. 1991). We found that swaying movements, in particular, were associated with first food provisioning. Swaying movements were also found to be related with food provisioning in another Ectatomminae ant (*Gnamptogenys striatula*: (Kaptein et al. 2005). That is, our results support a relation between swaying movement

intensity and food provisioning, which is in agreement with one of the assumptions of begging theories that predict adults would allocate food according to begging (Godfray 1995, Kilner & Johnstone 1997). In our second experiment, we tested larvae in absence of workers and showed that movements were less frequent than when in contact to workers. This result is consistent with the hypothesis of larvae communicating through tactile movements to workers: larvae do not send signals without workers, the receptors.

We also observed that the developmental stage influenced larval movements, since fourth-instar larvae displayed more movements than third-instar larvae. The observed movements could then be explained by fourth-instar larvae signalling their greater need as they have a greater size (Franks & Sendova-Franks 1992), a higher growth (Baratte et al. 2005) and as they may be accumulating resources for their upcoming metamorphosis (Wheeler & Buck 1992). Fourth-instar larval movements could therefore reflect larval need that may include long term need for metamorphosis. Moreover, fourth-instar larvae were preferentially fed by workers in our experiments, which is in accordance with the results of a study on the ant species *Solenopsis invicta,* where larger larvae were fed with higher frequencies (Cassill & Tschinkel, 1995). Workers may prioritize fourth-instar larvae because they have already invested more in fourth-instar larvae than in previous instar larvae (Fresneau 1994). In this case, our experiment could have amplified the preference for fourth-instar larvae as ants were starved. Favouring older offspring was sometimes evidence in ants, for instance during brood transport or brood care (Lenoir 1981, Cassill & Tschinkel 1995, Fouks et al. 2011) but also in other sub-social and social species (Glassey & Forbes 2002, Smiseth & Moore 2007, 2008).

We also tested whether nutritional state and larval movements were related, as assumed by one of the predictions of honest signalling models (Kilner & Johnstone, 1997). However, increasing larval hunger, which we induced by manipulating the nutritional state of the larvae via food-deprivation, did not significantly increase their display of movements. This result seems therefore surprising as many studies found a positive relation between offspring hunger state and begging displays (Kilner & Johnstone 1997, Mock et al. 2011), even in highly social species (Kaptein et al. 2005, Kawatsu 2013). In particular, our result differs from the study on the ant *G. striatula*, which showed that food-deprived larvae displayed more movements than well-fed ones (Kaptein et al. 2005). Such reported difference might have resulted from variation in starvation duration, which was four days in our experiment and only one day in the study on *G. striatula*. Hence, we speculate that increases in movements related to hunger could be non constant in ants.

As workers did not provision food in response to larval nutritional state, according to our findings, we can conclude that workers most probably did not discriminate between food-deprived and well-fed larvae. A similar conclusion was drawn in a study on *Acromyrmex spp.*, in which workers did not discriminate between recently and formerly isolated larvae, thus expectantly affecting the nutritional state of these two groups of larvae (Lopes et al. 2005). However, our findings differ from results reported in a study on *S. invicta*, in which workers could discriminate between larval nutritional states (Cassill & Tschinkel 1995). The finding of our study might be explained by the fact that (i) workers did not recognize the nutritional state of individual larvae or (ii) that they actually recognize nutritional state but did not use this cue to draw decisions on their food allocation to larvae.

We therefore suggest that the larval movements in our species might not fully correspond to a signal of need and we propose four alternative, although non-exclusive hypotheses. First, larval movements do not increase with larval hunger but instead could increase with larval quality (Mas et al. 2009, Mock et al. 2011). According to this hypothesis of a larval signal of quality, well-fed larvae have a better body condition and consequently are able to display more movements. This could explain that, in the absence of workers, food-deprived larvae displayed fewer movements than well-fed larvae. We propose that this could be related to the potential cost of movements for larvae, these costs therefore limiting movements of larvae in the absence of workers in which food delivery is less likely to occur. This might particularly apply to larvae in poor body condition.

Second, movements of the larvae could be dishonest, i.e. not related to larval nutritional state. However, dishonesty can be evolutionarily maintained only if it remains infrequent (Maynard Smith & Harper 2003). That is, the existence of such dishonesty in ant larval begging might be, for example, assumed to occur during critical periods for reproductive determination. During this period, a conflict is predicted between larvae and workers for food provisioning as it influences the reproductive or non-reproductive fate of the larvae (Wheeler 1986, Bourke & Ratnieks 1999, Wenseleers et al. 2003). However, we suppose that the critical period for reproductive determination occurred prior to our experiment (we performed preliminary experiment, rearing worker-destined larvae in queen-less conditions). Dishonesty of the communication seems thus unlikely to explain our results.

Another explanation can be found in some descriptions of larval food delivery. In this context, it has been reported that ant workers test larvae prior to feeding and feed only larvae displaying movements in response to antennal stimulations (Le Masne 1953, Brian 1956, “test feeding”, Agbogba 1991). This could explain our observation of movements being

less frequent in the absence of workers. That is, this hypothesis imply that larval movements are not a signal attracting workers but still have an importance for food allocation.

The last hypothesis that might explain our results is that such movements are indeed no begging signals. Instead, they could be related to the non-specific, general activity of the larvae during different instars (Mock et al. 2011). Food delivery could then rely (i) on this non-specific cue informing workers on larval instar, (ii) on other cues such as morphology or size of larval instar, (iii) on signals such as chemicals as proposed in a study on the ant species *S. invicta* ant (Cassill & Tschinkel 1995) or (iv) on random distribution.

In summary, most studies and observations on ants emphasise larval movements or postures as begging signals enhancing food provisioning by workers (Le Masne 1953, Agbogba 1991, Creemers et al. 2003, Kaptein et al. 2005). However, our results support only partly the predictions of honest signalling models. In particular, the relationship between nutritional state and larval movement display could be non constant in ants. We conclude that larval movement displays in *E. tuberculatum* might not necessarily be begging signals. Future experiments could then explore the alternative hypotheses we proposed.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Paul Devienne for ant keeping and technical assistance and Heiko G. Rödel for helpful comments on this manuscript. M.S. was funded by a grant from the Ministère de l'Education Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (France).

REFERENCES

Agbogba C (1991) Observations sur les signaux préparatoires à l'alimentation des larves chez la fourmi ponérine *Pachycondyla caffraria* (Smith). *Insectes Sociaux* 38: 439–442.

Baratte S, Cobb M, Deutsch J, Peeters C (2005) Morphological variations in the pre-imaginal development of the ponerine ant *Diacamma ceylonense*. *Acta Zoologica* 86: 25–31.

Bolton B (2003) Synopsis and classification of Formicidae. *Memoirs of American Entomological Institute* 71: 1–370.

Bourke AFG (2011) The validity and value of inclusive fitness theory. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 278: 3313–3320.

Bourke AFG, Ratnieks FLW (1999) Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 46: 287–297.

Bradbury JW, Vehrencamp SL (2011) *Principles of animal communication*, 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass.

Brian MV (1956) Group form and causes of working inefficiency in the ant *Myrmica rubra* L. *Physiological Zoology* 29: 173–194.

Brian MV, Abbott A (1977) The control of food flow in a society of the ant *Myrmica rubra* L. *Animal Behaviour* 25: 1047–1055.

Brilot BO, Johnstone RA (2003) The limits to cost-free signalling of need between relatives. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 270: 1055–1060.

Budden AE, Wright J (2001) Begging in nestling birds. In: Nolan V, Thompson CF (eds) *Current Ornithology*, 83–118. Kluwer/Plenum, New York.

Cassill DL, Tschinkel WR (1995) Allocation of liquid food to larvae via trophallaxis in colonies of the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Animal Behaviour* 50: 801–813.

Creemers B, Billen J, Gobin B (2003) Larval begging behaviour in the ant *Myrmica rubra*. *Ethology Ecology & Evolution* 15: 261–272.

Den Boer SPA, Duchateau MJHM (2006) A larval hunger signal in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Insectes Sociaux* 53: 369–373.

Elmes GW, Thomas JA, Wardlaw JC (1991) Larvae of *Maculinea rebeli*, a large-blue butterfly, and their *Myrmica* host ants: wild adoption and behaviour in ant-nests. *Journal of Zoology* 223: 447–460.

Fouks B, d'Ettorre P, Nehring V (2011) Brood adoption in the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinatior*: adaptation or recognition noise? *Insectes Sociaux* 58: 479–485.

Franks NR, Sendova-Franks AB (1992) Brood sorting by ants: distributing the workload over the work-surface. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30: 109–123.

Fresneau D (1994) Biologie et comportement social d'une fourmi ponérine néotropicale (*Pachycondyla apicalis*). Thèse, Université Paris 13, Villetaneuse, France.

Glassey B, Forbes S (2002) Begging and asymmetric nestling competition. In: Wright J, Leonard ML (eds) *The evolution of begging: competition, cooperation and communication*, 269–281. Springer Netherlands.

Godfray HCJ (1991) Signalling of need by offspring to their parents. *Nature* 352: 328–330.

Godfray HCJ (1995) Evolutionary theory of parent-offspring conflict. *Nature* 376: 133–138.

He XJ, Zhang XC, Jiang WJ, Barron AB, Zhang JH, Zeng ZJ (2016) Starving honey bee (*Apis mellifera*) larvae signal pheromonally to worker bees. *Scientific Reports* 6: 1–9.

Higham JP (2014) How does honest costly signaling work? *Behavioral Ecology* 25: 8–11.

Hölldobler B (1978) Ethological aspects of chemical communication in ants. *Advances in the Study of Behavior* 8: 75–115.

Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge.

Hothorn T, Hornik K, Wiel MA van de, Zeileis A (2008) Implementing a class of permutation tests: the coin package. *Journal of Statistical Software* 28: 1–23.

Huang Z-Y, Otis GW (1991) Inspection and feeding of larvae by worker honey bees (Hymenoptera: Apidae): Effect of starvation and food quantity. *Journal of Insect Behavior* 4: 305–317.

Ishay J, Landau EM (1972) Vespa larvae send out rhythmic hunger signals. *Nature* 237: 286–287.

Johnstone RA, Kilner RM (2011) New labels for old whines. *Behavioral Ecology* 22: 918–919.

Kaptein N, Billen J, Gobin B (2005) Larval begging for food enhances reproductive options in the ponerine ant *Gnamptogenys striatula*. *Animal Behaviour* 69: 293–299.

Kawatsu K (2013) Effect of nutritional condition on larval food requisition behavior in a subterranean termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Ethology* 31: 17–22.

Kilner RM, Johnstone RA (1997) Begging the question: are offspring solicitation behaviours signals of need? *Trends in Ecology & Evolution* 12: 11–15.

Le Masne G (1953) *Observations sur les relations entre le couvain et les adultes chez les fourmis*. Annales des Sciences Naturelles - Zoologie et Biologie Animale.

Lenoir A (1981) Brood retrieving in the ant, *Lasius niger* L. *Sociobiology*: 153–178.

Lopes JFS, Hughes WOH, Camargo RS, Forti LC (2005) Larval isolation and brood care in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Insectes Sociaux* 52: 333–338.

Mas F, Haynes KF, Kölliker M (2009) A chemical signal of offspring quality affects maternal care in a social insect. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 276: 2847–2853.

Mas F, Kölliker M (2008) Maternal care and offspring begging in social insects: chemical signalling, hormonal regulation and evolution. *Animal Behaviour* 76: 1121–1131.

Maynard Smith J (1994) Must reliable signals always be costly? *Animal Behaviour* 47: 1115–1120.

Maynard Smith J, Harper D (2003) *Animal signals*. Oxford University Press, Oxford.

Mock DW, Dugas MB, Strickler SA (2011) Honest begging: expanding from signal of need. *Behavioral Ecology* 22: 909–917.

Moreno-Rueda G (2007) Is there empirical evidence for the cost of begging? *Journal of Ethology* 25: 215–222.

R Core Team (2015) *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rauter CM, Moore AJ (1999) Do honest signalling models of offspring solicitation apply to insects? *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 266: 1691–1696.

Royle NJ, Hartley IR, Parker GA (2004) Parental investment and family dynamics: interactions between theory and empirical tests. *Population Ecology* 46: 231–241.

Royle NJ, Smiseth PT, Kölliker M (eds) (2012) *The evolution of parental care*. Oxford University Press.

Smiseth PT, Moore AJ (2004) Signalling of hunger when offspring forage by both begging and self-feeding. *Animal Behaviour* 67: 1083–1088.

Smiseth PT, Moore AJ (2007) Signalling of hunger by senior and junior larvae in asynchronous broods of a burying beetle. *Animal Behaviour* 74: 699–705.

Smiseth PT, Moore AJ (2008) Parental distribution of resources in relation to larval hunger and size rank in the burying beetle *Nicrophorus vespilloides*. *Ethology* 114: 789–796.

Trivers RL (1974) Parent-offspring conflict. *American Zoologist* 14: 249–264.

Weber NA (1946) Two common ponerine ants of possible economic significance, *Ectatomma tuberculatum* (Olivier) and *E. ruidum* (Roger). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 48: 1–16.

Wenseleers T, Ratnieks FLW, Billen J (2003) Caste fate conflict in swarm-founding social Hymenoptera: an inclusive fitness analysis. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 647–658.

Wheeler DE (1986) Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *The American Naturalist* 128: 13–34.

Wheeler DE, Buck NA (1992) Protein, lipid and carbohydrate use during metamophosis in the fire ant, *Solenopsis xyloni*. *Physiological Entomology* 17: 397–403.

Wheeler GC, Wheeler DE (1976) *Ant larvae: review and synthesis.* Entomological Society of Washington.

Wilson EO (1971) *The insect societies*. Belknap Press of Harvard University Press.

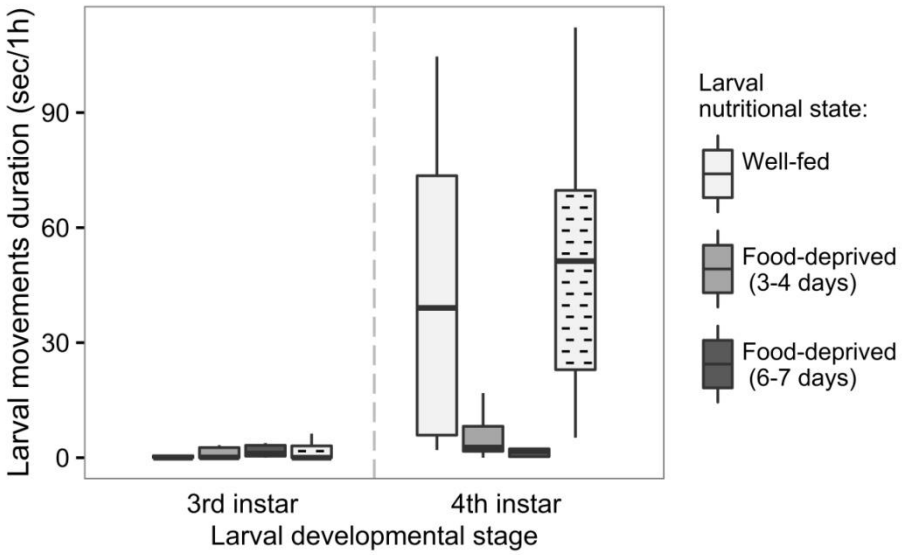
Zahavi A (2008) The handicap principle and signalling in collaborative systems. In: d'Ettorre P, Hughes DP (eds) *Sociobiology of communication: an interdisciplinary perspective*, 1–10. Oxford University Press.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary material associated with this article contains a video of the larval movements and a figure.

The video is available here:

https://www.dropbox.com/s/nszrwhqhfmtbmex/larval-movement-ectatomma.avi?dl=0



Supplementary Material, Figure S1: Duration of larval swaying movements for larvae of the third-instar (N_{groups} = 7, N_{larvae} = 78) and for larvae of the fourth-instar (N_{groups} = 6, N_{larvae} = 46). Movements were observed at four times: on day 1 just after being fed (well-fed, represented in white), after 3-4 days of starvation (represented in light grey), after 6-7 days of starvation (represented in dark grey) and finally on day 7-8, after a new meal, as a control for the well-fed situation (well-fed, represented in white with dashes). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range. See text for details on statistics.

Chapitre 2 : Interactions sociales et organisation spatiale dans le contexte de l'apport alimentaire aux larves par les ouvrières

RESUME

Les quémandes alimentaires des jeunes ont été sélectionnées puisqu'elles permettent d'optimiser la répartition de la nourriture entre les jeunes d'une portée, et ce, y compris chez les insectes. Les larves de la fourmi *Ectatomma tuberculatum* sont approvisionnées en nourriture par les ouvrières quand elles effectuent des mouvements de la partie antérieure du corps. Cependant, le chapitre précédent suggère que les mouvements de ces larves ne sont que partiellement en accord avec les prédictions des modèles de quémande honnête. Dans ce chapitre, nous avons exploré l'effet des comportements des ouvrières et l'effet de l'organisation spatiale sur les interactions larve-ouvrière pour les apports alimentaires. Nous avons émis l'hypothèse que le comportement des ouvrières et que la position des larves dans le nid influenceraient les mouvements larvaires et la répartition des apports alimentaires. Des petits groupes de sept larves et huit ouvrières ont été préparés et privés de nourriture avant l'expérience. Pendant l'expérience, nous nous sommes focalisés sur les mouvements des larves pendant la période précédant le premier apport de l'item alimentaire aux larves par les ouvrières. Les mouvements des larves qui allaient être nourries par les ouvrières (larves "nourries") ont ainsi été comparés aux mouvements des autres larves (larves "non nourries"). Nous observons que les larves "nourries" ont effectué davantage de mouvements que les larves "non nourries" que ce soit juste avant l'apport alimentaire par les ouvrières ou avant même que les ouvrières n'aient obtenu l'item alimentaire. Cependant, ces mouvements larvaires en lien avec l'apport alimentaire n'étaient pas spontanément émis par les larves, ils faisaient suite à un contact fortuit avec une ouvrière. De plus, les larves les plus proches de l'entrée du nid ont reçu davantage de ces contacts fortuits avec les ouvrières et ont réalisé davantage de mouvements que les larves plus éloignées de l'entrée du nid. Les ouvrières semblent donc nourrir une des premières larves rencontrées, qui réalise plus de mouvements, possiblement en lien avec sa position dans le nid. Nos résultats ouvrent donc une réflexion sur la fonction des mouvements larvaires dans cette espèce, entre signaux de quémande et réaction mécanique aux contacts avec les ouvrières.

Manuscrit en préparation pour le journal Myrmecological News.

Larval food provisioning and begging behaviour depend on social interactions and spatial position in the ant *Ectatomma tuberculatum* (OLIVIER, 1792)

M. Sauvaget, L. Picherit, F. Savarit, D. Fresneau and R. Fénéron

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée E.A. 4443 (LEEC), Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, 93430 Villetaneuse, France

ABSTRACT

Begging communication between offspring and adults has been selected as it could optimise food distribution, even in insects. Larvae of the ant *Ectatomma tuberculatum* (OLIVIER, 1792) are provisioned by workers when they display more movements of the anterior part. However, a previous study suggested that larval display only partly support predictions of honest signalling models. In this study, we then explored workers' activity and the spatial organisation into the nest as they could influence larvae-worker interactions for food provisioning. We expected that workers' behaviour had an influence on larval movements and that larval location into the nest influenced the larvae that will be fed first. Small groups of seven larvae with eight workers were starved before the experiment. During the experiment, we focused on larval movements occurring before food provisioning. Movements of the larvae that would be provisioned by workers were compared to movements of the other, non-provisioned larvae. Larvae that would be provisioned displayed significantly more movements than the other, non-provisioned larvae. We observed this difference just before food provisioning and also before any food presence into the nest. However, the main movements related to food provisioning were not freely-displayed but followed a contact with a worker. Moreover, larvae closer to nest entrance received more contacts and displayed more movements than distant larvae. Workers thus provisioned one of the first encountered larvae which were often displaying movements, due to its position. Our results therefore raise an open question about whether larval movements should be analysed as truly begging signals or as mechanical movements simply related to worker contacts.

INTRODUCTION

Parental care and particularly food provisioning are supposed to be optimised by parent-offspring communication (Godfray 1991). This model supposes that offspring communicate honestly their need for food through begging even if conflicts exist between offspring and parents (Godfray 1991, Bradbury & Vehrencamp 2011). Moreover, the model assume that parents respond to offspring begging and allocate food to the offspring with the higher need, as it will benefit more from the food than its siblings (Godfray & Johnstone 2000). Honest signalling model therefore predicts that begging level should increase with offspring need and that parents should provision offspring according to offspring begging level (Kilner & Johnstone 1997).

Highly social insects have a particular form of parental care, with non-reproductive individuals nursing the brood. Larvae are highly dependent on worker care and begging for food was found through chemicals in bumblebees and in honey bees (Huang & Otis 1991, Den Boer & Duchateau 2006, He et al. 2016), through acoustic vibrations in wasps (Schaudinischky & Ishay 1968) and through movements or posture in ants and termites (Creemers et al. 2003, Kaptein et al. 2005, Kawatsu 2013). In ants, workers provision larvae with higher intensity of movements in *Gnamptogenys striatula* (MAYR, 1884) (Kaptein et al. 2005) and in *Ectatomma tuberculatum* (OLIVIER, 1792) (Sauvaget et al. in prep.) and provision larvae staying longer in a stretch position in *Myrmica rubra* (LINNAEUS, 1758) (Creemers et al. 2003). Moreover, in *G. striatula*, the level of movements was related with the level of hunger (Kaptein et al. 2005), and in *E. tuberculatum*, the level of movements was related with the larval instar (Sauvaget et al. in prep.). This would suggest that, as predicted by honest signalling models, larvae of ants communicate honestly their need with movements, therefore optimising food distribution.

Communication could optimise food distribution but ant spatial organisation could also influence food distribution in a colony. In ant colonies, the entire nest is spatially organised, with chambers dedicated to brood, food or waste (Hölldobler & Wilson 1990). Moreover, larvae are not randomly distributed into the brood chamber as they are often sorted by size (Hölldobler & Wilson 1990, Franks & Sendova-Franks 1992). This particular spatial organisation influences division of labour and task organisation (Bonabeau et al. 1997, Beshers & Fewell 2001). The food provisioning task could therefore be related to the spatial organisation of larvae. Consequently, spatial organisation and communication are not mutually exclusive mechanisms possibly optimising larval food provisioning in ants.

Larvae of the ant *E. tuberculatum* are provisioned when they display more movements of the anterior part (Sauvaget et al. in prep.). However, movements of larvae of this species did

not reflect larval nutritional state, which is not in accordance with honest begging models (Sauvaget et al. in prep.). Alternative hypotheses have been proposed, for instance that larval movements in this species might not be begging signals. In addition, when larvae were isolated from workers, they displayed a very small number of movements (Sauvaget et al. in prep.). Consequently, we wanted to explore here the hypotheses that larval display could be related to workers' activity and workers' behaviour. Moreover, larvae of *E. tuberculatum* seem to be spatially sorted according to their size (personal observation) as in other species (Hölldobler & Wilson 1990, Franks & Sendova-Franks 1992). We then also explored a second hypothesis: the spatial organisation into the nest could influence larval display and/or food provisioning by the workers. Consequently, we took into account (i) the occurrence of larval display, (ii) the relationship between larval display and worker behaviour and (iii) the influence of larval location into the nest to challenge the prediction of honest signalling models that larval movements could promote food provisioning by workers. First, we expected that workers' behaviour had an influence on larval display. Second, if there is an influence of larval location into the nest, we could expect that the most accessible larvae will be fed first. Accordingly, we monitored larval movements, worker behaviour and larval position into the nest before food provisioning by the workers. We then compared movements of the larvae that would be provisioned by workers and movements of the other, non-provisioned larvae.

MATERIAL AND METHODS

Stock colonies and maintenance

Eight stock colonies of *E. tuberculatum* ants were collected in Apazapan (19,19° N, 96,43° W), (Veracruz, Mexico) in 2009 and 2011. Six colonies included one to four reproductive queen (facultative polygynous). Two colonies were queenless at the time of the experiment and thus produced only males. In the laboratory, stock colonies were kept in moistened plaster nests (26 x 16 cm) connected to a foraging area (29 x 28 cm) and maintained in the breeding room at 27 ±1°C and 65 ±10% relative humidity with a 12/12 h light/dark cycle. Ants were fed with killed insects (crickets, mealworms) and with a mixture of apple and honey.

Selection of larvae and workers

We set up 23 groups, each including eight workers and seven larvae from the same stock colony. Four workers were randomly sampled from the foraging area and four from the nest of the stock colony. Larvae were collected inside the nest using a soft brush and/or flexible tongs. We selected last-instar larvae under a binocular microscope and replaced the others

into their own colony. Compared to previous instars, the last-instar larvae have a large body size (median: 4.9 mm, ranging from 2.9 to 6.7 mm long, for worker and male destined larvae) and a high density of body hairs (more than six bands per somite) (Figure 1) (Sauvaget et al. in prep.). We used last-instar larvae because they displayed more frequent movements than larvae from other instars (Sauvaget et al. in prep.).

As some of the stock colonies reared sexuals in the course of the experiment, we assumed that larvae from different castes were included in the groups. However, at the moment of the experiment, larval caste was not morphologically identifiable. To assess the proportion of larvae of each caste, a sample of 13 groups out of 23 were reared after the experiment until the pupae stage. At this moment, cocoons were identifiable: male cocoons of *E. tuberculatum* are thinner and longer than worker cocoons, and gyne cocoons are longer and larger than male and worker cocoons (Figure 2, Hora et al. 2005). From the 87 larvae, we obtained 31 male cocoons, 23 worker cocoons, 3 gyne cocoons and 30 undetermined due to larval early death. As gyne larvae have a larger size at the end of the larval stage and thus may have a different need for food, the three groups containing gyne cocoons were removed *a posteriori* from the experiment. We thus used worker and male larvae, even if we could not exclude that some gyne larvae were also present.

Housing and starvation

Each group of workers and larvae was housed in a small moistened plaster nest including one chamber (3.6 x 2.0 cm). The nest chamber was covered by a glass through which ants could be observed and filmed, and by a removable black cover. It was connected by the middle of its long side to a plastic foraging area (10 x 14 cm) using a path (0.8 cm diameter, around 10 cm length). The connection between the nest and the path is further considered as the "nest entrance".

Groups were fed immediately after housing the ants. Then they were deprived of food for five days in order to enhance foraging and larval feeding behaviour during the experiment. During this starvation period, one larva died in three groups, and was not replaced.

Experimental procedure

Experiments were performed in the breeding room. On the experimental day, the groups remained without food for the first hour. At the end of the first hour, the experimenter added a food item (Figure 3). The experiment was stopped six hours later. The food item consisted in a part of a freshly-killed cricket and was disposed in the middle of the foraging area. We expected that workers retrieved the piece of cricket to the nest and provisioned a single larva with it. Workers could deposit the cricket directly on the mouthparts or the

ventral surface of the larva, or close enough for the larva to reach it. Larvae were considered as "fed" when they grasped the food item by the mandibles and ate it.

We filmed the nest during all the experiment with a Sony HDR-CX740 camcorder. The nest was filmed under red and infrared light, in order to disturb ants as little as possible and to optimise behavioural observations.



Figure 1: *Ectatomma tuberculatum* larvae of the last instar. The arrow represents the midpoint used for distance measurements. Length of larva: 5 mm.



Figure 2: Cocoons of *E. tuberculatum*, from left to right: worker, male and gyne cocoon. Scale bar: 1 cm.

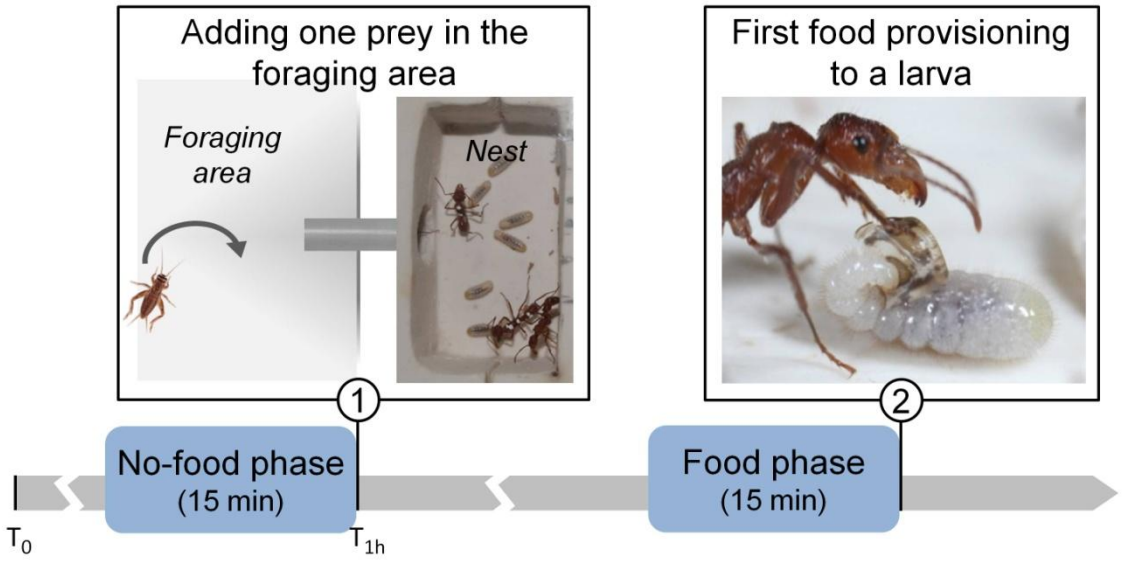


Figure 3: Experimental procedure. Small groups of starved larvae and workers were tested. After one hour, the experimenter added single piece of prey into the foraging area (1). Ants could retrieve the prey into the nest. We noted when the first larva was fed with workers (2). Two 15-minute phases were analysed, just before (1) and just before (2).

Larval movements

Larvae of *E. tuberculatum* can display two main movements (Sauvaget et al. in prep.). During the swaying movement, the larva raises the anterior part of the body which waves in various patterns and directions. In the stretching movement, the larva raises its anterior body part and pulls it down rapidly in the horizontal plane (singly or in a sequence of a few stretches).

Some movements were displayed just after an interaction with a worker. We thus defined three cases: (i) freely displayed movements, (ii) movements following worker contact and (iii) movements following worker palpation. Freely displayed movements (i) occurred if the larva did not get any tactile contact for five seconds before displaying the movement. Movements following worker contact (ii) occurred within five seconds after a worker contact. A worker contact was defined as any time a worker touched the larva, with a leg or an antenna, excluding worker palpation as defined thereafter. A maximum of one contact was recorded every two seconds. Movements following worker palpation (iii) occurred after a worker palpation which was defined as an antennal inspection of the larval body for a minimum of two seconds.

Analysis

Fifteen groups out of the 20 included fed at least one larva during the experiment and were thus included in analyses. In each group, we recorded which larva was fed in the first place and labelled it as the "fed larva". In two groups, two neighbouring larvae fed the food item on the same time, so both were considered as "fed larvae". All other larvae were labelled as "non-fed larvae". Altogether, 102 larvae were analysed, 17 as "fed larvae" and 85 as "non-fed larvae".

We analysed two phases of 15 minutes using the films (Figure 3). The No-food phase concerned the last 15 minutes of the first hour and the Food phase concerned the 15 minutes before the first larva was fed with the cricket. During the two phases, we recorded individual larval data. We recorded occurrences and individual mean durations of larval movements. We also recorded the number of worker contacts and the number of worker palpations for each larva (excluding periods when the larva was in movement).

Statistical analyses were performed with R 3.2.2 (R Core Team 2015) using the package coin 1.1 (Hothorn et al. 2008). First, we used the total number of movements to compare "fed larvae" and "non-fed larvae". To this end, we used groups as statistical unit: we calculated the median number of movements for "fed" and for "non-fed larvae" within each group. We then compared medians between "fed" and "non-fed larvae" thanks to Fisher-Pitman permutation tests for data paired by group (N = 15 groups, with 1,000,000 permutations).

Second, we performed Principal Components Analyses with larval movements, worker contacts and worker palpations for the 102 larvae in the two phases (No-food and Food phases, N = 204). Then, as in the first analysis, we compared "fed larvae" and "non-fed larvae" using groups as statistical unit. We compared median PCA scores between "fed" and "non-fed larvae" thanks to Fisher-Pitman permutation tests for data paired by group (N = 15 groups, with 1,000,000 permutations). When multiple comparisons were made, Bonferroni-Holm correction was applied, noted with P'.

We also recorded the location of all larvae within each group to test for an influence of spatial position. We measured the distance between the nest entrance and the midpoint of each larva (Figure 1). Distance measurements were made with ImageJ soft using the pictures taken from the films at the beginning of the Food phase. We made correlation tests between principal component scores and distances from larvae to nest entrance (N = 102 larvae). Correlations were made with Pearson's correlation test.

As two observers took part in videos analyses, we verified the inter-observer reliability during preliminary experiment. This reliability was high (Pearson's correlation: t_{38} =45.8, r = 0.99, $P < 0.0001$).

RESULTS

Larval movements description

Larval movements in the No-food phase and in the Food phase are presented in Table S1 in Supplementary Material. Larvae displayed few freely displayed movements and few movements following worker palpation. Larvae mainly displayed swaying movements following worker contact.

Larval movements related to food provisioning

Just before food provisioning (Food phase), "fed larvae" displayed significantly more movements than "non-fed larvae" (Fisher-Pitman permutation test for paired data: Z = -2.98, N_{groups} = 15, P = 0.0003, Figure 4). Before food deposit by the experimenter (No-food phase), "fed larvae" already displayed significantly more movements than "non-fed larvae" (Fisher-Pitman permutation test for paired data: Z = -2.35, N_{groups} = 15, P = 0.01, Figure 4).

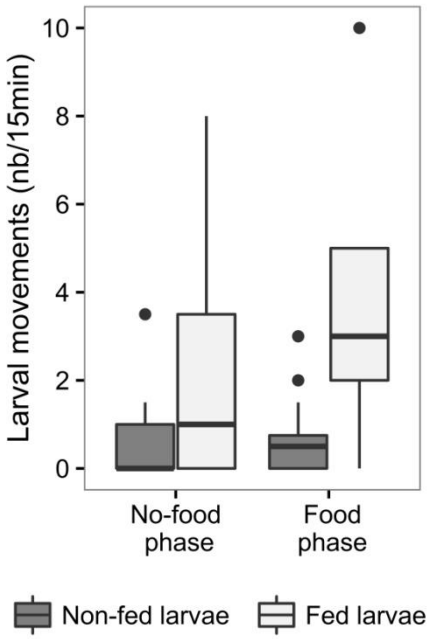


Figure 4: Movements of larvae (median score per group), for "non-fed larvae" (grey) and "fed larvae" (white) in the No-food phase and in the Food phase (N_{groups} = 15). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range, the points are values outside 1.5 times interquartile range. See text for details on statistics.

To test which movements differed, we performed principal component analysis with the number of larval movements, the worker contacts and the worker palpations. We obtained four principal components (with eigenvalue >1). We kept the three first principal components which had a biological signification. They accounted for 55% of the total variance (Table 1).

The first principal component explained 21% of the total variance and was correlated with the number of swaying movements following worker contact and with the number of worker contacts received by the larvae (Table 1). These variables explained 52% of the first principal component. Thus, Factor 1 may be interpreted as representing influences from swaying movements following worker contact.

The second principal component, explaining 18% of the total variance, was correlated with the number of freely displayed movements (Table 1; swaying and stretching movements explained 72% of the second principal component). Factor 2 represents influences from freely displayed movements.

The third principal component, explaining 15% of the total variance, was correlated with the number of swaying movements following worker palpation and with the number of worker palpations received by the larvae. It was also negatively correlated with the number of stretching movements following worker contact (Table 1). These variables explained 93% of the third principal component. Factor 3 may be interpreted as representing influences from movements following worker palpation.

Table 1: Coordinates of variables, variance explained and eigenvalue of the three principal components (PCA, 102 larvae, No-food and Food phases, *N* = 204). Main contributions to each factor (> 20%) are highlighted with *.

		Factor 1	Factor 2	Factor 3
Freely displayed movements	Swaying	0.42	0.70*	0.10
	Stretching	0.39	0.70*	-0.03
Movements following worker contact	Swaying	0.63*	-0.004	-0.003
	Stretching	0.47	-0.24	-0.60*
Number of worker contacts		0.70*	-0.43	-0.24
Movements following worker palpation	Swaying	0.38	-0.15	0.60*
	Stretching	0.09	-0.17	-0.13
Number of worker palpations		0.32	-0.33	0.60*
Variance explained		21.2%	18.5%	15.3%
Eigenvalue		1.70	1.48	1.22

In the No-food phase and in the Food phase, the "fed larvae" had significantly higher scores than "non-fed larvae" for Factor 1, which is related to movements following worker contact (Fisher-Pitman permutation test for paired data in the No-food phase and in the Food phase: Z = -2.65, N_{groups} = 15, P' = 0.01 and Z = -3.10, N_{groups} = 15, P' = 0.0006 respectively, Figure 5). The scores for Factor 1 did not significantly vary between the two phases (Fisher-Pitman permutation test for paired data for the "non-fed larvae" and the "fed larvae": Z = -0.35, N_{groups} = 15, P' = 0.73 and Z = -1.43, N_{groups} = 15, P' = 0.31 respectively, Figure 5).

Scores of "non-fed larvae" and "fed larvae" did not significantly differ for Factor 2, related to freely displayed movements, and for Factor 3, related to movements following worker

palpation (Fisher-Pitman permutation test for paired data in the No-food phase and in the Food phase: N_{groups} = 15, P' > 0.2, Figure 5).

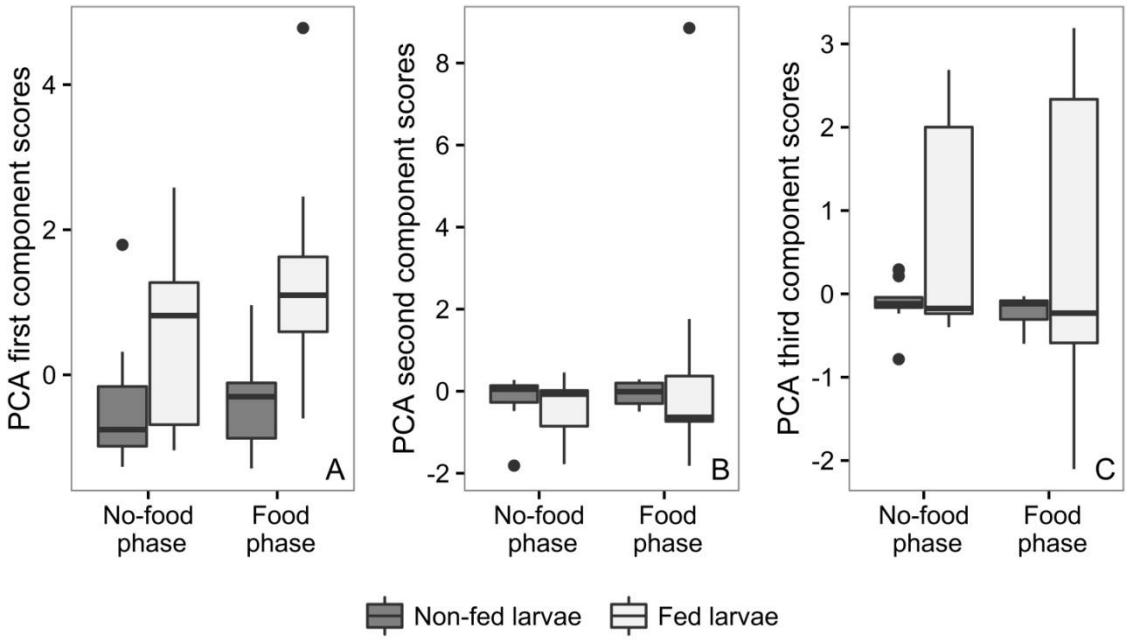


Figure 5: PCA scores of larvae (median score per group), for "non-fed larvae" (grey) and "fed larvae" (white) in the No-food phase and in the Food phase (N_{groups} = 15). Three main components were obtained: the first component was related to movements following worker contact (A), the second component was related to freely displayed movements (B) and the third component was related to movements following worker palpation (C). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range, the points are values outside 1.5 times interquartile range. See text for details on statistics.

Larval movements related to position of larvae

During the Food phase, distance to nest entrance was significantly and negatively correlated with the larval scores of Factor 1, which is related to movements following worker contact (Pearson's correlation: t_{100} = -4.39, r = -0.40, P < 0.0001, Figure 6). Distance to nest entrance was not significantly correlated with the larval scores of Factor 2 and Factor 3 (Pearson's correlation: t_{100} = 0.26, r = 0.03, P = 0.80 and t_{100} = 0.33, r = -0.10, P = 0.33 respectively).

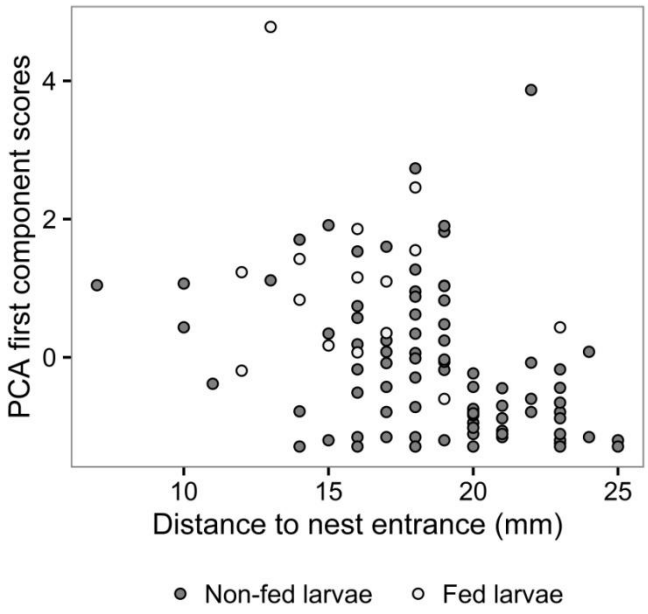


Figure 6: Relationship between distance to nest entrance and individual scores of Factor 1, related to movements following worker contact (N_{larvae} = 102), in the Food phase. Correlation is significant (Pearson's correlation: $P < 0.0001$). "Non-fed larvae" are represented in grey and "fed larvae" in white.

DISCUSSION

As larval movements could promote food provisioning by workers (Godfray 1991, Kilner & Johnstone 1997), we challenged this hypothesis in the ant *E. tuberculatum* taking into account the occurrence of larval display, the relationship between larval display and worker activity and the influence of larval location into the nest. Our results show that, before food provisioning by workers, larvae that were about to be fed displayed more swaying movements than other larvae. Larval swaying movements were thus associated with food provisioning. This result is consistent with previous study on the same species (Sauvaget et al. in prep.) and also with other studies on the ant species *G. striatula* (Kaptein et al. 2005) and *M. rubra* (Creemers et al. 2003). However, the larval movements that were related to food provisioning occurred after worker contacts and, interestingly, other studies did not mention worker contacts. Freely-displayed movements, movements following worker contact and palpation were pooled and not distinguished in the study on *G. striatula* (Kaptein et al. 2005). Nonetheless, it would have been interesting to know whether *G. striatula* and *E. tuberculatum* were similar, because the two species belong to the same clade, Ectatomminae. In the study on *M. rubra*, induced and non-induced movements were analysed separately. Induced movements were defined as movements following worker

inspection of larval body (Creemers et al. 2003). The induced movements might thus match our movements following worker palpation, even if the comparison is difficult, due to behavioural differences between species. And the non-induced movements might represent our freely-displayed movements added to our movements following worker contact. As our results showed that movements following worker contact were correlated with food provisioning, this is consistent with CREEMERS & al. (2003) results showing that non-induced posture were related to food provisioning. However, in our case freely displayed movements were not correlated with food provisioning, so more details on *M. rubra* non-induced movements could help comparing the two experiments. Finally, our results were consistent with previous studies, even if they did not mention worker contacts.

Worker contacts can thus be integrated to our understanding of larval movements and food provisioning in *E. tuberculatum*. We might suppose that larvae could use worker contacts as tactile and/or chemical cues of worker presence. Larvae could use these cues about worker presence and then could display movements when workers were present, therefore increasing their probability of being fed, as hypothesised in a previous study (Sauvaget et al. in prep.). That is, larval movements could be considered as begging signals. It should nonetheless be noted that begging signals are, in communication theories, emitted by a larva, directed to the workers to obtain food and has evolved because of the worker food provisioning response (Maynard Smith & Harper 2003). The evolutionary part of the definition was not tested in our experiment and we therefore use communication here in its broad sense (Théry & Heeb 2008). Eventually, we could consider that workers and larvae communicate through cues and signal for food provisioning.

However, the finding of movements following worker contact raises an important issue in considering larva-worker communication. In fact, larvae could display a movement after a contact as a mechanical reaction, independently of its need. This hypothesis is enhanced by previous result showing that larval movements in *E. tuberculatum* were not correlated with larval nutritional state (Sauvaget et al. in prep.). In this case, movements and food provisioning would both be the consequences of worker presence. Movements would then not induce food provisioning by workers. This challenging interpretation poses an open question about where larval movements should be placed between truly begging signals and movements only related to worker contacts.

Distance to nest entrance influenced larval movements: larvae closer to nest entrance displayed more movements and they received more worker contacts. Worker contacts increased next to nest entrance as it is the place where workers mostly stay. Hence, larval movements increased next to nest entrance as a consequence of more cues about worker

presence (begging hypothesis) or as the mechanical effect of more worker contacts (larval mechanical reaction hypothesis). Even if previous studies did not explore worker contacts, the effect of the position into the nest was also shown. In *G. striatula*, future fed larvae were closer to food or displayed more begging behaviours (Kaptein et al. 2005). However, the begging behaviours were not correlated with distance to food in this study. In a study on *Solenopsis invicta* (BUREN, 1972), accessibility of the larvae also influence the number of worker inspections toward larvae, but it did not influence the number of food provisioning by trophallaxis (Cassill & Tschinkel 1995). Difference in measured variables might explain the difference with our results: we studied the first provisioning whereas in *S. invicta*, they studied tens of trophallaxis provisioning per larva. We could then suppose that in our experiment, workers provisioned one of the first encountered larvae which is often displaying movements, due to its position.

In our experiment in small nests, larval position was related to movements and food provisioning: projecting this result to larger nests, we might suppose that position could have a great impact on food distribution. In fact, in nests of *E. tuberculatum*, as in other ants, workers usually sort larvae according to their size and/or instar (personal observation, Hölldobler & Wilson 1990, Franks & Sendova-Franks 1992). Larvae with a larger size are typically placed in the peripheral ring of brood cluster (Franks & Sendova-Franks 1992). Moreover, the periphery of the brood and the nest entrance concentrate the main worker activity as shown in *Leptothorax tubero-interruptus* (Stickland & Franks 1994). Thus, the worker activity could concentrate around the easily accessible larvae, the larger larvae. As larger larvae require a larger amount of food, this organisation might then optimise food provisioning (Hatcher et al. 1992, Franks & Sendova-Franks 1992, Stickland & Franks 1994, O'Toole et al. 2003).

Food provisioning in ants has also been described differently: worker could stimulate the larva and feed it if the larva responds through movements ("test feeding") (Le Masne 1953, 1980, Brian 1956, Agbogba 1991, Creemers et al. 2003). According to the test feeding hypothesis, the key behaviour for food provisioning should be larval movements following a worker antennal palpation. In our experiment, movements following worker palpation were rare and not significantly correlated with food provisioning. However, we observed few cases of test feeding before prey provisioning and test feeding seems more frequent for larval trophallaxis (personal observation). More observations are required but in *E. tuberculatum*, larval begging and possibly test-feeding might exist, with different probability for prey provisioning and for trophallaxis.

In our experiment, the duration of starvation before testing individuals was controlled; we therefore expected that larvae had a similar, but not equal, level of satiety. Larvae could still differ in their need for food as, for instance, the need is also supposed to be related with long term fitness issues (Price et al. 1996, Royle et al. 2004, Johnstone & Kilner 2011). Long term fitness need is particularly important for gyne-destined larvae in the ant *E. tuberculatum* because gyne have reproductive and flight organs and reach a larger size than workers and males. That is why we decided to exclude groups containing gyne-destined larvae. We used larvae of workers and males as they were mixed in many groups and as they have a similar size. Adult workers have reproductive organs (Fénéron et al. 1996), which development might be influenced by larval food availability, as suggested by preliminary results on *G. striatula* (Kaptein et al. 2005). Thus, for both worker-destined larvae and male-destined larvae, long term fitness issues might have influence their need for food. Slight variations in long term issue added to slight variations in the level of satiety could then explain differences between larvae during our experiment.

In summary, larval movements of *E. tuberculatum* were correlated with food provisioning by workers, as predicted by begging signal models. However, our results showed that these movements were not independent of social interactions and local environment: movements displayed by larvae were correlated with worker contacts and also with the distance to nest entrance. Larval food provisioning in this species is then not fully explained by begging signal models and we conclude that spatial organisation and social interactions are central to fully apprehend begging display and larval food allocation.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Paul Devienne for technical and ant keeping assistance and Heiko G. Rödel for helpful discussion on the topic.

REFERENCES

Agbogba C (1991) Observations sur les signaux préparatoires à l'alimentation des larves chez la fourmi ponérine *Pachycondyla caffraria* (Smith). *Insectes Sociaux* 38: 439–442.

Beshers SN, Fewell JH (2001) Models of division of labor in social insects. *Annual Review of Entomology* 46: 413–440.

Bonabeau E, Theraulaz G, Deneubourg J-L, Aron S, Camazine S (1997) Self-organization in social insects. *Trends in Ecology & Evolution* 12: 188–193.

Bradbury JW, Vehrencamp SL (2011) An overview of begging models. *Principles of animal communication*, Web Topic 13.4. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass.

Brian MV (1956) Group form and causes of working inefficiency in the ant *Myrmica rubra* L. *Physiological Zoology* 29: 173–194.

Cassill DL, Tschinkel WR (1995) Allocation of liquid food to larvae via trophallaxis in colonies of the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Animal Behaviour* 50: 801–813.

Creemers B, Billen J, Gobin B (2003) Larval begging behaviour in the ant *Myrmica rubra*. *Ethology Ecology & Evolution* 15: 261–272.

Den Boer SPA, Duchateau MJHM (2006) A larval hunger signal in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Insectes Sociaux* 53: 369–373.

Fénéron R, Durand J-L, Jaisson P (1996) Relation between behaviour and physiological maturation in a ponerine ant. *Behaviour* 133: 791–806.

Franks NR, Sendova-Franks AB (1992) Brood sorting by ants: distributing the workload over the work-surface. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30: 109–123.

Godfray HCJ (1991) Signalling of need by offspring to their parents. *Nature* 352: 328–330.

Godfray HCJ, Johnstone RA (2000) Begging and bleating: the evolution of parent–offspring signalling. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 355: 1581–1591.

Hatcher MJ, Tofts C, Franks NR (1992) Mutual exclusion as a mechanism for information exchange within ant nests. *Naturwissenschaften* 79: 32–34.

He XJ, Zhang XC, Jiang WJ, Barron AB, Zhang JH, Zeng ZJ (2016) Starving honey bee (*Apis mellifera*) larvae signal pheromonally to worker bees. *Scientific Reports* 6: 1–9.

Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge.

Hora RR, Doums C, Poteaux C, Fénéron R, Valenzuela J, Heinze J, Fresneau D (2005) Small queens in the ant *Ectatomma tuberculatum*: a new case of social parasitism. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59: 285–292.

Hothorn T, Hornik K, Wiel MA van de, Zeileis A (2008) Implementing a class of permutation tests: the coin package. *Journal of Statistical Software* 28: 1–23.

Huang Z-Y, Otis GW (1991) Inspection and feeding of larvae by worker honey bees (Hymenoptera: Apidae): Effect of starvation and food quantity. *Journal of Insect Behavior* 4: 305–317.

Johnstone RA, Kilner RM (2011) New labels for old whines. *Behavioral Ecology* 22: 918–919.

Kaptein N, Billen J, Gobin B (2005) Larval begging for food enhances reproductive options in the ponerine ant *Gnamptogenys striatula*. *Animal Behaviour* 69: 293–299.

Kawatsu K (2013) Effect of nutritional condition on larval food requisition behavior in a subterranean termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Ethology* 31: 17–22.

Kilner RM, Johnstone RA (1997) Begging the question: are offspring solicitation behaviours signals of need? *Trends in Ecology & Evolution* 12: 11–15.

Le Masne G (1953) *Observations sur les relations entre le couvain et les adultes chez les fourmis*. Annales des Sciences Naturelles - Zoologie et Biologie Animale.

Le Masne G (1980) Remarques sur les relations entre adultes et stades jeunes chez les insectes sociaux. *Reproduction Nutrition Développement* 20: 779–790.

Maynard Smith J, Harper D (2003) *Animal signals*. Oxford University Press, Oxford.

O'Toole DV, Robinson PA, Myerscough MR (2003) Self-organized criticality in ant brood tending. *Journal of Theoretical Biology* 221: 1–14.

Price K, Harvey H, Ydenberg R (1996) Begging tactics of nestling yellow-headed blackbirds, *Xanthocephalus xanthocephalus*, in relation to need. *Animal Behaviour* 51: 421–435.

R Core Team (2015) *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Royle NJ, Hartley IR, Parker GA (2004) Parental investment and family dynamics: interactions between theory and empirical tests. *Population Ecology* 46: 231–241.

Sauvaget M, Kerdjani O, Savarit F, Fresneau D, Fénéron R (in prep.) Larval movements in the ant *Ectatomma tuberculatum*: begging signals or general cues?

Schaudinischky L, Ishay J (1968) On the nature of the sounds produced within the nest of the oriental hornet *Vespa orientalis* F. (Hymenoptera). *The Journal of the Acoustical Society of America* 44: 1290–1301.

Stickland TR, Franks NR (1994) Computer image analysis provides new observations of ant behaviour patterns. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 257: 279–286.

Théry M, Heeb P (2008) Communication, sensory ecology, and signal evolution. In: Danchin E, Giraldeau L, Cézilly F (eds) *Behavioural ecology: an evolutionary perspective on behaviour*, 577–612. Oxford University Press, Paris, France.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1: Swaying and stretching movements of larvae (mean ± standard deviation per larva during 15 minutes, *N* = 102 larvae).

		Swaying movements		Stretching movements	*Swaying + stretching movements*
		Number	Mean duration (sec)	Number	*Number*
Freely displayed	No-food phase	0.11 ±0.42	1.0 ±4.5	0.05 ±0.22	*0.16 ±0.58*
	Food phase	0.19 ±0.81	3.7 ±13	0.08 ±0.27	*0.26 ±0.95*
Following worker contact	No-food phase	0.75 ±1.3	8.0 ±15	0.15 ±0.74	*0.90 ±1.6*
	Food phase	1.2 ±1.9	19 ±46	0.11 ±0.37	*1.3 ±1.9*
Following worker palpation	No-food phase	0.09 ±0.29	2.3 ±14	0.01 ±0.10	*0.10 ±0.30*
	Food phase	0.07 ±0.25	1.3 ±5.3	0 ±0	*0.07 ±0.25*
Total	*No-food phase*	*0.95 ±1.6*	*7.9 ±13*	*0.21 ±0.80*	***1.2 ±1.9***
	Food phase	*1.4 ±2.1*	*19 ±42*	*0.19 ±0.46*	***1.6 ±2.2***

Chapitre 3 : Influences de la caste des larves femelles sur les apports alimentaires

RÉSUMÉ

Dans plusieurs espèces de fourmis, les ouvrières nourrissent les larves en lien avec certains comportements de quémande des larves, ce qui suggère que les mouvements des larves peuvent influencer les apports alimentaires. Les larves destinées à devenir des reines ont des besoins à long terme supérieurs aux besoins des larves destinées à devenir des ouvrières puisque ces ouvrières sont peu ou pas fertiles et de plus petite taille que les reines. Nous supposons alors que les larves de gyne pourraient réaliser davantage de comportements de quémande, obtenant ainsi davantage de nourriture, en lien avec leur besoin supérieur. Nous avons alors testé chez la fourmi *Ectatomma tuberculatum* si les ouvrières pouvaient discriminer les larves de gyne des autres larves. Nous avons émis les hypothèses suivantes : (i) les ouvrières augmenteraient leur vitesse d'approvisionnement alimentaire lorsque des larves de gynes seraient présentes dans le nid, (ii) les mouvements larvaires seraient supérieurs lorsque des larves de gynes seraient présentes dans le nid et (iii) les ouvrières distribueraient l'aliment aux larves émettant le plus de mouvements. Ces hypothèses ont été testées dans petits groupes d'ouvrières et de larves contenant ou non des larves de gynes. Nous avons observé que les ouvrières se comportaient différemment quand au moins une larve de gyne était présente dans le nid : les ouvrières nourrissent plus rapidement les larves et la répartition alimentaire semble différer. Cependant, la quantité de mouvements des larves n'a pas significativement varié entre les groupes contenant des larves de gynes et les groupes n'en contenant pas. Le besoin à long terme des larves de gyne ne semblerait donc pas induire une modification des mouvements des larves. Cependant, les ouvrières se comportent différemment en fonction de la caste des larves femelles, ce qui pourrait indiquer que les ouvrières discriminent la caste des larves ou leur besoin accru, possiblement grâce à un indice ou signal de nature chimique.

Manuscrit en préparation

Food provisioning and behaviour of gyne-destined larvae in the ant *Ectatomma tuberculatum*

M. Sauvaget, F. Savarit, D. Fresneau and R. Fénéron

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée E.A. 4443 (LEEC), Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, 93430 Villetaneuse, France

ABSTRACT

In some species of ants, workers provision larvae with food according to behaviours of the larvae thus suggesting that larval movements could influence food provisioning. Future queen larvae have a greater long term need than worker-destined larvae and we supposed that future queen larvae could display more movements, therefore obtaining more food. We thus tested in the ant *Ectatomma tuberculatum* whether workers discriminated gyne-destined larvae. We hypothesised that workers would increased food provisioning when at least one gyne-destined larva was present in the experimental group and that workers would allocate food to the larvae displaying more movements. Workers behaved differently when at least one gyne-destined larva was present into the experimental nest: workers fed more rapidly the larvae and food allocation seemed to differ. The amount of larval movements did not significantly differ when at least one gyne-destined larvae was present. Finally, long term need of gyne-destined larvae did not seem to be conveyed by an increase in larval movements in this species. However, workers behaved differently according to female caste fate, which might mean that they discriminated larval caste or larval long term need, possibly with chemical cue or signal.

INTRODUCTION

Parental care is displayed by many species, as it has been selected for the increase in fitness gained by the offspring (Royle et al. 2012). Especially, parents can provision food and models assume that parents can optimise their resources by allocating food to the needier offspring (Godfray & Johnstone 2000). That is, parents could discriminate the need of their offspring thanks to honest signal displayed by the offspring (Godfray 1991, 1995). This honest begging model predict in particular that parents should provision food according to begging intensity and that begging should increase with need (Godfray 1995, Kilner & Johnstone 1997). The need for food is the value of extra resources to the offspring and it is supposed to include long term issues, i. e. the resources needed to reach adult size and reproductive organ development (Price et al. 1996, Godfray & Johnstone 2000, Johnstone & Kilner 2011).

In highly social insects, different larval solicitations have been described: chemical signalling in the honey bee *Apis mellifera* (Huang & Otis 1991, Le Conte et al. 2006, Maisonnasse et al. 2009, He et al. 2016) and the bumble bee *Bombus terrestris* (Pereboom et al. 2003, Den Boer & Duchateau 2006) and tactile solicitations in the termite *Reticulitermes speratus* (Kawatsu 2013) and in the ants *Myrmica rubra* (Creemers et al. 2003), *Gnamptogenys striatula* (Kaptein et al. 2005) and *Ectatomma tuberculatum* (Sauvaget et al. in prep.). In these last ant species, workers provision larvae with food according to larval behaviour, suggesting that larvae could influence food allocation through their movements. However, in a colony of ants, larvae are not identical: they differ in their nutritional state and their developmental stage but also in their reproductive fate, as male, worker or gyne (Hölldobler & Wilson 1990). Future gyne larvae will often reach a larger size compared to worker-destined larvae and will need to accumulate more resources in order to develop reproductive and flight organs (Bonavita-Cougourdan & Passera 1978, Hölldobler & Wilson 1990, Winston 1991). Gyne-destined larvae therefore have a greater long term need than worker-destined larvae. The difference between gyne- and worker-destined larvae increases with increasing size dimorphism between queen and worker (Bourke & Ratnieks 1999). We hypothesised that gyne-destined larvae could then display more movements as supposed by honest begging model. With increased movements, gyne-destined larvae could then be discriminated and favoured by workers.

However, discrimination within female larvae, between gyne- and worker-destined larvae, has not been experimented to our knowledge, contrary to the discrimination between male and female larvae, which has been sometimes tested (Passera & Aron 1996). One difficulty arising to test discrimination within female larvae is the complexity of caste determination between worker and gyne. Determination sometimes has a genetic basis but several

environmental factors are important such as social interactions and nutrition (Wheeler 1986, Anderson et al. 2008, Schwander et al. 2010). The timing of determination is also complex, sometimes occurring in early larval stage with a possible late change, often a return to worker caste (Wheeler 1986, Boulay et al. 2009). However, workers' discrimination within female larvae could be expected as it could optimize food distribution into the colony. In particular, workers are supposed to favour gyne-destined larvae over worker-destined larvae when colony size is large enough (Pamilo 1991, Peeters & Molet 2010).

In the ant species *E. tuberculatum*, larvae display movements that are related to food provisioning (Sauvaget et al. in prep.). However, the relationship between larval need and larval display is not clear in this species: larval movement display was found to vary according to their developmental stage but not to their nutritional state (Sauvaget et al. in prep.). Here, we wanted to take into account larval long-term need. Size dimorphism between queen and worker is important in this species and gyne-destined larvae should therefore have an increased long-term need. Moreover, preliminary results showed that caste fate of older larvae is often already determined, even if we rarely observed late change in determination. Using old larvae, our objective was then to investigate the influence of gyne-destined larvae on larva-worker relation for food provisioning to the nest and for food allocation within larvae. We therefore developed methods to increase the number of gyne-destined larvae in some groups. As caste determination remains difficult to control, we could not obtain groups containing only gyne-destined larvae and we checked that these groups "with gyne larvae" contained at least one gyne-destined larva. We compared them to groups in which we controlled that no gyne-destined larva was present (groups "without gyne larvae"). Using these two kinds of groups, we investigated whether workers discriminated and fed more when gyne-destined larvae were present. We expected (i) that workers would increase food provisioning speed when gyne-destined larvae were present, (ii) that groups with gyne-destined larvae would display more movements than the others and (iii) that workers would allocate food to the larvae displaying more movements.

METHODS

Stock colonies and rearing

Ten stock colonies of *E. tuberculatum* ants were used. Seven colonies were collected in Apazapan (19,19° N, 96,43° W), (Veracruz, Mexico) in 2009 and 2011 and three were funded by sexuals produced and mated in the laboratory. They included one to four reproductive queens (facultative polygynous). Two of them were queenless at the moment of the experiment, and workers were therefore producing only male offspring. Stock colonies were

maintained in moistened plaster nests (26 x 16 cm) connected to a foraging area (29 x 28 cm) and kept in the breeding room at 27 ±1°C, 65 ±10% relative humidity and 12:12 h light:dark cycle. They were fed with killed insects (crickets, mealworms) and with a mixture of apple and honey.

Larval movements

Larvae of *E. tuberculatum* can display swaying movements that are related with food allocation (Sauvaget et al. in prep.). During this movement, the larva raises the anterior part of the body which waves in various patterns and directions.

Experimental design

We made small groups of larvae and workers which belonged to the same colony. We used eight workers per group; half of the workers were sampled in the foraging area and the other half inside the nest. We used seven larvae of the fourth (last) instar per group (Sauvaget et al. in prep.). Groups of larvae and workers were maintained in experimental nests in the breeding room and starved for four days, starvation is supposed to increase workers attractivity for food. Experimental nests contained a small moistened plaster chamber (3.6 x 2.0 cm), covered by a glass through which ants could be observed and filmed, and by a removable black cover. The chamber was connected to a plastic foraging area (14 x 10 cm). During the starvation period, single larva died in five groups and was not replaced.

After four days, we provisioned each group with single food item (piece of cricket) in the foraging area. The nest chamber was then filmed for six hours under red and infrared light, with a Sony HDR-CX740 camcorder. These conditions increased observational quality and disturbed ants as less as possible.

Caste of larvae

To study influence of larval caste, we artificially increased the number of gyne-destined larvae in some groups, thanks to two techniques. First, we used queen-less fragments of colony provided with queen-laid larvae of the second instar. Queen-less fragments are supposed to produce gynes when supplied with young larvae from the queen, in some species (personal observation, Chéron et al. 2009). Second, we used stock colonies producing gynes as well as other castes at this period.

Groups without gyne-destined larvae were collected in stock colonies producing workers and/or males but no gyne at this period.

However, at the moment of the experiment, larval caste was not distinguishable. To verify the presence or absence of gynes, each group was individually reared after the experiment until the pupae stage which allowed the recognition of the caste (Sauvaget et al. in prep., Hora et al. 2005). For groups of larvae expected to have an increased number of gyne larvae ("with gyne larvae"), we kept the groups in which at least one larva developed in gyne and we excluded the groups in which no larva developed in gyne. For groups of larvae expected without gynes ("without gyne larvae"), we kept the groups in which no larva developed in gyne and we excluded the groups in which at least one larva developed in gyne. Male cocoons were frequent in groups "with gyne larvae" and in groups "without gyne larvae". Finally, we obtained 13 groups "with gyne larvae" (containing one to six gyne-destined larvae, mean = 3.8) and nine groups "without gyne larvae".

Analysis

All statistical analyses were performed with R 3.2.2 (R Core Team 2015) using the package coin 1.1 (Hothorn et al. 2008).

Effects of gyne-destined larvae presence on food provisioning

We compared how long it took for workers to feed larvae when gyne larvae were present or absent into the nest. Two latencies were measured: (1) latency before workers bring food into the nest and (2) latency between food entrance into the nest and food provisioning of the first larva by workers. These two latencies were compared between groups "with gyne larvae" and groups "without gyne larvae" thanks to Wilcoxon test for independent samples. In two groups, workers did not bring the food item into the nest during the six hours of observation. The value of six hours was assigned to these groups.

Larval movements

We tested whether the larvae of the groups "with gyne larvae" displayed more movements than larvae of groups "without gyne larvae". Groups which fed at least one larva during the experiment were kept for this analysis. We recorded occurrences and individual mean durations of larval swaying movements during 15 minutes before the first larva was fed with the food item. We used group as statistical unit: we calculated the mean number and duration for each group. We then compared groups "with gyne larvae" (N_{groups} = 13) to groups "without gyne larvae" (N_{groups} = 7) thanks to Fisher-Pitman permutation tests for independent samples, with 1,000,000 permutations.

Effect of larval movements on food allocation

In each group, we recorded which larva was fed in the first place and labelled it as the "first-fed larva". In some groups, two or three neighbouring larvae fed the food item on the same time, so these two or three larvae were considered as "first-fed larvae". All other larvae were labelled as "non-fed larvae". Altogether, 135 larvae were analysed, 27 as "first-fed larvae" and 108 as "non-fed larvae". We compared "first-fed larvae" and "non-fed larvae" using groups as statistical unit: we calculated the mean number and duration of movements for "first-fed" and for "non-fed larvae" within each group. We then compared "first-fed" and "non-fed larvae" thanks to Fisher-Pitman permutation tests for samples paired by group, with 1,000,000 permutations. We did this analysis separately for groups "with gyne larvae" (N_{groups} = 13) and for groups "without gyne larvae" (N_{groups} = 7).

RESULTS

Effects of gyne-destined larvae presence on food provisioning

Workers in groups with at least one "gyne larva" did not bring food into the nest significantly more rapidly than workers in groups without any "gyne larva" (Wilcoxon test: W = 72, $N_{groups\ with\ gyne}$ = 13, $N_{groups\ without\ gyne}$ = 9, P = 0.38). However, workers fed significantly more rapidly larvae when at least one "gyne larva" was present (Wilcoxon test: W = 105, $N_{groups\ with\ gyne}$ = 13, $N_{groups\ without\ gyne}$ = 9, P =0.002, Figure 1; when removing groups that did not bring food into the nest: W = 79, $N_{groups\ with\ gyne}$ = 13, $N_{groups\ without\ gyne}$ = 7, P = 0.009).

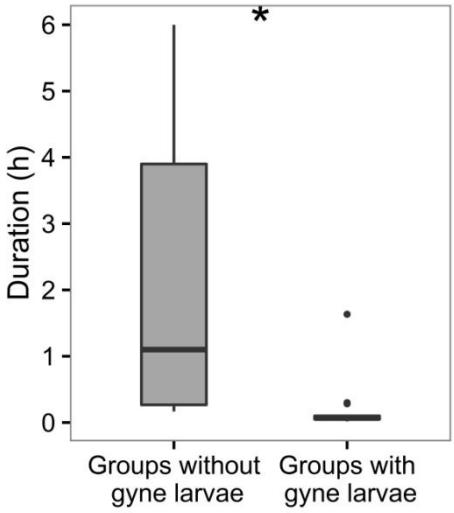


Figure 1: Latency between the time when workers brought the food item into the nest and the time when they provisioned the first larva. Comparison between groups "without gyne larva" (N_{groups} = 9) and groups containing at least one gyne-destined larva (groups "with gyne larvae", N_{groups} = 13). The line represents the median of the sample, the box provides the

upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range, the points are values outside 1.5 times interquartile range. Wilcoxon test, * $P < 0.05$.

Larval movements

During the 15 minutes of observation before food provisioning, 68 out of 135 larvae (50%) displayed at least one swaying movement (N_{groups} = 20). Groups "with gyne larvae" did not significantly differ from groups "without gyne larvae" with respect to number and duration of larval swaying movements (Fisher-Pitman permutation test for independent samples: number, Z = -1.60, P = 0.10; duration, Z = 0.44, P = 0.73; Figure 2).

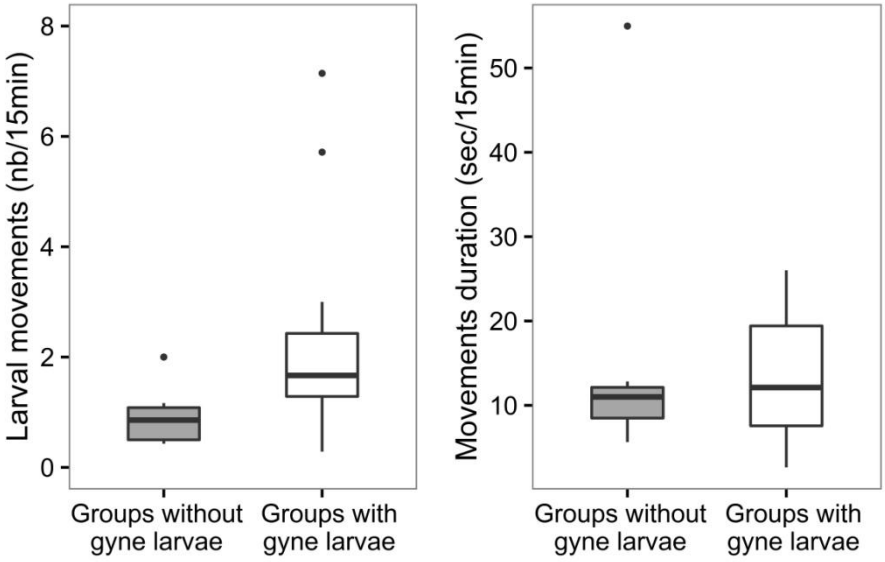


Figure 2: Number and duration of larval swaying movements for groups "without gyne larvae" (N_{groups} = 7) and for groups "with gyne larvae" (N_{groups} = 13). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range, the points are values outside 1.5 times interquartile range. Fisher-Pitman permutation test for independent samples: $P > 0.10$.

Effect of larval movements on food allocation

In groups "without gyne larvae", "first-fed larvae" displayed significantly more and longer swaying movements than "non-fed larvae" just before food allocation by the workers (Fisher-Pitman permutation test for paired samples: number, Z = -1.84, N_{groups} = 7, P = 0.016; duration, Z = -1.38, N_{groups} = 7, P = 0.016; Figure 3). However, in groups "with gyne larvae", "first-fed larvae" did not display significantly more movements than "non-fed larvae" (number, Z = -0.04, N_{groups} = 13, P = 0.97; duration, Z = -0.38, N_{groups} = 13, P = 0.73; Figure 4).

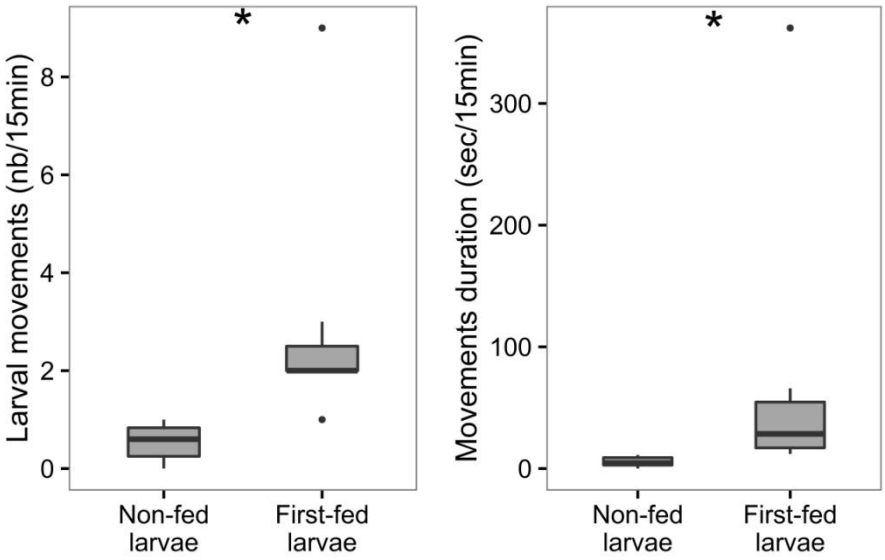


Figure 3: Number and duration of larval swaying movements for the first larvae fed by the workers (first-fed larvae) and for the other larvae (non-fed larvae) in groups "without gyne larvae" (N_{groups} = 7). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range, the points are values outside 1.5 times interquartile range. Fisher-Pitman permutation tests for paired samples: * $P < 0.05$.

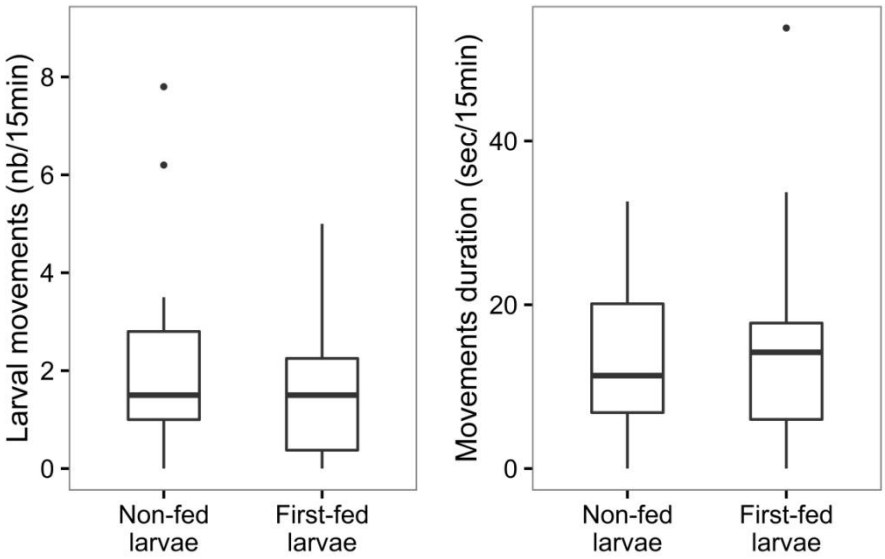


Figure 4: Number and duration of larval swaying movements for the first larvae fed by the workers (first-fed larvae) and for the other larvae (non-fed larvae) in groups "with gyne larvae" (N_{groups} = 13). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range, the points are values outside 1.5 times interquartile range. Fisher-Pitman permutation tests for paired samples: $P > 0.7$.

DISCUSSION

We investigated the influence of gyne-destined larvae on worker food provisioning and allocation, in the ant *E. tuberculatum*, which has a pronounced dimorphism between worker and gyne. Workers behaved differently when gyne-destined larvae were present into the experimental nest: workers fed more rapidly the larvae and food allocation whithin larvae seemed to differ. Larval movements were no longer significantly involved in food allocation when gyne-destined larvae were present. However, the amount of larval movements did not significantly differ between groups with at least one gyne-destined was present and groups without gyne-destined larva.

We observed that workers fed larvae that were displaying significantly more movements in the condition in which gyne-destined larvae were not present. This result is consistent with previous studies in ant species (Sauvaget et al. in prep., Creemers et al. 2003, Kaptein et al. 2005). Our experiments then consisted in increasing the number of gyne-destined larvae and we observed differences in food provisioning and food allocation. This therefore indicates that our manipulation of the number of gyne-destined larvae had some effects on behaviour, even if some methodological issues arose. Caste determination is not easy to control and we reared all larvae until the pupal stage to check the caste of larvae we had used. First, the total number of gyne-destined larvae per group remained uncontrolled (one to six out of seven larvae) and, second, male larvae were also present in many groups (either with or without gyne-destined larvae). Our methods and our current knowledge on caste determination did not allow us to obtain groups more homogeneous. Our results must therefore be analysed taking these elements into account.

High quantity and quality of food is supposed to be necessary for larval development in gyne (Wheeler 1986), as gyne-destined larvae have higher need due to their upcoming growth and their development of reproductive and flight organs. We found that workers were influenced by the presence of gyne-destined larvae in a way that increase speed of food provisioning to larvae within the nest. This is therefore consistent with our hypothesis of workers discriminating gyne-destined larvae and increasing their efficiency in food provisioning. Our results might be related to a study on the ant *Plagiolepis pygmaea* in which food provisioning increased for gyne-destined larvae of late stage (Bonavita-Cougourdan & Passera 1978).

The increase in food provisioning speed when gyne-destined larvae were present may not be related to larval movements, as we did not observed an increase in larval movements when gyne-destined larvae were present. We could thus propose that the greater need of gyne-destined larvae was not correlated with increased movements. Alternatively, the

heterogeneity of the larval caste in the groups could have prevented us to observe a significant result. However, previous research in *E. tuberculatum* also showed that larval need was not always related to an increase in larval display: larval developmental stage was related with larval display but larval nutritional state (hunger) was not (Sauvaget et al. in prep.). Altogether, these results suggest that one of the predictions of honest begging models (i.e. begging is related to need, Godfray 1995) is not verified for larval movements of the ant *E. tuberculatum.*

However, when gyne-destined larvae were present, workers differed not only in the speed of food provisioning, but also in the way they allocated food to larvae: larval movements did not seem to be implicated as much as when gyne-destined larvae were absent. We could then suggest that a signal or cue could exist, informing on larval caste or on larval need, even if larval movements are not involved. A chemical signal or cue might then be supposed (Villalta et al. 2016) as they are known to be signal of need in other highly social species, honey bee (Huang & Otis 1991, Le Conte et al. 2006) and bumble bee (Den Boer & Duchateau 2006).

In summary, gyne-destined larvae long term need did not seem to be conveyed by an increase in larval movements. However, workers behaved differently according to female caste fate of larvae. This could indicate that workers discriminated larval caste or larval long term need, possibly thanks to a chemical cue or signal, which remains to be identified.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Paul Devienne for ant keeping and technical assistance, Léa Picherit and Jérémy Hanoune for their help during the experiment.

REFERENCES

Anderson KE, Linksvayer TA, Smith CR (2008) The causes and consequences of genetic caste determination in ants (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 11: 119–132.

Bonavita-Cougourdan A, Passera L (1978) Étude comparative au moyen d'or radio-actif de l'alimentation des larves d'ouvrières et des larves de reine chez la fourmi *Plagiolepis pygmaea* Latr. *Insectes Sociaux* 25: 275–287.

Boulay R, Cerdá X, Fertin A, Ichinose K, Lenoir A (2009) Brood development into sexual females depends on the presence of a queen but not on temperature in an ant dispersing by colony fission, *Aphaenogaster senilis*. *Ecological Entomology* 34: 595–602.

Bourke AFG, Ratnieks FLW (1999) Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 46: 287–297.

Chéron B, Doums C, Fédérici P, Monnin T (2009) Queen replacement in the monogynous ant *Aphaenogaster senilis*: supernumerary queens as life insurance. *Animal Behaviour* 78: 1317–1325.

Creemers B, Billen J, Gobin B (2003) Larval begging behaviour in the ant *Myrmica rubra*. *Ethology Ecology & Evolution* 15: 261–272.

Den Boer SPA, Duchateau MJHM (2006) A larval hunger signal in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Insectes Sociaux* 53: 369–373.

Godfray HCJ (1991) Signalling of need by offspring to their parents. *Nature* 352: 328–330.

Godfray HCJ (1995) Evolutionary theory of parent-offspring conflict. *Nature* 376: 133–138.

Godfray HCJ, Johnstone RA (2000) Begging and bleating: the evolution of parent–offspring signalling. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 355: 1581–1591.

He XJ, Zhang XC, Jiang WJ, Barron AB, Zhang JH, Zeng ZJ (2016) Starving honey bee (*Apis mellifera*) larvae signal pheromonally to worker bees. *Scientific Reports* 6: 1–9.

Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge.

Hora RR, Doums C, Poteaux C, Fénéron R, Valenzuela J, Heinze J, Fresneau D (2005) Small queens in the ant *Ectatomma tuberculatum*: a new case of social parasitism. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59: 285–292.

Hothorn T, Hornik K, Wiel MA van de, Zeileis A (2008) Implementing a class of permutation tests: the coin package. *Journal of Statistical Software* 28: 1–23.

Huang Z-Y, Otis GW (1991) Inspection and feeding of larvae by worker honey bees (Hymenoptera: Apidae): Effect of starvation and food quantity. *Journal of Insect Behavior* 4: 305–317.

Johnstone RA, Kilner RM (2011) New labels for old whines. *Behavioral Ecology* 22: 918–919.

Kaptein N, Billen J, Gobin B (2005) Larval begging for food enhances reproductive options in the ponerine ant *Gnamptogenys striatula*. *Animal Behaviour* 69: 293–299.

Kawatsu K (2013) Effect of nutritional condition on larval food requisition behavior in a subterranean termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Ethology* 31: 17–22.

Kilner RM, Johnstone RA (1997) Begging the question: are offspring solicitation behaviours signals of need? *Trends in Ecology & Evolution* 12: 11–15.

Le Conte Y, Bécard J-M, Costagliola G, Vaublanc G de, Maâtaoui ME, Crauser D, Plettner E, Slessor KN (2006) Larval salivary glands are a source of primer and releaser pheromone in honey bee (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* 93: 237–241.

Maisonnasse A, Lenoir J-C, Costagliola G, Beslay D, Choteau F, Crauser D, Becard J-M, Plettner E, Le Conte Y (2009) A scientific note on E-β-ocimene, a new volatile primer pheromone that inhibits worker ovary development in honey bees. *Apidologie* 40: 562–564.

Pamilo P (1991) Evolution of colony characteristics in social insects. I. Sex allocation. *The American Naturalist* 137: 83–107.

Passera L, Aron S (1996) Early sex discrimination and male brood elimination by workers of the argentine ant. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 263: 1041–1046.

Peeters C, Molet M (2010) Colonial reproduction and life histories. In: Lach L, Parr CL, Abbott KL (eds) *Ant Ecology*, 159–176. Oxford University Press, Oxford.

Pereboom JJM, Velthuis HHW, Duchateau MJ (2003) The organisation of larval feeding in bumblebees (Hymenoptera, Apidae) and its significance to caste differentiation. *Insectes Sociaux* 50: 127–133.

Price K, Harvey H, Ydenberg R (1996) Begging tactics of nestling yellow-headed blackbirds, *Xanthocephalus xanthocephalus*, in relation to need. *Animal Behaviour* 51: 421–435.

R Core Team (2015) *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Royle NJ, Smiseth PT, Kölliker M (eds) (2012) *The evolution of parental care*. Oxford University Press.

Sauvaget M, Kerdjani O, Savarit F, Fresneau D, Fénéron R (in prep.) Larval movements in the ant *Ectatomma tuberculatum*: begging signals or general cues?

Sauvaget M, Picherit L, Savarit F, Fresneau D, Fénéron R (in prep.) Larval food provisioning and begging behaviour depend on social interactions and local environnement in the ant *Ectatomma tuberculatum* (Olivier, 1792).

Schwander T, Lo N, Beekman M, Oldroyd BP, Keller L (2010) Nature versus nurture in social insect caste differentiation. *Trends in Ecology & Evolution* 25: 275–282.

Villalta I, Amor F, Cerdá X, Boulay R (2016) Social coercion of larval development in an ant species. *The Science of Nature* 103: 1–8.

Wheeler DE (1986) Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *The American Naturalist* 128: 13–34.

Winston ML (1991) *The biology of the honey bee*, 2nd ed. Harvard University Press.

Chapitre 4 : Odeurs des larves selon leur état nutritionnel et influence sur les ouvrières

RESUME

L'approvisionnement alimentaire des jeunes est supposé être optimisé. Chez les insectes eusociaux, cette optimisation de l'apport alimentaire nécessite que les besoins des nombreuses larves de la colonie soient correctement estimés par les ouvrières. Ces besoins des larves dépendent du nombre de larves dans la colonie d'une part et de leur état nutritionnel d'autre part. Chez les fourmis, il a été montré que le nombre de larves modifiait en effet le niveau de fourragement, mais l'effet de l'état nutritionnel des larves est peu connu. Dans ce chapitre, nous nous sommes donc focalisés sur l'influence de l'effet nutritionnel des larves. Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, les mouvements larvaires pourraient ne pas refléter les besoins nutrirtionnels des larves. Nous avons donc fait l'hypothèse que des composés chimiques volatiles pourraient varier avec l'état nutritionnel des larves et pourraient être discriminés par les ouvrières de la fourmi *Ectatomma tuberculatum*. Nous avons placés des ouvrières dans un nid avec quelques larves préalablement bien nourries et nous avons exposé ces ouvrières à un flux d'air contenant soit une odeur de larves préalablement bien nourries, soit une odeur de larves préalablement affamées. Nous avons observé que les ouvrières augmentaient significativement leurs comportements de palpation dirigée vers les larves dans leur nid quand une odeur de larves affamées était envoyée dans le nid mais pas quand une odeur de larve bien nourries était ajoutée. Néanmoins, nos analyses chimiques préliminaires portant sur ces odeurs larvaires n'ont pas permis d'identifier la ou les molécules impliquées. Au cours d'une expérience complémentaire, les ouvrières d'*E. tuberculatum* ont été cette fois exposées à une odeur de larve préalablement affamées d'une autre espèce, *Aphaenogaster senilis*. Dans cette condition, les ouvrières n'ont pas montré de changement significatif de leur comportement; cependant, l'effectif de cette dernière expérience était faible, et son interprétation doit donc rester prudente. Nous pouvons conclure de ce chapitre que les larves d'*E. tuberculatum* sont capables de produire une odeur, volatile, qui diffère selon leur état nutritionnel. Cette odeur est perçue par les ouvrières et pourrait ainsi contribuer à optimiser le fourragement et la répartition des ressources alimentaires de la colonie.

Manuscrit en préparation

Larval volatile odour depends on nutritional state and influences worker behaviour in the ant *Ectatomma tuberculatum*

Sauvaget M, Guion A, Savarit F, Fresneau D and Fénéron R.

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée E.A. 4443 (LEEC), Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, 93430 Villetaneuse, France

ABSTRACT

Food provisioning of offspring is supposed to be an optimised process. In highly social insects, the optimisation of food provisioning necessitates larval need to be assessed correctly by workers. Larval need depends on the number of larvae and of their nutritional state. Here we hypothesise that some volatile chemical compounds could vary with nutritional state of the larvae and could be discriminated by workers in the ant *Ectatomma tuberculatum*. Workers were disposed in a nest with some well-fed larvae and were exposed to an air flow containing odour of well-fed larvae or odour of food-deprived larvae. Workers significantly increased their palpation behaviour towards larvae only when the odour of food-deprived larvae was added into the nest and not when odour of well-fed larvae was added. However, preliminary chemical analyses did not identify the molecule(s) involved. During another experiment with a limited sample size, we did not observe a significant change in the behaviour of *E. tuberculatum* workers exposed to the odour of food-deprived larvae of another ant species (*Aphaenogaster senilis*). In conclusion, larvae of *E. tuberculatum* produce volatile emission according to their level of satiety. These compounds are perceived by the workers and might thus contribute to the optimisation of food resource allocation in the colony.

INTRODUCTION

Parents who provide care to their young are supposed to optimise their investment (Trivers 1972, Royle et al. 2012). Optimisation of parental investment often relies on begging signal displayed by the young. Many models have focused on this parent-offspring relation for food provisioning and they showed that the honesty of signals is an important aspect to ensure evolutionary stable signalling (Godfray 1995, Godfray & Johnstone 2000). The signal is thus expected to vary honestly according to the need of the young (Godfray 1991). In response to honest begging signals, parents are predicted to adjust food provisioning to begging intensity (Godfray 1995, Kilner & Johnstone 1997). Parents can then use information on young need to optimise resource allocation and ultimately their fitness. Models of honest begging have been empirically tested in many species and the need is often measured with the nutritional state or the level of satiety of the young (Clark 2002, Johnstone & Kilner 2011, Kölliker 2011). A correlation between the level of satiety and begging signal intensity is then frequently observed, in particular in birds, the main studied taxa (Budden & Wright 2001, Royle et al. 2004, Mock et al. 2011).

In insects, some species have parental care and larval begging for food was observed (Tallamy & Wood 1986, Mas & Kölliker 2008). In highly social insects, the number of larvae is often elevated and can largely exceed these of birds or sub-social insects (Wilson 1971, Hölldobler & Wilson 1990). Signals of larval need could thus particularly optimise the regulation of food allocation between larvae and of food provisioning to the nest (Hölldobler & Wilson 1990, Seeley 1998, Beshers & Fewell 2001). Food provisioning may then be triggered by larvae, as supposed in the brood stimulation theory. This brood stimulation theory was first proposed for army ants (Schneirla 1958), but it might apply to other highly social insects. Along with the number of larvae, the nutritional state of the larvae influences the need and we could expect that the nutritional state of the larvae also has some effects on food provisioning. Evidence for larvae as foraging stimuli have been found in the honey bee *Apis mellifera*: larvae produce brood pheromone and ocimene which induce multiple responses from workers, increasing pollen foraging (Pankiw 2004, Le Conte et al. 2006, Maisonnasse et al. 2010). Moreover, food-deprived larvae increased their production of ocimene (He et al. 2016). In ants, larvae of the ant species *Myrmica rubra* (Creemers et al. 2003)*, Gnamptogenys striatula* (Kaptein et al. 2005) and *Ectatomma tuberculatum* (Sauvaget et al. in prep.) are fed according to tactile movement signalling. The number of ant larvae in a nest influences foraging activity (Sorensen et al. 1985, Portha et al. 2002, Fénéron et al. 2008, Ulrich et al. 2016). However, the effects of the nutritional state of the larvae on foraging remains unclear as protocol of previous studies used additional larvae (Daumas et

al. 2012, Ulrich et al. 2016) or changed the nutritional state of both larvae and workers (Sorensen et al. 1985).

In the ant *E. tuberculatum*, individual provisioning effort increases with the number of larvae (Fénéron et al. 2008). We thus hypothesised that the nutritional state of the larvae could also influence worker behaviour. However, a previous study has shown that the larval nutritional state (i) was not related with larval tactile movement solicitation and (ii) did not influence food allocation (Sauvaget et al. in prep.). We then expected that larval nutritional state could be encoded by another communication channel and especially the chemical channel, as suggested by another study (Daumas et al. 2012). The aim of this study was therefore to test whether larvae produce chemical compounds according to their nutritional state, which could be perceived by the workers. We used a behavioural test to experiment whether workers can discriminate between two odorant stimuli composed either of well-fed or of food-deprived larvae odour. As we obtained a behavioural difference during this test, we explored the nature of this odour. We tested in a complementary experiment whether the odour was shared with another species of ants. We also performed preliminary chemical analysis of the volatile molecules produced by well-fed and food-deprived larvae.

METHODS

Animals

Ectatomma tuberculatum is a poneromorph neotropical Ectatomminae found from Mexico to Brazil (Weber 1946, Bolton 2003). Five stock colonies of *E. tuberculatum*, collected in Apazapan (19,19° N, 96,43° W, Veracruz, Mexico) in 2009 and 2011, were used in this study. They included one to four queens, several hundred workers and brood. Stock colonies were maintained in moistened plaster nests (26 x 16 cm) connected to a foraging area (29 x 28 cm) and kept in a breeding room at 27 ±1°C, 65 ±10% relative humidity and 12:12 h light:dark cycle. Larvae of the Myrmicinae ant species *Aphaenogaster senilis* were also used. Colonies of *A. senilis* were collected in Banyuls-sur-Mer (France) and kept in a breeding room at 24 ±1°C, 50 ±10% relative humidity and 12:12 h light:dark cycle. All colonies were fed with killed insects (crickets, mealworms) and with a mixture of apple and honey.

Behavioural test

- Homospecific condition

One week before the experiment, ten workers and eight larvae of *E. tuberculatum* were collected and installed in a small moistened plaster nest (6 x 4 cm divided into two chambers) covered by a glass and a removable black cover, connected to a foraging area

(diameter 8 cm). Workers were individually paint-marked with dots on the thorax and abdomen (uniPaint, Mitsubishi pencil co., Ltd). Food was provisioned in the foraging area three times during the week, the last provisioning occurring the day before the experiment.

Larvae of *E. tuberculatum* used as odorant stimulus were collected two days before the experiment and were stocked with workers in moistened plaster nests (15 x 12 cm). Some nests received food (proteins and carbohydrates) in order to obtain well-fed larvae; the others did not receive any food in order to obtain food-deprived larvae.

On the experimental day, the nest containing the ten workers and eight larvae was connected to a carbon filtered air flow (50 mL/min). The air flow entered into the deepest chamber of the nest, where the eight larvae were mainly maintained, and exited towards the foraging area. After 140 minutes, an odorant stimulus was placed into the air flow until the end of the experiment, 40 minutes later. The odorant stimulus consisted in around 20 well-fed larvae for half groups and around 20 food-deprived larvae for the other half. Larvae used as odorant stimulus and the ten workers and eight larvae into the nest belonged to the same stock colony.

- Heterospecific condition

The same protocol was applied with food-deprived larvae of *A. senilis* as odorant stimulus.

- Analysis

In the homospecific condition, we repeated the experiment 14 times with well-fed larvae as odorant stimulus and 15 times with food-deprived larvae as odorant stimulus. In the heterospecific condition, we repeated the experiment 9 times with food-deprived larvae of *A. senilis*.

We observed the behaviour of the workers during two sessions of 30 minutes each, one session before the odorant stimulus was placed (Control) and the other session after (Stimulus). The control session ended 5 minutes before the odorant stimulus was placed; the stimulus session began 10 minutes after the odorant stimulus was placed. Sessions were filmed under infra-red light with a Sony HDR-CX740 camcorder.

We observed the behaviour of the workers directed towards the larvae. First, workers could touch the larvae with the antenna, for one second or less, which we defined as touch. Second, workers could inspect the larvae through antennal palpation during two seconds or more, we defined this behaviour as palpation. Third, workers could display care of the larvae, feeding, cleaning or transporting them. As these behaviours were infrequent, we pooled them as care. When care of larvae immediately followed a palpation, only care was

counted, palpation was not counted. Moreover, in the homospecific condition, duration of palpations was recorded in a sample of palpations from eight and nine groups respectively for well-fed larvae stimulus and food-deprived larvae stimulus.

We used the group as statistical unit, summing the number of behaviour of the ten workers. The sum of touches, of palpations and of cares and the mean duration of palpations were compared between control and stimulus sessions using Fisher-Pitman permutation tests for paired samples, with 1,000,000 permutations.

All statistical analyses were performed with R 3.2.2 (R Core Team 2015) using the package coin 1.1 (Hothorn et al. 2008).

Chemical analysis

We sampled *E. tuberculatum* larvae, pooling 5 to 15 larvae (N = 3), and we also sampled *A. senilis* larvae pooling 100 larvae (N = 1) or 20 larvae (N = 2 with well-fed larvae and N = 2 with food-deprived larvae, starved for four days). We used head-space SPME (solid-phase micro-extraction) polydimethylsiloxane (PDMS 100 µm) and polyacrylate (PA) fibres in a 2 mL vial during 30 min. Control were performed on the same day in an empty vial. The samples were analysed on an Agilent 7890A gas chromatograph, equipped with an HP-5ms column (30 m x 250 µm x 0.25 µm), coupled to Agilent 5975C inert XL mass spectrometer (with 70-eV electron impact ionization). The fibre was thermally desorbed at 270°C during 5 min and injected in splitless mode. Carrier gas was Helium at a constant flow rate of 1.0 ml/min. After 5 min hold at 50°C, the oven was programmed from 50°C to 200°C at 5°C/min, then from 200°C to 300°C at 40°C/min and held for 5 min at 300°C.

As we did not observe any compound differing from the control in *E. tuberculatum*, we used dynamic head-space samplings analysed on an Agilent 7890B gas chromatograph, equipped with an HP-5ms column (30 m x 250 µm x 0.25 µm), coupled with an Agilent 7000C mass spectrometer using a Gerstel MPS autosampler. We sampled four groups of 10 *E. tuberculatum* larvae (N = 2 with well-fed larvae and N = 2 with food-deprived larvae, starved for four days). Control was performed on the same day in an empty vial. The samples were placed in a 20 mL vial at 26°C incubated for 5 min and then purged with 50 mL/min during 40 min. The compounds were trapped at 20°C on a glass thermal desorption (TDU) tube filled with adsorbent tenax (Gerstel). The tube was then thermally desorbed at 250°C in splitless mode during 5 min. Carrier gas was Helium at a constant flow rate of 1.2 ml/min. After 5 min hold at 30°C, the oven was programmed from 30°C to 250°C at 5°C/min and held for 1 min at 250°C.

RESULTS

Behavioural test

- Homospecific condition

In the homospecific condition, occurrences of behaviours displayed by workers towards larvae are presented in Table S1 in Supplementary Material. Touches and cares of larvae did not significantly differ between Control and Stimulus phase, either for well-fed larvae as stimulus or for food-deprived larvae as stimulus (Fisher-Pitman permutation test for paired samples: $P > 0.3$, Figure 1A & 1C). On the contrary, the number of palpations significantly increased between Control and Stimulus phase only when the stimulus was food-deprived larvae (Fisher-Pitman permutation tests for paired samples: Well-fed larvae as stimulus: $Z = -0.13$, $N_{groups} = 14$, $P = 0.93$; Food-deprived larvae as stimulus: $Z = -2.10$, $N_{groups} = 15$, $P = 0.018$, Figure 1B).

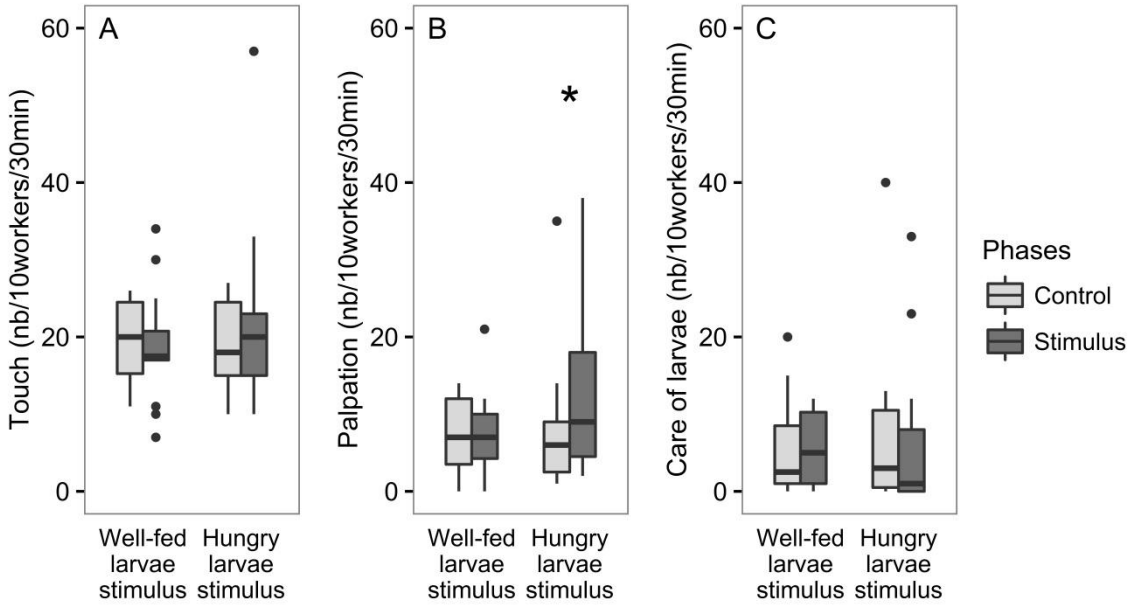


Figure 1: Workers' behaviours (A: touch, B: palpation, C: care of larvae) directed towards larvae before (Control phase) and after (Stimulus phase) adding an odorant stimulus which could be either well-fed larvae ($N_{groups} = 14$, $N_{workers} = 140$) or food-deprived larvae ($N_{groups} = 15$, $N_{workers} = 150$). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range, the points are values outside 1.5 times interquartile range. Fisher-Pitman permutation tests for paired samples: * $P < 0.05$.

We compared durations of palpations between phases with a random sample extracted from the data. Duration did not significantly differ between Control and Stimulus phase,

both for odorant stimulus being well-fed larvae (Control phase: median = 8.4, 1st quartile = 4.4 and 3rd quartile = 11.4, Stimulus phase: median = 11.6, 1st quartile = 7.1 and 3rd quartile = 17.2; Fisher-Pitman permutation test for paired samples: Z = -0.89, N_{groups} = 8, P = 0.31) and for odorant stimulus being food-deprived larvae (Control phase: median = 7.7, 1st quartile = 4.5 and 3rd quartile = 9.4, Stimulus phase: median = 7.6, 1st quartile = 5.7 and 3rd quartile = 9.1; Fisher-Pitman permutation test for paired samples: Z = 0.68, N_{groups} = 9, P = 0.70).

- Heterospecific condition

Ectatomma tuberculatum workers did not significantly change their behaviour (number of touches, palpations and cares of larvae) after adding food-deprived larvae of *A. senilis* as an odorant stimulus (Fisher-Pitman permutation tests for paired samples: touch, Z = 1.21, N_{groups} = 9, P = 0.27; palpation, Z = -0.73, N_{groups} = 9, P = 0.52; care, Z = -0.13118, N_{groups} = 9, P = 0.94, Figure 2).

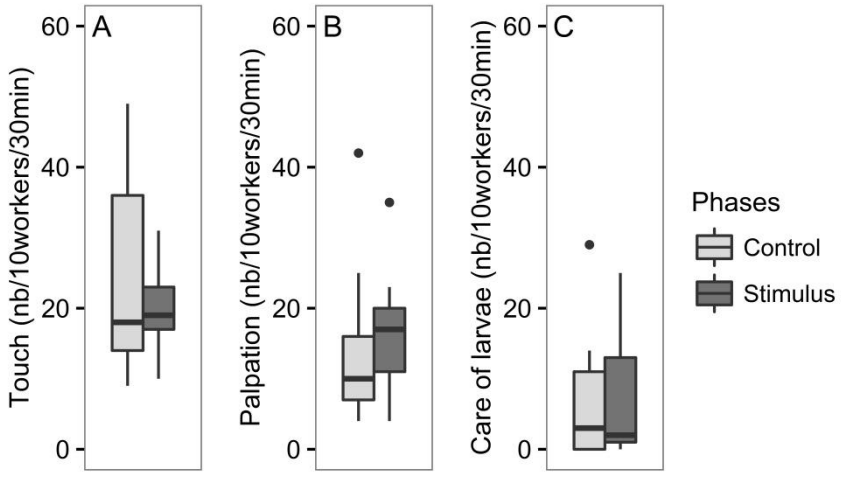


Figure 2: *Ectatomma tuberculatum* workers' behaviours (A: touch, B: palpation, C: care of larvae) directed towards their larvae before (Control phase) and after (Stimulus phase) adding an odorant stimulus which was food-deprived larvae of *Aphaenogaster senilis* (N_{groups} = 9, $N_{workers}$ = 90). The line represents the median of the sample, the box provides the upper and lower quartiles and the whiskers show 1.5 times the interquartile range, the points are values outside 1.5 times interquartile range. Fisher-Pitman permutation tests for paired samples: P > 0.2.

Chemical analysis

In *E. tuberculatum*, with the dynamic head-space technique, we observed several volatile larval hydrocarbons in small quantities. None differed between the well-fed and food-deprived larvae.

In *A. senilis*, we observed five to eleven larval compounds differing from the control, depending on PDMS or PA fibre and on number of pooled larvae (20 or 100). Compounds were hydrocarbons with 13 to 19 carbons but none differed between the well-fed and food-deprived larvae.

DISCUSSION

This study shows that *E. tuberculatum* workers increased their palpation behaviour towards larvae present into the nest only when the odour of food-deprived larvae of their own species was added into the nest, and not when odour of well-fed larvae was added. Odour of food-deprived larvae of another species did not significantly change the behaviour the workers. Preliminary chemical analyses of larval compounds indicated no difference between odour of well-fed larvae and odour of food-deprived larvae.

We found that workers were able to react according to the nutritional state of larvae. Moreover, we evidence that the stimulus used by workers was chemical as we used an external source of odour to observe the change in workers' behaviour. Larvae of *E. tuberculatum* were thus able to produce an odour according to their nutritional state and expectantly their hunger. Our experiment is the first to our knowledge to show that larval nutritional state of an ant species could be chemically encoded. A study on the ant species *Solenopsis invicta* suggested that larvae produced compounds according to their nutritional state (Cassill & Tschinkel 1995), but no experiment was performed to confirm the nature of this larval signal. Odours or chemicals related to larval nutritional state were however found in other highly social species: the honeybee *Apis mellifera* (Huang & Otis 1991, He et al. 2016) and the bumblebee *Bombus terrestris* (Den Boer & Duchateau 2006).

Previous studies showed that *E. tuberculatum* workers adjust food provisioning to the number of larvae (Fénéron et al. 2008, Daumas et al. 2012) and, with this study, we show that they also changed their behaviour according to larval nutritional state. Consequently, workers might adjust precisely foraging and food resource allocation to larval need. This is consistent with the brood stimulation theory, which assumed that larvae could influence worker foraging (Schneirla 1958). Our results are also in agreement with models of honest begging, which predict that the larval signal varies according to the larval need (Godfray 1995, Kölliker 2011).

In our experiment, workers were in a situation with conflicting information arising from the odour of food-deprived larvae sent to the nest *versus* the well-fed status of the larvae in the nest. Workers responded with an inspection of the well-fed larvae however, workers neither fed nor provided more care to the well-fed larvae. We therefore suppose that, in our study,

(i) workers perceived the larval well-fed status into the nest and the food-deprived odour and that (ii) workers were exploring the conflicting information through palpations of larvae. The difference between well-fed larvae and food-provisioned larvae stimulus might be the quantity of chemicals released. Alternatively, the stimulus of well-fed larvae might be a different cue, such as odour of food remains, or it might be the movements of the larvae, as they are involved in food allocation (Sauvaget et al. in prep.).

In our experiment, the source of odour was located 10-15 cm from the nest and sent to the nest with air flow. The chemical compounds produced by *E. tuberculatum* larvae could thus be volatile. Other cases of volatile emissions from the brood were also reported, in sub-social insects (Kölliker et al. 2006) and in the honey-bee (Le Conte et al. 2006, Maisonnasse et al. 2010). From our analyses, it appears that the compounds were produced in small amount by the larvae, as we could not identify them, despite multiple attempts (this paper and unpublished data). In agreement with our conclusion, Villalta et al. (2016) analysed cuticular hydrocarbons of larvae of the species *Aphaenogaster senilis* and they found very low concentrations of chemicals. Larvae could thus produce small amounts of chemicals, either volatile compounds or cuticular hydrocarbons, and their identification could remain a challenge.

We explored the possibility of a larval volatile emission shared by several species of ants; however, we found that workers of *E. tuberculatum* did not significantly respond to larval odour of another species, *Aphaenogaster senilis*. This finding should be interpreted with caution as our sample size was reduced. Nonetheless we suggest two possible explanations. First, the larval compounds could differ between species or be specific to *E. tuberculatum*. Second, *A. senilis* larval volatile emission could encode several information and possibly heterospecific cues, which disturb *E. tuberculatum* workers. However, heterospecific cues often rely on short range cues, mainly non-volatile cuticular compounds or morphological characteristics of the larvae (Febvay et al. 1984, Carlin 1988, Morel & Vander Meer 1988). This hypothesis of volatile heterospecific cues seems then unlikely to explain our results. The specificity of *E. tuberculatum* larval volatile emission requires more experiments to be fully understood.

Our finding of larval volatile emission, added to previous studies indicating a larval communication through tactile movements in the same species (Sauvaget et al. in prep.), could be the first report, to our knowledge, of larval multimodal communication in highly social insects. Moreover, workers of highly social insects are specialised in different tasks, such as foraging or nursing the brood. Multimodal signals could then have different receptors within specialised workers (Partan & Marler 1999). For instance, larval odour could

be used by foragers or some nurses to assess the global nutritional state of the larvae on the one hand; and, on the other hand, the movements could be used by nurses to allocate food among larvae. Chemicals and movements could then complement one another, therefore contributing to optimise resource allocation inside the colony. Our results could then open new possibilities to test multimodal communication with an insect model.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Christophe Lucas, from IRBI, Tours University (France), for dynamic head-space chemical analyses and Paul Devienne for technical assistance.

REFERENCES

Beshers SN, Fewell JH (2001) Models of division of labor in social insects. *Annual Review of Entomology* 46: 413–440.

Bolton B (2003) Synopsis and classification of Formicidae. *Memoirs of American Entomological Institute* 71: 1–370.

Budden AE, Wright J (2001) Begging in nestling birds. In: Nolan V, Thompson CF (eds) *Current Ornithology*, 83–118. Kluwer/Plenum, New York.

Carlin NF (1988) Species, kin and other forms of recognition in the brood discrimination behaviour of ants. In: Trager JC (ed) *Advances in Myrmecology*, 267–295. Brill, Leiden.

Cassill DL, Tschinkel WR (1995) Allocation of liquid food to larvae via trophallaxis in colonies of the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Animal Behaviour* 50: 801–813.

Clark AB (2002) Appetite and the subjectivity of nestling hunger. In: Wright J, Leonard ML (eds) *The evolution of begging: competition, cooperation and communication*, 173–198. Springer Netherlands.

Creemers B, Billen J, Gobin B (2003) Larval begging behaviour in the ant *Myrmica rubra*. *Ethology Ecology & Evolution* 15: 261–272.

Daumas A, Fénéron R, Gheusi G, Savarit F (2012) Behavioural interactions between larvae and workers in ants: the role of larval odours in stress situation. *European Congress of the International Union for the Study of Social Insects*, Montecatini (Italie).

Den Boer SPA, Duchateau MJHM (2006) A larval hunger signal in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Insectes Sociaux* 53: 369–373.

Febvay G, Mallet F, Kermarrec A (1984) Attractivité du couvain et comportement des ouvrières de la fourmi attine *Acromyrmex octospinosus*. *Actes Coll Insectes sociaux* 1: 79–86.

Fénéron R, Malherbe M-C, Fourcassié V, Chameron S (2008) How individual foraging behaviour is affected by social environment in ants. *XX International Congress of Zoology*, Paris (France).

Godfray HCJ (1991) Signalling of need by offspring to their parents. *Nature* 352: 328–330.

Godfray HCJ (1995) Evolutionary theory of parent-offspring conflict. *Nature* 376: 133–138.

Godfray HCJ, Johnstone RA (2000) Begging and bleating: the evolution of parent–offspring signalling. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 355: 1581–1591.

He XJ, Zhang XC, Jiang WJ, Barron AB, Zhang JH, Zeng ZJ (2016) Starving honey bee (*Apis mellifera*) larvae signal pheromonally to worker bees. *Scientific Reports* 6: 1–9.

Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge.

Hothorn T, Hornik K, Wiel MA van de, Zeileis A (2008) Implementing a class of permutation tests: the coin package. *Journal of Statistical Software* 28: 1–23.

Huang Z-Y, Otis GW (1991) Inspection and feeding of larvae by worker honey bees (Hymenoptera: Apidae): Effect of starvation and food quantity. *Journal of Insect Behavior* 4: 305–317.

Johnstone RA, Kilner RM (2011) New labels for old whines. *Behavioral Ecology* 22: 918–919.

Kaptein N, Billen J, Gobin B (2005) Larval begging for food enhances reproductive options in the ponerine ant *Gnamptogenys striatula*. *Animal Behaviour* 69: 293–299.

Kilner RM, Johnstone RA (1997) Begging the question: are offspring solicitation behaviours signals of need? *Trends in Ecology & Evolution* 12: 11–15.

Kölliker M (2011) On the meaning of hunger and behavioral control in the evolution of honest begging. *Behavioral Ecology* 22: 919–920.

Kölliker M, Chuckalovcak JP, Haynes KF, Brodie ED (2006) Maternal food provisioning in relation to condition-dependent offspring odours in burrower bugs (*Sehirus cinctus*). *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 273: 1523–1528.

Le Conte Y, Bécard J-M, Costagliola G, Vaublanc G de, Maâtaoui ME, Crauser D, Plettner E, Slessor KN (2006) Larval salivary glands are a source of primer and releaser pheromone in honey bee (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* 93: 237–241.

Maisonnasse A, Lenoir J-C, Beslay D, Crauser D, Le Conte Y (2010) E-β-ocimene, a volatile brood pheromone involved in social regulation in the honey bee colony (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 5: E13531.

Mas F, Kölliker M (2008) Maternal care and offspring begging in social insects: chemical signalling, hormonal regulation and evolution. *Animal Behaviour* 76: 1121–1131.

Mock DW, Dugas MB, Strickler SA (2011) Honest begging: expanding from signal of need. *Behavioral Ecology* 22: 909–917.

Morel L, Vander Meer RK (1988) Do ant brood pheromones exist? *Annals of the Entomological Society of America* 81: 705–710.

Pankiw T (2004) Brood pheromone regulates foraging activity of honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 97: 748–751.

Partan S, Marler P (1999) Communication goes multimodal. *Science* 283: 1272–1273.

Portha S, Deneubourg J-L, Detrain C (2002) Self-organized asymmetries in ant foraging: a functional response to food type and colony needs. *Behavioral Ecology* 13: 776–781.

R Core Team (2015) *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Royle NJ, Hartley IR, Parker GA (2004) Parental investment and family dynamics: interactions between theory and empirical tests. *Population Ecology* 46: 231–241.

Royle NJ, Smiseth PT, Kölliker M (eds) (2012) *The evolution of parental care*. Oxford University Press.

Sauvaget M, Kerdjani O, Savarit F, Fresneau D, Fénéron R (in prep.) Larval movements in the ant *Ectatomma tuberculatum*: begging signals or general cues?

Sauvaget M, Picherit L, Savarit F, Fresneau D, Fénéron R (in prep.) Larval food provisioning and begging behaviour depend on social interactions and spatial position in the ant *Ectatomma tuberculatum* (Olivier, 1792).

Schneirla TC (1958) The behavior and biology of certain nearctic army ants last part of the functional season, Southeastern Arizona. *Insectes Sociaux* 5: 215–255.

Seeley TD (1998) Thoughts on information and integration in honey bee colonies. *Apidologie* 29: 67–80.

Sorensen AA, Busch TM, Vinson SB (1985) Control of food influx by temporal subcastes in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 17: 191–198.

Tallamy DW, Wood TK (1986) Convergence patterns in subsocial insects. *Annual Review of Entomology* 31: 369–390.

Trivers RL (1972) Parental investment and sexual selection. *Sexual selection and the descent of Man, 1871-1971*, 136–179. B. Campbell, Chicago.

Ulrich Y, Burns D, Libbrecht R, Kronauer DJC (2016) Ant larvae regulate worker foraging behavior and ovarian activity in a dose-dependent manner. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 70: 1011–1018.

Villalta I, Amor F, Cerdá X, Boulay R (2016) Social coercion of larval development in an ant species. *The Science of Nature* 103: 1–8.

Weber NA (1946) Two common ponerine ants of possible economic significance, *Ectatomma tuberculatum* (Olivier) and *E. ruidum* (Roger). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 48: 1–16.

Wilson EO (1971) *The insect societies*. Belknap Press of Harvard University Press.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1: Total number of behaviours displayed by workers towards larvae in 30 minutes, and percentage changes related to the number in control phase. Each group contained 10 workers.

Odorant stimulus	Phase	Touch	Palpation	Care	Sample size
Well-fed larvae	Control	270 (100%)	104 (100%)	77 (100%)	14 groups
	Stimulus	264 (97.8%)	107 (102.9%)	76 (98.7%)	14 groups
Food-deprived larvae	Control	285 (100%)	118 (100%)	104 (100%)	15 groups
	Stimulus	327 (114.7%)	200 (169.5%)	93 (89.4%)	15 groups

Discussion

Les résultats obtenus au cours de cette thèse nous ont permis de donner un nouvel éclairage sur les relations larves-ouvrières chez les insectes eusociaux. Nous avons exploré et testé, chez la fourmi *Ectatomma tuberculatum*, si les mouvements des larves et leurs émissions de composés pouvaient être analysés comme des quémandes alimentaires et si ces quémandes pouvaient s'inscrire dans le cadre de la communication honnête entre jeunes et adultes pour le nourrissage. Cette dernière partie a pour but d'établir la synthèse des résultats obtenus, de présenter des éléments de réflexion soulevés par les données et également de discuter des perspectives ouvertes par ce travail.

A. Prédictions des modèles de quémandes honnêtes

Plusieurs systèmes de communication ont été sélectionnés grâce à l'avantage adaptatif procuré à l'émetteur et au récepteur d'un signal (Maynard Smith & Harper 2003, Théry & Heeb 2008). En particulier, la communication a été sélectionnée dans le cadre des relations jeunes-adultes pour les soins alimentaires. En effet, parents et jeunes ont des intérêts différents autour des apports alimentaires (Trivers 1974, Parker et al. 2002), mais ce conflit serait résolu lorsque les jeunes communiquent honnêtement leur besoin aux adultes (Godfray 1991, 1995b). Dans le cadre des modèles de sollicitation honnête, les quémandes reflètent les besoins des jeunes, ce qui permet aux parents de distribuer l'alimentation aux jeunes qui en ont le plus besoin (Godfray 1995a). Ce sont donc les parents qui contrôlent l'alimentation et qui optimisent leur fitness (Godfray & Johnstone 2000).

Les modèles de sollicitation honnête ont permis de formuler deux prédictions assez facilement testables (Kilner & Johnstone 1997). Premièrement, les parents nourriraient les jeunes en fonction de l'intensité des quémandes et, deuxièmement, l'intensité des quémandes serait corrélée au niveau de besoin du jeune (Godfray 1995b). Ces deux prédictions sont cohérentes avec de nombreuses données expérimentales, en particulier chez les oiseaux (Kilner & Johnstone 1997, Budden & Wright 2001) mais aussi chez les mammifères (Drake et al. 2007, Manser et al. 2008) ou encore chez les insectes, y compris chez certaines espèces eusociales, *Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, *Vespa orientalis*, *Gnamptogenys striatula*, *Myrmica rubra* etc (voir "Introduction" Tableau 1, Mas & Kölliker 2008).

Dans ce dernier cas des espèces eusociales, la forte intégration sociale des membres de la colonie est à l'origine de traits spécifiques. Ainsi, les larves dépendent de leurs sœurs qui sont des ouvrières stériles spécialisées dans une tâche (Le Masne 1953, Wilson 1971). De plus, les colonies, notamment de fourmis, sont souvent populeuses : les nombreuses larves

varient selon leur taille, stade larvaire, caste ou encore état, notamment nutritionnel (Hölldobler & Wilson 1990). Le besoin des larves diffère donc et les nombreuses ouvrières s'occupant des larves ne peuvent mémoriser le statut et l'état de chaque larve. Un signal émanant des larves et informant les ouvrières permettrait alors une optimisation de l'allocation des ressources coloniales par les ouvrières (Brian 1956, Seeley 1998, Mas & Kölliker 2008). Dans les sociétés de fourmis, nous pouvons alors nous attendre à l'existence d'une communication honnête sur les besoins des larves. Nous avons donc testé les deux hypothèses prédites par les modèles de sollicitation honnête chez la fourmi *E. tuberculatum*. Les larves de cette espèce pourraient en effet communiquer aux ouvrières leur besoin par des mouvements de la partie antérieure du corps (voir "Présentation du modèle") ou bien par des sollicitations de nature chimique (Daumas et al. 2012). Les mouvements utiliseraient quant à eux un canal tactile, puisque l'environnement sombre des nids ne permet *a priori* pas une communication visuelle. Nous avons dans un premier temps étudié les mouvements des larves avant de tester les possibles sollicitations de nature chimique.

Nous nous sommes donc focalisés, dans le chapitre 1, sur la période précédant la distribution d'un item alimentaire, avec l'objectif de tester les deux prédictions suivantes : (i) les larves qui effectuent davantage de mouvements obtiennent-elles l'item alimentaire ? (ii) les larves qui ont un besoin *a priori* supérieur effectuent-elles davantage de quémandes que les autres larves ? Nous avons alors observé que les larves qui effectuent davantage de mouvements de rotation (*swaying movements*) avant la distribution alimentaire obtiennent en effet l'item alimentaire (chapitre 1). Ce premier élément clé nous laissait donc penser que les mouvements des larves pourraient être des quémandes comme cela a été observé chez les deux autres espèces de fourmis testées, *M. rubra* (Creemers et al. 2003) et *G. striatula* (Kaptein et al. 2005). De plus, les mouvements de rotation observés dans notre espèce sont proches des mouvements de quémandes décrits dans une de ces deux espèces, *G. striatula*, qui appartient aussi aux Ectatomminae (Kaptein et al. 2005). Ce résultat renforcerait notre hypothèse selon laquelle les mouvements de rotation seraient des quémandes. Les mouvements larvaires pourraient donc varier en fonction du besoin des larves et nous avons en effet montré que les mouvements augmentent avec le stade de développement larvaire (chapitre 1). Les larves de stade plus avancé sont plus grandes (voir "Présentation du modèle") et elles auraient des besoins alimentaires plus importants que les larves des stades précédents (Franks & Sendova-Franks 1992). Les mouvements pourraient donc représenter un indice ou un signal de besoin qui change avec le stade larvaire.

Cependant, le deuxième résultat concernant le lien entre mouvements et besoin apporte une information différente. Nous avons fait varier l'état nutritionnel des larves en affamant la moitié des larves pendant plusieurs jours (chapitre 1). Les larves affamées et les larves

bien nourries ne diffèrent pas significativement quant à leurs mouvements alors que les individus affamés sont pourtant supposés avoir un besoin supérieur (Kölliker 2011). De plus, dans une autre expérience (chapitre 3), nous avons fait varier le besoin à long terme des larves, en utilisant des larves de gynes, qui doivent atteindre une taille supérieure et développer les organes reproducteurs et de vol. Nos résultats sembleraient indiquer que le besoin à long terme des larves n'est pas exprimé dans les mouvements larvaires, bien que l'hétérogénéité des individus testés ait pu biaiser le résultat (chapitre 3).

Ces résultats sont plutôt surprenants au regard des nombreuses études qui montrent un lien entre le niveau des quémandes et l'état nutritionnel, voire les besoins à long terme, dans de nombreux taxons, allant des oiseaux aux insectes (Price et al. 1996, Kilner & Johnstone 1997, Budden & Wright 2001, Mas & Kölliker 2008, Mock et al. 2011), y compris chez *G. striatula*, seule espèce de fourmi testée à notre connaissance dans ce contexte (Kaptein et al. 2005).

Pour mieux comprendre ce résultat, nous avons analysé en détails l'influence possible de plusieurs facteurs proximaux, tels que les interactions entre larves et ouvrières et la structure spatiale, sur les mouvements larvaires de notre espèce modèle en comparant avec les données existantes dans les autres espèces.

B. Les quémandes des larves de fourmi

Les résultats du chapitre 2 permettent de proposer de nouvelles pistes explicatives sur les mouvements larvaires. En effet, il apparaît que les mouvements des larves qui sont liés au nourrissage sont des mouvements qui suivent un contact fortuit avec une ouvrière. Les mouvements ne sont donc pas effectués spontanément par les larves. Les larves semblent au contraire réagir à la présence d'ouvrières par des mouvements. L'existence de mouvements consécutifs aux contacts avec les ouvrières n'est pas mentionnée dans l'espèce *G. striatula* (Kaptein et al. 2005), soit que ces mouvements consécutifs aux contacts soient rares, soit que les auteurs aient choisi de ne pas les différencier des autres mouvements. Chez *M. rubra*, le cas des mouvements consécutifs aux contacts fortuits n'est là aussi pas mentionné (Creemers et al. 2003). Cependant, grâce aux descriptions des comportements, nous supposons que, s'ils existent, ils sont classés avec les mouvements spontanés (et non avec les mouvements qui font suite à une stimulation des ouvrières *dirigée* vers la larve). Or les mouvements spontanés de ces larves sont en lien avec le nourrissage. Nos résultats du chapitre 2, montrant que les mouvements suivant un contact sont liés au nourrissage, sont cohérents avec les études sur *G. striatula* et *M. rubra*, tout en apportant une information complémentaire sur l'importance de l'activité des ouvrières.

Les contacts précédant les mouvements, s'ils ne sont pas mentionnés dans ces deux études, apparaissent cependant ponctuellement dans des descriptions de quémandes dirigées vers les ouvrières, en particulier pour des parasites sociaux des fourmis. On trouve ainsi cette description du comportement d'une larve de Staphylinidae, parasite social des fourmis du genre *Myrmica* ou *Formica*, "*As soon as they [beetle larvae] are touched by an ant, they rear upward and try to make contact with the ant's head*[1]" (Hölldobler 1978), ou encore celui de la chenille *Maculinea rebeli*, parasite social des fourmis du genre *Myrmica,* "*This behaviour [rearing-up with their heads protruded and their bodies arched back dorsally], which was usually triggered when an ant approached the head, often stimulated the ant to feed it*[2]" (Elmes et al. 1991). Néanmoins, ces mentions sont à peine assez précises pour affirmer qu'il s'agit bien de contacts fortuits des ouvrières (comme dans notre cas) et non de stimulations des ouvrières dirigées vers les larves et testant l'acceptation de la nourriture (comme dans le cas d'un test pré-nourrissage).

Les contacts fortuits des ouvrières ne répondent en effet pas à la définition du test pré-nourrissage (Le Masne 1953) puisque le contact de l'ouvrière est généralement non orienté vers la larve. Les mouvements larvaires suivant les contacts ne correspondent pas non plus exactement à la définition d'une communication émanant spontanément de la larve (Le Masne 1953, Brian 1956, Creemers et al. 2003) puisque celle-ci est précédée d'une stimulation extérieure. Pourtant, les mouvements larvaires résultant des contacts sont liés au nourrissage (chapitre 2). La fonction de ces contacts reste donc à examiner. Les contacts pourraient représenter des indices pour les larves, informant de la présence d'ouvrières et leur permettant d'ajuster leur niveau de mouvements. En dehors d'un contexte social et de la présence d'ouvrières, les larves effectuent en effet peu de mouvements (chapitre 1). Cependant, pour valider pleinement cette hypothèse que les contacts constitueraient des indices pour les larves, il conviendrait de tester la probabilité d'émission d'un mouvement suite à un contact, en fonction du besoin des larves.

L'intensité des mouvements des larves pourrait aussi être une conséquence du niveau d'activité des ouvrières (déplacements, auto-toilettage, soins aux larves...). Cette hypothèse pourrait être rapprochée des mécanismes d'interactions entre les ouvrières de *Leptothorax sp.* Chez cette espèce, une ouvrière qui s'active entre en contact avec une seconde ouvrière, qui s'active à son tour, entrainant une cascade d'activation des ouvrières (Franks et al. 1990, Cole 1991, Hatcher et al. 1992). Dans notre cas, les ouvrières pourraient être à l'origine de

[1] Dès que les larves de coléoptère sont touchées par une ouvrière, elles se redressent et tentent de toucher la tête de l'ouvrière. (Traduction : MS)

[2] Ce comportement [de redressement, tête ressortie et corps cambré dorsalement], habituellement déclenché quand une fourmi approchait de la tête, motivait souvent les fourmis à le nourrir. (Traduction : MS)

l'activation des larves. Nous avons par ailleurs observé de rares cas où les larves d'*E. tuberculatum* s'activent entre elles en se touchant lors de mouvements. Cette activation des larves entre elles semble bien plus fréquente dans au moins une autre espèce, *Myrmecia brevinoda* : les larves de cette espèce sont spatialement proches les unes des autres et on peut parfois observer une vague de mouvements progressant de larve en larve (N=1 colonie observée, données non publiées). Dans l'hypothèse où c'est l'activité des ouvrières qui induit les mouvements larvaires, le nourrissage des larves les plus en mouvements serait alors la conséquence de l'activité même des ouvrières. Dans ce cadre, on peut alors se demander si les mouvements larvaires possèdent encore une fonction de communication, signal ou même indice, pour des ouvrières. En effet, seuls les comportements ayant évolué pour leur fonction de communication peuvent être considérés comme un signal et donc comme une quémande alimentaire au sens strict (Maynard Smith & Harper 2003, Mock et al. 2011). Dans l'hypothèse où c'est l'activité des ouvrières qui induit les mouvements larvaires, la réponse semble difficile à formuler : les mouvements larvaires sont impliqués dans l'interaction larve-ouvrière précédant le nourrissage, mais leur fonction de communication vraie est discutable dans le cadre de cette hypothèse.

C. Organisation sociale et apport alimentaire

L'observation et la compréhension des interactions larve-ouvrière, si précises soient-elles, ne doivent toutefois pas nous faire oublier que les larves et les ouvrières sont au cœur d'une société qui possède une organisation bien particulière.

1. Organisation spatiale et distribution alimentaire

Chez les fourmis, le nid, mais aussi les larves au sein du nid, possèdent une structure spatiale particulière. Le nid est constitué de chambres ou de zones dédiées à une fonction, comme l'élevage du couvain ou les réserves alimentaires (Hölldobler & Wilson 1990). Les larves sont quant à elles souvent regroupées par taille voire distribuées selon un gradient de taille (Hölldobler & Wilson 1990). Chez *E. tuberculatum*, nos observations (voir "Présentation de l'espèce") suggèrent que les larves sont organisées de manière concentrique comme chez d'autres espèces (Hölldobler & Wilson 1990, Franks & Sendova-Franks 1992). Les larves les plus jeunes (et les œufs) sont situées au centre et les larves de développement de plus en plus avancé ont situées de plus en plus proches de la périphérie (à l'exception des larves proches de la nymphose qui sont séparées et placées avec les cocons dans une autre chambre du nid). De plus, l'organisation de l'activité des ouvrières est aussi liée à cette

organisation spatiale : les ouvrières sont spécialisées dans une tâche et sont ainsi liées à une zone du nid (Tofts & Franks 1992, Sendova-Franks & Franks 1994, Beshers & Fewell 2001). Cette organisation spatiale poussée des larves et des ouvrières contribuerait à l'efficacité de la réalisation de chaque tâche, les déplacements étant réduits et les individus répartis dans le nid (Seeley 1982, Beshers & Fewell 2001). Pour les tâches de nourrissage du couvain, des modélisations ont elles-aussi suggérées que la distribution serait optimisée par l'organisation concentrique des larves (Franks & Sendova-Franks 1992, Stickland & Franks 1994).

Les données expérimentales que nous avons obtenues sur cet aspect sont encourageantes mais restent préliminaires. Deux points ressortent de nos données (chapitre 2) :

(1) Les larves les plus proches de l'entrée du nid effectuent davantage de mouvements liés aux contacts des ouvrières.

(2) Les larves effectuant davantage de mouvements liés aux contacts avec les ouvrières sont nourries en priorité.

Ces résultats nous permettent de proposer une règle simple pour expliquer le mécanisme de la distribution alimentaire par une ouvrière. L'ouvrière aurait pour règle de nourrir la première larve trouvée qui n'est pas déjà en train de manger. L'ouvrière qui obtient un item alimentaire se dirige donc vers les larves et nourrit la première larve trouvée, c'est à dire une larve parmi les larves placées à la périphérie du couvain. Or ces larves sont aussi celles qui font le plus de mouvements, pour deux raisons. Premièrement, les larves les plus périphériques sont les larves de stade de développement avancé et ces dernières réalisent plus de mouvements (chapitre 1). Deuxièmement, ces larves périphériques seraient soumises à plus de contacts fortuits des ouvrières car l'activité des ouvrières serait maximale à la périphérie du couvain -ou bien à l'entrée du nid- (respectivement nid naturel ou nid artificiel, observations chez *Leptothorax tubero-interruptus*, Stickland & Franks 1994), et nous avons vu que les contacts sont corrélés aux mouvements (chapitre 2). Suivant notre règle simple de décision et en conséquence de l'organisation spatiale des larves et des ouvrières, l'ouvrière nourrirait donc en priorité une larve qui fait le plus de mouvements. Les mouvements seraient alors simplement une conséquence de cette organisation. Il convient de noter que les mouvements des larves pourraient avoir un effet mécanique sur la distribution, en empêchant la progression de la proie transportée vers l'intérieur du cercle, puisque les larves en mouvement sont redressées et peuvent agripper la proie avec les mandibules (observé en particulier chez *Myrmecia spp.*).

La règle "Nourrir la première larve trouvée qui n'est pas déjà en train de manger" n'est cependant pas suffisante dans l'hypothèse où les mouvements larvaires ne sont pas une

conséquence mais informent les ouvrières sur le besoin des larves. Il convient alors d'ajouter un nouvel élément à la règle qui deviendrait :

- Priorité 1 : Nourrir une larve qui effectue beaucoup de mouvements de quémande

- Priorité 2 (si 1 ne peut être accomplie) : Nourrir la première larve trouvée qui n'est pas déjà en train de manger.

Ces règles qui prennent en compte des mouvements larvaires comme des quémandes pourraient expliquer les résultats obtenus dans l'espèce *Gnamptogenys striatula* puisque les auteurs indiquent que les larves nourries sont celles qui effectuent le plus de mouvements ou qui sont plus proches de la nourriture (Kaptein et al. 2005).

Le processus de nourrissage des larves peut ensuite se poursuivre par répétition du même mécanisme. Si les larves les plus périphériques sont en train de consommer une proie, la proie suivante sera apportée jusqu'au cercle plus interne constitué de larves potentiellement plus petites. L'activité et le nourrissage par les ouvrières progresseraient ainsi vers le centre du couvain. Cependant, cette séquence de nourrissages reste à tester expérimentalement. En effet, nous avons fait le choix dans nos expériences de ne mettre à disposition des ouvrières qu'une seule proie et de mesurer le premier nourrissage (chapitres 1 à 3). La proie unique était supposée être une ressource importante pour les ouvrières, d'autant plus que ces mêmes ouvrières étaient affamées durant plusieurs jours avant les observations. Nous espérions donc que le premier choix des ouvrières en direction des larves serait optimisé afin de distribuer cette ressource à la larve qui en avait le plus besoin. Ce choix expérimental nous a permis de montrer un nourrissage prioritaire des larves de dernier stade face aux larves du stade précédent (chapitre 1). Une autre variable possible serait la mesure de tous les nourrissages dans une période donnée, comme l'ont fait d'autres auteurs (Cassill & Tschinkel 1995, Creemers et al. 2003, Kaptein et al. 2005). Cela présente l'avantage d'un plus grand nombre de données, mais les larves sont progressivement rassasiées au cours de l'expérience. Par ailleurs, chez *E. tuberculatum*, le délai avant le premier nourrissage et entre les nourrissages peut être important (plusieurs heures), ce qui ne facilite pas les mesures successives de nourrissages. Nous avons donc opté pour l'analyse de la première réaction des ouvrières en situation de nourrissage. Nos résultats ont permis de proposer un nouveau mécanisme de distribution des aliments. De futures études sur *E. tuberculatum* pourraient alors essayer d'observer les nourrissages sur une durée plus importante ou bien en fournissant de nombreuses proies aux ouvrières, afin de vérifier si les mécanismes que nous proposons se retrouvent lors des nourrissages suivants.

L'organisation séquentielle de la distribution alimentaire que nous proposons ici pourrait se placer dans le cadre théorique de l'auto-organisation (Bonabeau et al. 1997, Seeley 2002). Les ouvrières appliqueraient une règle simple, au niveau local, qui aboutirait au nourrissage de l'ensemble des larves de proche en proche. De plus, si les larves sont initialement organisées par taille de manière concentrique comme dans le cas de notre modèle, la distribution des proies progresserait depuis les larves de grande taille, dont le besoin est le plus grand, vers les larves de petite taille, dont le besoin est supposé plus faible (voir "Introduction"). L'organisation spatiale des larves et du nourrissage pourraient alors permettre une optimisation des ressources alimentaires en favorisant les larves qui en ont le plus besoin.

Cependant, l'organisation spatiale est influencée par d'autres facteurs sociaux que nous avons observés dans des expériences préliminaires. Ainsi, des résultats complémentaires aux données du chapitre 1 indiquent que les larves nourries n'étaient pas les plus proches de l'entrée du nid. Une des hypothèses qui pourrait expliquer ce résultat est que l'organisation spatiale des larves et/ou des ouvrières aurait pu être non stabilisée au moment de l'observation, malgré notre précaution d'une période d'habituation de plusieurs heures. Nous avons aussi observé un effet du nombre d'ouvrières comme noté dans d'autres espèces (Evesham 1985, Cassill & Tschinkel 1999, Fénéron et al. 2008, Ulrich et al. 2016). Dans notre cas, un effectif trop réduit semblerait modifier le répertoire comportemental et en particulier limiter le nourrissage des larves. Nous avons ensuite pris soin d'utiliser un effectif d'au moins huit ouvrières par groupe, effectif qui permet d'observer des soins et des nourrissages. De plus, nous avons mis en évidence que la présence d'ouvrières et le contexte social influençaient aussi les larves. Celles-ci effectuent bien moins de mouvements en l'absence d'ouvrières, en particulier lorsqu'elles sont affamées (chapitre 1). L'influence de l'organisation spatiale et ces remarques sur les facteurs sociaux (ratio et nombres de larves/ouvrières, interactions sociales) soulèvent une perspective : utiliser des effectifs d'ouvrières et de larves plus importants afin de tester si les mécanismes que nous proposons se vérifient encore et s'ils peuvent entrer dans le cadre de l'auto-organisation comme nous le proposons. Les observations dans les colonies populeuses sont donc séduisantes mais elles posent des défis techniques : le nombre d'interactions larves-ouvrières devient très important et les larves ne peuvent plus être suivies individuellement. En effet, le marquage des larves par encre de chine que nous avons utilisé est assez rapidement retiré par les ouvrières et nécessite un suivi vidéo individuel, ce qui est incompatible avec un grand nombre de larves. D'autres auteurs ont utilisé une alimentation colorée afin de repérer par transparence les larves dont l'appareil digestif est coloré (Cassill & Tschinkel 1995). Dans notre espèce, un seul colorant (bleu brillant FCF) s'est révélé efficace pour colorer le contenu

digestif foncé de nos larves mais ce marquage requiert une loupe binoculaire pour être vu (chapitre 1). De plus, nous avons effectué nos observations en lumière rouge et infrarouge pour limiter les perturbations des fourmis, mais ce choix limite l'utilisation des couleurs pour le marquage. L'observation de nombreuses larves et ouvrières devra donc prévoir un protocole qui ne nécessite pas de marquer les larves. Il pourrait s'agir par exemple de mesurer une probabilité de nourrissage en fonction de la localisation spatiale ou de la taille des larves.

2. Division du travail et approvisionnement alimentaire

La division du travail entre les ouvrières est un autre point clé de l'organisation sociale des fourmis : certaines ouvrières sont spécialisées dans les soins aux larves, les nourrices, tandis que les fourrageuses permettent l'approvisionnement alimentaire de la colonie (Hölldobler & Wilson 1990). Jusqu'à présent nos données ont porté sur la distribution alimentaire par les nourrices et nos résultats laissent supposer que les nourrices auraient peu d'indices pour évaluer les besoins alimentaires des larves par le biais des mouvements larvaires (chapitre 1 et 3). Cependant, la possibilité que les ouvrières évaluent les besoins des larves afin d'optimiser les ressources alimentaires de la colonie est théoriquement attendue et observée chez plusieurs autres espèces (Vowles 1955, Sorensen et al. 1985, Portha et al. 2002, Le Conte et al. 2006). Nous avons alors supposé que le canal chimique pourrait être utilisé par les larves. Cette hypothèse s'appuie sur des données obtenues avant cette thèse qui montrent que les ouvrières de *E. tuberculatum* sont capables de s'adapter au nombre de larves, voire au besoin des larves de la colonie (Fénéron et al. 2008, Daumas et al. 2012). Ces expériences ont testé l'ajout de larves surnuméraires dans le nid d'une part (Fénéron et al. 2008) et l'ajout d'une odeur de larves affamées d'autre part (Daumas et al. 2012). Les résultats montrent que les fourrageuses modifient leur comportement lorsque le nombre de larves dans le nid augmente ou lorsque une odeur de larves affamées est ajoutée : les ouvrières augmentent l'efficacité individuelle de leur fourragement, en multipliant les sorties et en réduisant la durée des sorties (Fénéron et al. 2008, Daumas et al. 2012). Ces comportements seraient déclenchés par un stimulus en provenance des larves, de nature chimique (Daumas et al. 2012).

Nous avons alors abordé dans le chapitre 4 cette hypothèse d'un stimulus chimique produit par les larves et variant en fonction de leur état d'affamement. Nous avons pour cela utilisé un protocole permettant de tester l'influence de l'odeur des larves selon leur statut nutritionnel, et non l'influence de larves ou d'odeur de larves surnuméraires, ce qui avait été testé auparavant dans notre espèce (Fénéron et al. 2008, Daumas et al. 2012) et dans

d'autres espèces (Portha et al. 2002, Dussutour & Simpson 2008, Ulrich et al. 2016). Nous montrons que les larves semblent en effet produire une odeur, volatile, qui change en fonction de leur état d'affamement, puisque le comportement des nourrices est modifié (chapitre 4). Dans cette expérience, les nourrices soumises à une odeur de larves affamées, mais dont les larves du nid sont nourries, augmentent les palpations dirigées vers les larves, explorant possiblement cette information contradictoire. Ce résultat serait la première preuve à notre connaissance de l'existence d'un composé chimique lié à l'état de faim chez les larves de fourmis. Il a été mis en évidence pour d'autres insectes eusociaux, le bourdon *Bombus terrestris* (Den Boer & Duchateau 2006) et l'abeille *Apis mellifera* (Huang & Otis 1991, Le Conte et al. 2006, Maisonnasse et al. 2009, He et al. 2016). Nous n'avons cependant pas pu identifier la nature du composé ou des composés liés à l'état nutritionnel des larves d'*E. tuberculatum*, malgré plusieurs analyses chimiques différentes.

Si cette odeur contribue à augmenter l'approvisionnement par les fourrageuses d'*E. tuberculatum*, alors elle s'inscrirait dans le cadre de la "*brood stimulation theory*" qui indique que les larves seraient à l'origine du déclenchement ou du maintien du fourragement (Vowles 1955, Schneirla 1958). Cet ajustement de l'approvisionnement préalablement induit par les larves est observé chez les fourmis *Solenopsis invita* (Sorensen et al. 1985) ou encore *Cerapachys biroi* (Ulrich et al. 2016) et chez l'abeille domestique (Huang & Otis 1991, Le Conte et al. 2006, Maisonnasse et al. 2009). Les facteurs proximaux en provenance des larves sont maintenant bien connus chez l'abeille domestique (phéromone de couvain et ocimene, voir "Introduction") mais le facteur proximal n'est pas identifié chez les fourmis à notre connaissance. Il a été supposé un facteur tactile et/ou chimique (Schneirla 1958) et les données obtenues chez *E. tuberculatum* ouvrent des perspectives en direction d'un facteur chimique comme modulateur du fourragement.

L'hypothèse d'un facteur chimique pourrait aussi expliquer nos résultats du chapitre 3. Dans cette expérience, les nourrices ont modifié l'apport alimentaire aux larves lorsque des larves de gynes sont présentes dans le nid. En particulier, les nourrices ont distribué plus rapidement l'aliment apporté par les fourrageuses, ce qui irait dans le sens d'un apport alimentaire important nécessaire au développement en gyne (Wheeler 1986). Nos résultats laissent supposer que les mouvements larvaires ne sont pas impliqués dans cette modification comportementale des ouvrières. Il pourrait s'agir d'un stimulus chimique, comme l'ont supposé Villalta et al. (2016) chez *Aphaenogaster senilis*. Cependant, dans l'attente d'autres expériences confirmant ou infirmant ces résultats, cette hypothèse liée aux résultats du chapitre 3 reste très spéculative étant donné le faible effectif testé et les biais possibles de notre expérience liés à l'inhomogénéité des groupes contenant des larves de gyne. La difficulté à contrôler artificiellement le déterminisme des larves femelles reste

en effet un défi. Cependant, le protocole que nous avons mis au point représente une avancée considérable. Nous sommes en effet parvenus à induire un bon taux de déterminisme en gyne, avec, en moyenne, environ une larve sur deux se déterminant en gyne, contre un taux plus faible en dehors de ce protocole[1]. Cette avancée pourrait encore être améliorée et permettre de tester des hypothèses complémentaires sur l'influence de l'odeur des larves de gynes sur le fourragement ou sur l'approvisionnement par les nourrices.

3. Communication multimodale

En considérant ici que les mouvements larvaires et les composés chimiques larvaires pourraient tous les deux informer les ouvrières, nous introduisons un système de communication multimodale dans les relations larves-ouvrières pour l'apport alimentaire (Partan & Marler 1999). Les signaux multiples (même canal sensoriel) ou multimodaux (différents canaux sensoriels) sont fréquemment décrits pour les quémandes alimentaires des oiseaux (Kilner 2002). A notre connaissance, les larves de l'abeille domestique seraient les seules larves d'insectes connues pour utiliser des signaux multiples, la phéromone de couvain et l'ocimene (Huang & Otis 1991, Le Conte et al. 2006, Mas & Kölliker 2008, Maisonnasse et al. 2009). Le système de communication multimodale que nous supposons chez *E. tuberculatum* (Figure 1) ouvre alors des perspectives intéressantes sur (i) l'identité des récepteurs parmi les ouvrières, en fonction de leur spécialisation pour une tâche, fourragement ou soin aux larves, et sur (ii) leur réponse.

Le composé chimique larvaire étant volatil, il pourrait être perçu par de nombreuses ouvrières dans le nid (chapitre 4). En particulier, il pourrait être perçu par les fourrageuses qui obtiendraient par ce biais une information globale sur l'état d'affamement et le besoin des larves (Fénéron et al. 2008, Daumas et al. 2012). En cas de besoin important des larves, ce stimulus pourrait donc déclencher une augmentation de l'efficacité du fourragement individuel (de proies notamment) et donc une augmentation de l'approvisionnement alimentaire (Figure 1).

Le composé chimique volatil pourrait aussi être perçu par les nourrices (chapitres 4), les informant ainsi de l'état des larves (voire de la caste ou des besoins à long terme, chapitre 3). En cas d'affamement et d'augmentation du besoin des larves, le stimulus pourrait déclencher chez les nourrices la recherche d'aliments disponibles et leur proposition aux

[1] D'après des données non publiées du chapitre 3, 2 larves sur 63 ont été identifiées comme gyne lors de l'élevage ayant suivi l'expérience, soit un taux minimum de 3 % de larves se déterminant en gyne dans ces conditions.

larves (Figure 1, chapitre 3). Cependant, la volatilité du stimulus empêcherait les ouvrières de discriminer individuellement les larves affamées des autres larves, ce qui semblerait cohérent avec les données du chapitre 1 où les larves les plus affamées n'étaient pas nourries en priorité. La situation chez *E. tuberculatum* diffèrerait donc de ce qui est observé chez *Solenopsis invicta* où les ouvrières distribuent individuellement les nourrissages, par trophallaxie, en fonction de l'état d'affamement de chaque larve (Cassill & Tschinkel 1995).

En plus de la communication chimique, les mouvements des larves seraient perçus tactilement par les ouvrières au contact des larves, c'est-à-dire principalement les nourrices dans les colonies nombreuses (chapitres 1 et 2). Les nourrices pourraient alors distribuer la nourriture en priorité aux larves effectuant le plus de mouvements (les larves de stade de développement plus avancé) ou aux larves les plus proches, comme nous l'avons supposé précédemment (Figure 1, chapitre 1 et 2).

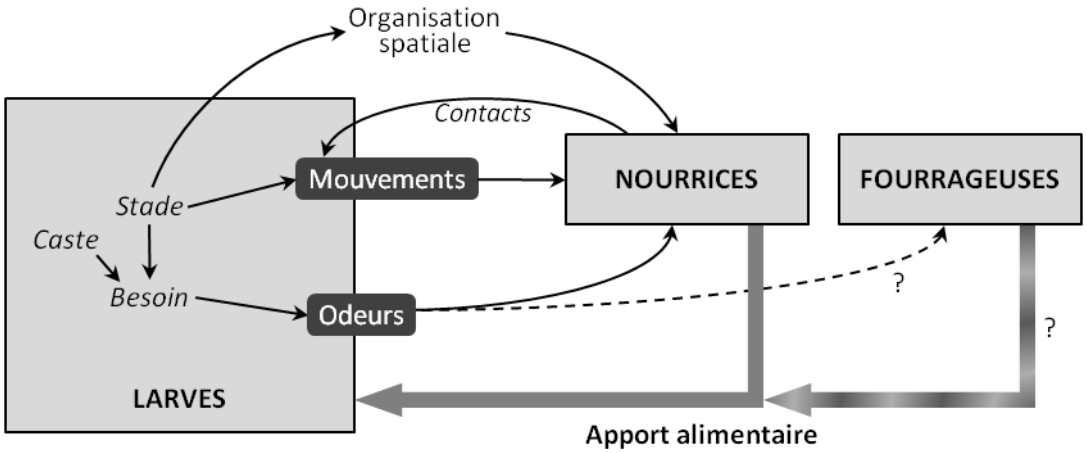


Figure 1 : Mécanismes proximaux en jeu au moment du nourrissage des larves chez *E. tuberculatum*.

Les différents canaux de communication auraient donc des récepteurs potentiellement différents parmi les ouvrières de la colonie et porteraient des informations complémentaires. L'information pour les fourrageuses par le canal chimique et pour les nourrices par le canal tactile aboutirait à des réponses indépendantes, fourragement d'une part et nourrissage des larves d'autre part. Si on considère la réception par les nourrices d'information par les canaux tactiles et chimiques simultanément, l'information pourrait cette fois être redondante et possiblement renforcer la réponse de nourrissage par les nourrices (Partan & Marler 1999).

Pour tester ces hypothèses concernant l'action sur les nourrices et fourrageuses, il conviendrait de comparer l'effet séparé et l'effet simultané des composés odorants et des comportements larvaires. Manipuler les composés odorants est techniquement réalisable, mais manipuler les comportements larvaires s'avère difficile (Mas & Kölliker 2008). On pourrait cependant penser à des procédés d'anesthésie ou au contraire de stimulation par des hormones ou des principes actifs (Crook et al. 2008, Smiseth et al. 2011). En particulier, l'application topique d'hormone juvénile, qui n'a malheureusement pas pu être testée au cours de cette thèse, serait une perspective intéressante. L'hormone juvénile est impliquée dans la détermination des castes chez les insectes eusociaux dont les fourmis (Wheeler et al. 2006, Penick et al. 2012, Montagna et al. 2015) et est connue pour augmenter le niveau de quémandes des jeunes dans une espèce de nécrophore (Crook et al. 2008). Son utilisation semble alors particulièrement adaptée pour tester les effets des quémandes larvaires sur les ouvrières. Ces expériences tentant de séparer l'effet des odeurs et des comportements pourraient aussi révéler que odeurs et mouvements sont physiquement liés : les mouvements pourraient permettre la libération des odeurs. En plus de cette fonction liée à la communication chimique, les mouvements pourraient avoir ou non une fonction de communication tactile, ces deux possibilités restant possibles.

Finalement, un système de communication multimodale permettrait aux ouvrières (i) d'avoir une information sur les besoins larvaires, permettant d'ajuster l'approvisionnement, et (ii) de distribuer l'alimentation aux larves, en fonction de leur stade de développement et donc partiellement en fonction de leur besoin (Figure 1). Ce seraient donc les deux modalités de communication qui contribueraient à l'optimisation des ressources alimentaires de la colonie.

D. Conflit ou coopération ? Quelques perspectives

Les relations sociales particulières des fourmis rendent possible l'exploration d'autres hypothèses, sur des conflits potentiels ou sur une coopération entre les larves.

1. Conflits, compétition

Les mouvements larvaires pourraient être modifiés en fonction de différents conflits, conflit entre larves et ouvrières et conflit entre les larves. Ces conflits sont toutefois supposé faibles dans les colonies de fourmis, en particulier lors de l'élevage des larves d'ouvrières. En effet, larves et ouvrières partagent un intérêt commun, celui de développer leur fitness indirecte

par le biais d'un développement de la colonie et d'éviter une tragédie des biens communs (Rauter & Moore 1999, Ratnieks et al. 2006). Le conflit entre ouvrières et larves totipotentes pourrait cependant exister en particulier au moment des périodes critiques pour la détermination des castes : tant que la colonie n'a pas atteint une taille suffisante, les ouvrières ont comme optimum un développement d'un grand nombre de larves en ouvrières plutôt qu'en individus reproducteurs tandis que les larves pourraient avoir une meilleure fitness en orientant leur développement en gyne (Bourke & Ratnieks 1999, Ratnieks et al. 2006). L'expression de ces conflits semble toutefois limitée chez *E. tuberculatum* par le fait que ce sont les ouvrières qui contrôlent d'alimentation et que la compétition directe entre les larves est contrainte par leur répartition spatiale et par leurs mouvements relativement réduits. Cependant, en fonction des espèces et de leurs traits d'histoire de vie, les larves pourraient entrer en compétition ou tenter de contrôler leur alimentation par cannibalisme ou en contrôlant physiquement les proies avec les mandibules afin d'éviter que les ouvrières ne les retirent. Les larves de *Myrmecia brevinoda* ont en effet été observées plusieurs fois dans cette situation où elles semblaient retenir une proie face à une ouvrière (observation personnelle). Cette situation est favorisée, dans cette espèce et possiblement dans d'autres, par un important polymorphisme de taille des ouvrières puisque certaines larves sont plus grosses que les ouvrières qui les nourrissent (observation personnelle). Cependant, chez *E. tuberculatum*, ces éléments ne semblent pas prépondérants et ne sembleraient pas pouvoir expliquer nos résultats. L'importance et l'influence de la compétition dans d'autres espèces comme *M. brevinoda* mériteraient toutefois d'être testées. Enfin, la possibilité d'une communication malhonnête par les larves pourrait être envisageable mais elle ne se maintiendrait évolutivement que si elle reste peu fréquente (Théry & Heeb 2008, Ruxton & Schaefer 2011).

2. Coopération

L'étude de la coopération entre les jeunes animaux est peu fréquente et les cas de coopération sont rarement mentionnés (Roulin & Dreiss 2012). De plus, la coopération entre jeunes est souvent analysée du point de vue d'une manipulation des adultes pour obtenir plus de nourriture (Wilson & Clark 2002, Johnstone 2004). Nous proposons cependant ici, un effet collectif ou une coopération entre les jeunes qui n'implique pas forcément un conflit et pourrait simplement correspondre à l'existence d'un seuil élevé de déclenchement des apports alimentaires (Hudson & Trillmich 2008). Le stimulus produit par une seule larve pourrait en effet ne pas être suffisant pour déclencher l'apport alimentaire, le stimulus produit par plusieurs larves pourrait être nécessaire (Hudson & Trillmich 2008). Le stimulus

nécessaire pour déclencher le fourragement pourrait être une certaine quantité ou concentration de composés volatils. Au niveau tactile, plusieurs larves effectuant des mouvements larvaires pourraient être nécessaires pour déclencher l'approvisionnement alimentaire. Ces propositions sur le niveau de stimulus à atteindre sont à rapprocher des hypothèses sur le niveau de tétée nécessaire pour maintenir la lactation chez les mammifères ou le niveau de quémande nécessaire pour maintenir les apports alimentaires des oiseaux (Hudson & Trillmich 2008). Le niveau de stimulus nécessaire pour le déclenchement pourrait être atteint de manière fortuite ou par synchronisation des larves (comme dans le cas précédemment mentionné des vagues de mouvements larvaires chez *Myrmecia brevinoda*). Grâce à cette condition d'un stimulus collectif pour le déclenchement du nourrissage, une coopération entre les larves pourrait avoir été sélectionnée. Dans le cas d'une coopération, l'intensité du signal d'une larve pourrait ne plus refléter son niveau de besoin : signaler pour les autres pourrait être adaptatif puisque les larves partagent un intérêt commun pour le développement colonial (Ratnieks et al. 2006, Roulin & Dreiss 2012). L'hypothèse d'un effet larvaire collectif est aussi favorisée par l'existence de nourrissages collectifs des larves sur une proie (observations personnelles et chapitre 3). La proie pourrait être déposée à proximité des larves qui effectuent le plus de mouvements, même si toutes les larves du groupe n'effectuent pas de mouvements. Toutes les larves de ce groupe, celles qui ont effectué des mouvements mais aussi les autres, bénéficieraient d'un nourrissage collectif sur la proie. Dans l'éventualité où une telle coopération entre larves existerait dans notre espèce de fourmi, cela pourrait expliquer l'absence de corrélation entre mouvements et besoin observée dans le chapitre 1. Cette hypothèse originale ouvre des perspectives pour appréhender par la coopération les relations jeunes-adultes.

E. Conclusion

Au cours de cette thèse, nous avons cherché à tester empiriquement les prédictions de la communication honnête en l'appliquant à la fourmi *E. tuberculatum*. Nos résultats ne sont pas en parfait accord avec les prédictions et nous avons proposé d'ajouter des hypothèses ou des modèles alternatifs pour expliquer au mieux nos observations. En particulier, nous avons proposé d'intégrer des processus auto-organisés, de prendre en compte la division du travail et une communication multimodale. Ces propositions pourraient contribuer à l'interprétation des données chez les insectes eusociaux, mais aussi chez les vertébrés. En effet, plusieurs auteurs soulignent que les résultats des expériences montrent une réalité des relations jeunes-adultes plus complexe que les prédictions des modèles actuels (Godfray

& Johnstone 2000, Johnstone & Kilner 2011). L'apport de nos résultats pourrait ainsi contribuer à faire émerger de nouvelles interprétations et de nouveaux modèles.

Enfin, les multiples interprétations et perspectives offertes par nos données, communication, coopération, auto-organisation ou organisation spatiale, montrent que l'étude des relations jeunes-adultes chez les fourmis n'a pas révélé tous ses secrets et mérite d'être poursuivie.

Bibliographie

Abbot P, Abe J, Alcock J, Alizon S, Alpedrinha JAC, Andersson M et al. (2011) Inclusive fitness theory and eusociality. *Nature* 471: E1–E4.

Agbogba C (1986) Observations sur le nourrissage des larves chez deux espèces d'*Aphaenogaster* (Hymenoptera Formicidae). *Insectes Sociaux* 33: 217–220.

Agbogba C (1991) Observations sur les signaux préparatoires à l'alimentation des larves chez la fourmi ponérine *Pachycondyla caffraria* (Smith). *Insectes Sociaux* 38: 439–442.

Akino T, Knapp JJ, Thomas JA, Elmes GW (1999) Chemical mimicry and host specificity in the butterfly *Maculinea rebeli*, a social parasite of *Myrmica* ant colonies. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 266: 1419–1426.

Al Diri I (2004) Characterization of the brood cuticular hydrocarbons of the fire ant *Solenopsis invicta* and their possible role in brood recognition by workers. Thesis, Texas Tech University, USA.

Alexander RD (1974) The evolution of social behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5: 325–383.

Anderson KE, Linksvayer TA, Smith CR (2008) The causes and consequences of genetic caste determination in ants (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 11: 119–132.

Ayala RM de, Saino N, Møller AP, Anselmi C (2007) Mouth coloration of nestlings covaries with offspring quality and influences parental feeding behavior. *Behavioral Ecology* 18: 526–534.

Baratte S, Cobb M, Deutsch J, Peeters C (2005) Morphological variations in the pre-imaginal development of the ponerine ant *Diacamma ceylonense*. *Acta Zoologica* 86: 25–31.

Beekman M, Ratnieks FLW (2003) Power over reproduction in social Hymenoptera. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 358: 1741–1753.

Bergstrom CT, Lachmann M (1998) Signaling among relatives. III. Talk is cheap. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 5100–5105.

Beshers SN, Fewell JH (2001) Models of division of labor in social insects. *Annual Review of Entomology* 46: 413–440.

Beshers SN, Robinson GE, Mittenthal JE (1999) Response thresholds and division of labor in insect colonies. In: Detrain DC, Deneubourg DJL, Pasteels PDJM (eds) *Information Processing in Social Insects*, 115–139. Birkhäuser Basel.

Biernaskie JM, Grafen A, Perry JC (2014) The evolution of index signals to avoid the cost of dishonesty. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 281: 20140876.

Bolton B (2003) Synopsis and classification of Formicidae. *Memoirs of American Entomological Institute* 71: 1–370.

Bonabeau E, Theraulaz G, Deneubourg J-L, Aron S, Camazine S (1997) Self-organization in social insects. *Trends in Ecology & Evolution* 12: 188–193.

Bonavita-Cougourdan A, Passera L (1978) Étude comparative au moyen d'or radio-actif de l'alimentation des larves d'ouvrières et des larves de reine chez la fourmi *Plagiolepis pygmaea* Latr. *Insectes Sociaux* 25: 275–287.

Boomsma JJ (2009) Lifetime monogamy and the evolution of eusociality. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 364: 3191–3207.

Boomsma JJ, Beekman M, Cornwallis CK, Griffin AS, Holman L, Hughes WOH, Keller L, Oldroyd BP, Ratnieks FLW (2011) Only full-sibling families evolved eusociality. *Nature* 471: E4–E5.

Boomsma JJ, Franks NR (2006) Social insects: from selfish genes to self organisation and beyond. *Trends in Ecology & Evolution* 21: 303–308.

Boulay R, Cerdá X, Fertin A, Ichinose K, Lenoir A (2009) Brood development into sexual females depends on the presence of a queen but not on temperature in an ant dispersing by colony fission, *Aphaenogaster senilis*. *Ecological Entomology* 34: 595–602.

Bourke AFG (2011) The validity and value of inclusive fitness theory. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 278: 3313–3320.

Bourke AFG (2014) Hamilton's rule and the causes of social evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 369: 20130362.

Bourke AFG, Ratnieks FLW (1999) Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 46: 287–297.

Bradbury JW, Vehrencamp SL (2000) Economic models of animal communication. *Animal Behaviour* 59: 259–268.

Bradbury JW, Vehrencamp SL (2011a) *Principles of animal communication*, 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass.

Bradbury JW, Vehrencamp SL (2011b) Handicap controversies. *Principles of animal communication*, Web Topic 10.6. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass.

Bradbury JW, Vehrencamp SL (2011c) An overview of begging models. *Principles of animal communication*, Web Topic 13.4. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass.

Brian MV (1956) Group form and causes of working inefficiency in the ant *Myrmica rubra* L. *Physiological Zoology* 29: 173–194.

Brian MV (1970) Communication between queens and larvae in the ant *Myrmica*. *Animal Behaviour* 18: 467–472.

Brian MV, Abbott A (1977) The control of food flow in a society of the ant *Myrmica rubra* L. *Animal Behaviour* 25: 1047–1055.

Brilot BO, Johnstone RA (2002) Cost, competition and information in communication between relatives. *Journal of Theoretical Biology* 217: 331–340.

Brilot BO, Johnstone RA (2003) The limits to cost-free signalling of need between relatives. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 270: 1055–1060.

Bro-Jørgensen J (2010) Dynamics of multiple signalling systems: animal communication in a world in flux. *Trends in Ecology & Evolution* 25: 292–300.

Broom M, Ruxton GD (2013) On the evolutionary stability of zero-cost pooled-equilibrium signals. *Journal of Theoretical Biology* 323: 69–75.

Budden AE, Wright J (2001) Begging in nestling birds. In: Nolan V, Thompson CF (eds) *Current Ornithology*, 83–118. Kluwer/Plenum, New York.

Burford J, Friedrich T, Yasukawa K (1998) Response to playback of nestling begging in the red-winged blackbird, *Agelaius phoeniceus*. *Animal Behaviour* 56: 555–561.

Buschinger A, Schaefer M (2006) Larval nourishment in *Leptothorax acervorum* (Fabricius, 1793)(Hymenoptera: Formicidae), with description of a larval mensarium as a trophophoretic structure for the handling of food particles. *Myrmecological News* 9: 35–41.

Candolin U (2003) The use of multiple cues in mate choice. *Biological Reviews* 78: 575–595.

Carlin NF (1988) Species, kin and other forms of recognition in the brood discrimination behaviour of ants. In: Trager JC (ed) *Advances in Myrmecology*, 267–295. Brill, Leiden.

Caro SM, Griffin AS, Hinde CA, West SA (2016) Unpredictable environments lead to the evolution of parental neglect in birds. *Nature Communications* 7: 1–10.

Cassill DL, Stuy A, Buck RG (1998) Emergent properties of food distribution among fire ant larvae. *Journal of Theoretical Biology* 195: 371–381.

Cassill DL, Tschinkel WR (1995) Allocation of liquid food to larvae via trophallaxis in colonies of the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Animal Behaviour* 50: 801–813.

Cassill DL, Tschinkel WR (1996) A duration constant for worker-to-larva trophallaxis in fire ants. *Insectes Sociaux* 43: 149–166.

Cassill DL, Tschinkel WR (1999a) Effects of colony-level attributes on larval feeding in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Insectes Sociaux* 46: 261–266.

Cassill DL, Tschinkel WR (1999b) Regulation of diet in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Journal of Insect Behavior* 12: 307–328.

Chéron B, Doums C, Fédérici P, Monnin T (2009) Queen replacement in the monogynous ant *Aphaenogaster senilis*: supernumerary queens as life insurance. *Animal Behaviour* 78: 1317–1325.

Clark AB (2002) Appetite and the subjectivity of nestling hunger. In: Wright J, Leonard ML (eds) *The evolution of begging: competition, cooperation and communication*, 173–198. Springer Netherlands.

Cole BJ (1991) Short-term activity cycles in ants: generation of periodicity by worker interaction. *The American Naturalist* 137: 244–259.

Cook OF (1905) The social organization and breeding habits of the cotton-protecting kelep of Guatemala. *U.S. Department of Agriculture, Bureau of Entomology, Technical Series* 10.

Cook JM, Crozier RH (1995) Sex determination and population biology in the Hymenoptera. *Trends in Ecology & Evolution* 10: 281–286.

Costa JT (2013) Hamiltonian inclusive fitness: a fitter fitness concept. *Biology Letters* 9: 20130335.

Creemers B, Billen J, Gobin B (2003) Larval begging behaviour in the ant *Myrmica rubra*. *Ethology Ecology & Evolution* 15: 261–272.

Crespi BJ, Yanega D (1995) The definition of eusociality. *Behavioral Ecology* 6: 109–115.

Crook TC, Flatt T, Smiseth PT (2008) Hormonal modulation of larval begging and growth in the burying beetle *Nicrophorus vespilloides*. *Animal Behaviour* 75: 71–77.

Darwin C (1872) *The Origin Of Species*.

Daumas A, Fénéron R, Gheusi G, Savarit F (2012) Behavioural interactions between larvae and workers in ants: the role of larval odours in stress situation. *European Congress of the International Union for the Study of Social Insects*, Montecatini (Italie).

De Carli P, Pavan G, Priano M, Lachaud J-P, Fanfani A, Giovannotti M (1996) Analyse comparative des stridulations émises par 4 espèces de fourmis ponérines (Hymenoptera, Formicidae). *Actes Coll Insectes sociaux* 10: 125–131.

De Jesus CM, Fox EGP, Solis DR, Yabuki AT, Rossi ML, Bueno OC (2010) Description of the larvae of *Tapinoma melanocephalum* (Hymenoptera: Formicidae). *Florida Entomologist* 93: 243–247.

Dejean A, Lachaud J-P (1992) Growth-related changes in predation behavior in incipient colonies of the ponerine antEctatomma tuberculatum (Olivier). *Insectes Sociaux* 39: 129–143.

Den Boer SPA, Duchateau MJHM (2006) A larval hunger signal in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Insectes Sociaux* 53: 369–373.

Deneubourg J-L, Goss S (1989) Collective patterns and decision-making. *Ethology Ecology & Evolution* 1: 295–311.

Deneubourg J-L, Goss S, Franks NR, Sendova-Franks AB, Detrain C, Chrétien L (1990) The dynamics of collective sorting robot-like ants and ant-like robots. In: Wilson SW, Meyer J-A (eds) *From animals to animats*, 356–365. MIT Press, Paris.

Detrain C, Deneubourg J-L (2006) Self-organized structures in a superorganism: do ants "behave" like molecules? *Physics of Life Reviews* 3: 162–187.

D'Ettorre P, Lenoir A (2010) Nestmate recognition. In: Lori Lach, Catherine L. Parr KLA (ed) *Ant Ecology*, 194–209. Oxford University Press.

Drake A, Fraser D, Weary DM (2007) Parent–offspring resource allocation in domestic pigs. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62: 309–319.

Dussutour A, Simpson SJ (2008) Carbohydrate regulation in relation to colony growth in ants. *Journal of Experimental Biology* 211: 2224–2232.

Eggert A-K, Reinking M, Müller JK (1998) Parental care improves offspring survival and growth in burying beetles. *Animal Behaviour* 55: 97–107.

Elmes GW, Thomas JA, Wardlaw JC (1991) Larvae of *Maculinea rebeli*, a large-blue butterfly, and their *Myrmica* host ants: wild adoption and behaviour in ant-nests. *Journal of Zoology* 223: 447–460.

Endler JA (1992) Signals, signal conditions, and the direction of evolution. *The American Naturalist* 139: S125–S153.

Evesham EJM (1985) The interaction of food distribution and the caste composition of an ant colony (*Myrmica rubra* L.). *Journal of Zoology* 207: 241–250.

Febvay G, Mallet F, Kermarrec A (1984) Attractivité du couvain et comportement des ouvrières de la fourmi attine *Acromyrmex octospinosus*. *Actes Coll Insectes sociaux* 1: 79–86.

Feitosa RM, Hora RR, Delabie JHC, Valenzuela J, Fresneau D (2008) A new social parasite in the ant genus *Ectatomma* F. Smith (Hymenoptera, Formicidae, Ectatomminae). *Zootaxa* 1713: 47–52.

Fénéron R, Billen J (1996) Ovarian cycle in *Ectatomma tuberculatum* workers (Formicidae, Ponerinae). *Invertebrate Reproduction & Development* 29: 79–85.

Fénéron R, Durand J-L, Jaisson P (1996) Relation between behaviour and physiological maturation in a ponerine ant. *Behaviour* 133: 791–806.

Fénéron R, Jaisson P (1992) Nestmate-brood recognition among workers of different social status in *Ectatomma tuberculatum* Olivier (Formicidae, Ponerinae). *Behavioural Processes* 27: 45–51.

Fénéron R, Jaisson P (1995) Ontogeny of nestmate brood recognition in a primitive ant, *Ectatomma tubercalutum* Olivier (Ponerinae). *Animal Behaviour* 50: 9–14.

Fénéron R, Malherbe M-C, Fourcassié V, Chameron S (2008) How individual foraging behaviour is affected by social environment in ants. *XX International Congress of Zoology*, Paris (France).

Fénéron R, Poteaux C, Boilève M, Valenzuela J, Savarit F (2013) Discrimination of the social parasite *Ectatomma parasiticum* by its host sibling species (*E. tuberculatum*). *Psyche: A Journal of Entomology* 2013: 1–11.

Foster KR, Wenseleers T, Ratnieks FLW (2006) Kin selection is the key to altruism. *Trends in Ecology & Evolution* 21: 57–60.

Fouks B, d'Ettorre P, Nehring V (2011) Brood adoption in the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinatior*: adaptation or recognition noise? *Insectes Sociaux* 58: 479–485.

Fox EGP, Paterson A, Solis DR, Rossi ML, Lanzoni N, Delabie JHC, de Souza RF, Bueno OC (2011) Comparative immature morphology of Brazilian fire ants (Hymenoptera: Formicidae: *Solenopsis*). *Psyche: A Journal of Entomology* 2012: E183284.

Franks NR, Bryant S, Griffiths R, Hemerik L (1990) Synchronization of the behaviour within nests of the ant *Leptothorax acervorum* (Fabricius)—I. Discovering the phenomenon and its relation to the level of starvation. *Bulletin of Mathematical Biology* 52: 597–612.

Franks NR, Sendova-Franks AB (1992) Brood sorting by ants: distributing the workload over the work-surface. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30: 109–123.

Fresneau D (1985) Individual foraging and path fidelity in a ponerine ant. *Insectes Sociaux* 32: 109–116.

Fresneau D (1994) Biologie et comportement social d'une fourmi ponérine néotropicale (*Pachycondyla apicalis*). Thèse, Université Paris 13, Villetaneuse, France.

Fresneau D, Corbara B, Lachaud JP (1989) Organisation sociale et structuration spatiale autour du couvain chez *Pachycondyla apicalis* (Formicidae, Ponerinae). *Actes Coll Insectes sociaux* 5: 83–92.

Glassey B, Forbes S (2002) Begging and asymmetric nestling competition. In: Wright J, Leonard ML (eds) *The evolution of begging: competition, cooperation and communication*, 269–281. Springer Netherlands.

Godfray HCJ (1991) Signalling of need by offspring to their parents. *Nature* 352: 328–330.

Godfray HCJ (1995a) Signaling of need between parents and young: parent-offspring conflict and sibling rivalry. *The American Naturalist* 146: 1–24.

Godfray HCJ (1995b) Evolutionary theory of parent-offspring conflict. *Nature* 376: 133–138.

Godfray HCJ, Johnstone RA (2000) Begging and bleating: the evolution of parent–offspring signalling. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 355: 1581–1591.

Goldsby HJ, Serra N, Dyer F, Kerr B, Ofria C (2012) The evolution of temporal polyethism. *Artificial Life* 13: 178–185.

Grafen A (1990) Biological signals as handicaps. *Journal of Theoretical Biology* 144: 517–546.

Grose J (2011) Modelling and the fall and rise of the handicap principle. *Biology & Philosophy* 26: 677–696.

Guilford T, Dawkins MS (1991) Receiver psychology and the evolution of animal signals. *Animal Behaviour* 42: 1–14.

Hamilton WD (1964) The genetical evolution of social behaviour. *Journal of Theoretical Biology* 7: 1–52.

Hammond RL, Bruford MW, Bourke AFG (2002) Ant workers selfishly bias sex ratios by manipulating female development. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 269: 173–178.

Hardin G (1968) The tragedy of the commons. *Science* 162: 1243–1248.

Hare JF (1996) Discrimination of nestmate larvae by the ant *Leptothorax longispinosus*. *Canadian journal of zoology* 74: 2055–2061.

Haskell D (1999) The effect of predation on begging-call evolution in nestling wood warblers. *Animal Behaviour* 57: 893–901.

Hatcher MJ, Tofts C, Franks NR (1992) Mutual exclusion as a mechanism for information exchange within ant nests. *Naturwissenschaften* 79: 32–34.

He XJ, Zhang XC, Jiang WJ, Barron AB, Zhang JH, Zeng ZJ (2016) Starving honey bee (*Apis mellifera*) larvae signal pheromonally to worker bees. *Scientific Reports* 6: 1–9.

Heinze J, Hölldobler B, Peeters C (1994) Conflict and cooperation in ant societies. *Naturwissenschaften* 81: 489–497.

Helms KR, Fewell JH, Rissing SW (2000) Sex ratio determination by queens and workers in the ant *Pheidole desertorum*. *Animal Behaviour* 59: 523–527.

Higham JP (2014) How does honest costly signaling work? *Behavioral Ecology* 25: 8–11.

Hinde CA (2006) Negotiation over offspring care?—a positive response to partner-provisioning rate in great tits. *Behavioral Ecology* 17: 6–12.

Hinde CA, Godfray HCJ (2011) Quality, need, or hunger; begging the question. *Behavioral Ecology* 22: 1147–1148.

Hölldobler B (1978) Ethological aspects of chemical communication in ants. *Advances in the Study of Behavior* 8: 75–115.

Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge.

Hora RR, Doums C, Poteaux C, Fénéron R, Valenzuela J, Heinze J, Fresneau D (2005a) Small queens in the ant *Ectatomma tuberculatum*: a new case of social parasitism. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59: 285–292.

Hora RR, Ionescu-Hirsh A, Simon T, Delabie J, Robert J, Fresneau D, Hefetz A (2008) Postmating changes in cuticular chemistry and visual appearance in *Ectatomma tuberculatum* queens (Formicidae: Ectatomminae). *Naturwissenschaften* 95: 55–60.

Hora RR, Vilela E, Fénéron R, Pezon A, Fresneau D, Delabie J (2005b) Facultative polygyny in *Ectatomma tuberculatum* (Formicidae, Ectatomminae). *Insectes Sociaux* 52: 194–200.

Hothorn T, Hornik K, Wiel MA van de, Zeileis A (2008) Implementing a class of permutation tests: the coin package. *Journal of Statistical Software* 28: 1–23.

Huang Z-Y, Otis GW (1991a) Nonrandom visitation of brood cells by worker honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Behavior* 4: 177–184.

Huang Z-Y, Otis GW (1991b) Inspection and feeding of larvae by worker honey bees (Hymenoptera: Apidae): Effect of starvation and food quantity. *Journal of Insect Behavior* 4: 305–317.

Hudson R, Trillmich F (2008) Sibling competition and cooperation in mammals: challenges, developments and prospects. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62: 299–307.

Hurd PL (1995) Communication in discrete action-response games. *Journal of Theoretical Biology* 174: 217–222.

Iacovides S, Evans R (1998) Begging as graded signals of need for food in young ring-billed gulls. *Animal Behaviour* 56: 79–85.

Ibarra-Núñez N, Garcia JA, Lopez JA, Lachaud JP (2001) Prey analysis in the diet of some ponerine ants (Hymenoptera: Formicidae) and web-building spiders (Araneae) in coffee plantations in Chiapas, México. *Sociobiology* 37: 723–755.

Ishay J, Landau EM (1972) Vespa larvae send out rhythmic hunger signals. *Nature* 237: 286–287.

Ishay J, Motro A, Gitter S, Brown MB (1974) Rhythms in acoustical communication by the oriental hornet, *Vespa orientalis*. *Animal Behaviour* 22: 741–744.

Jacob S, Rieucau G, Heeb P (2011) Multimodal begging signals reflect independent indices of nestling condition in European starlings. *Behavioral Ecology* 22: 1249–1255.

Johnstone RA (1996) Multiple displays in animal communication:`backup signals' and `multiple messages'. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 351: 329–338.

Johnstone RA (1999) Signaling of need, sibling competition, and the cost of honesty. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96: 12644–12649.

Johnstone RA (2004) Begging and sibling competition: how should offspring respond to their rivals? *The American Naturalist* 163: 388–406.

Johnstone RA, Hinde CA (2006) Negotiation over offspring care—how should parents respond to each other's efforts? *Behavioral Ecology* 17: 818–827.

Johnstone RA, Kilner RM (2011) New labels for old whines. *Behavioral Ecology* 22: 918–919.

Johnstone RA, Roulin A (2003) Sibling negotiation. *Behavioral Ecology* 14: 780–786.

Kaptein N, Billen J, Gobin B (2005) Larval begging for food enhances reproductive options in the ponerine ant *Gnamptogenys striatula*. *Animal Behaviour* 69: 293–299.

Kawatsu K (2013) Effect of nutritional condition on larval food requisition behavior in a subterranean termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Ethology* 31: 17–22.

Kilner RM (2001) A growth cost of begging in captive canary chicks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98: 11394–11398.

Kilner RM (2002) The evolution of complex begging displays. In: Wright J, Leonard ML (eds) *The evolution of begging: competition, cooperation and communication*, 87–106. Springer Netherlands.

Kilner RM, Hinde CA (2008) Information warfare and parent–offspring conflict. *Advances in the Study of Behavior* 38: 283–336.

Kilner RM, Johnstone RA (1997) Begging the question: are offspring solicitation behaviours signals of need? *Trends in Ecology & Evolution* 12: 11–15.

Kölliker M (2011) On the meaning of hunger and behavioral control in the evolution of honest begging. *Behavioral Ecology* 22: 919–920.

Kölliker M, Chuckalovcak JP, Brodie III ED (2005) Offspring chemical cues affect maternal food provisioning in burrower bugs, *Sehirus cinctus*. *Animal Behaviour* 69: 959–966.

Kölliker M, Chuckalovcak JP, Haynes KF, Brodie ED (2006) Maternal food provisioning in relation to condition-dependent offspring odours in burrower bugs (*Sehirus cinctus*). *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 273: 1523–1528.

Krebs EA (2001) Begging and food distribution in crimson rosella (*Platycercus elegans*) broods: why don't hungry chicks beg more? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 50: 20–30.

Kutschera U, Niklas KJ (2004) The modern theory of biological evolution: an expanded synthesis. *Naturwissenschaften* 91: 255–276.

Kwapich CL, Tschinkel WR (2015) Limited flexibility and unusual longevity shape forager allocation in the Florida harvester ant (*Pogonomyrmex badius*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 70: 221–235.

Lachaud J-P, Lopez Mendez, Schatz B, De Carli P, Beugnon G (1996) Comparaison de l'impact de prédation de deux ponérines du genre *Ectatomma* dans un agrosystème néotropical. *Actes Coll Insectes sociaux*: 67–74.

Lachmann M, Számadó S, Bergstrom CT (2001) Cost and conflict in animal signals and human language. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98: 13189–13194.

Laidre ME, Johnstone RA (2013) Animal signals. *Current Biology* 23: R829–R833.

Le Conte Y, Arnold G, Trouiller J, Masson C, Chappe B (1990) Identification of a brood pheromone in honeybees. *Naturwissenschaften* 77: 334–336.

Le Conte Y, Bécard J-M, Costagliola G, Vaublanc G de, Maâtaoui ME, Crauser D, Plettner E, Slessor KN (2006) Larval salivary glands are a source of primer and releaser pheromone in honey bee (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* 93: 237–241.

Le Masne G (1953) *Observations sur les relations entre le couvain et les adultes chez les fourmis*. Annales des Sciences Naturelles - Zoologie et Biologie Animale.

Le Masne G (1980) Remarques sur les relations entre adultes et stades jeunes chez les insectes sociaux. *Reproduction Nutrition Développement* 20: 779–790.

Lenoir A (1981) Brood retrieving in the ant, *Lasius niger* L. *Sociobiology*: 153–178.

Leonard ML, Horn AG (1998) Need and nestmates affect begging in tree swallows. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 42: 431–436.

Lim S-P, Lee C-Y (2005) Brood arrangement and food distribution among larvae under different colony conditions in the pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 46: 491–503.

Lo N, Beekman M, Oldroyd BP (2010) Caste in social insects: genetic influences over caste determination. In: Breed MD, Moore AJ (eds) *Encyclopedia of animal behavior*, 254–260. Oxford: Academic Press.

Lopes JFS, Hughes WOH, Camargo RS, Forti LC (2005) Larval isolation and brood care in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Insectes Sociaux* 52: 333–338.

Macnair MR, Parker GA (1978) Models of parent-offspring conflict. II. Promiscuity. *Animal Behaviour* 26: 111–122.

Macnair MR, Parker GA (1979) Models of parent-offspring conflict. III. Intra-brood conflict. *Animal Behaviour* 271: 1202–1209.

Maisonnasse A, Lenoir J-C, Beslay D, Crauser D, Le Conte Y (2010) E-β-ocimene, a volatile brood pheromone involved in social regulation in the honey bee colony (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 5: E13531.

Maisonnasse A, Lenoir J-C, Costagliola G, Beslay D, Choteau F, Crauser D, Becard J-M, Plettner E, Le Conte Y (2009) A scientific note on E-β-ocimene, a new volatile primer

pheromone that inhibits worker ovary development in honey bees. *Apidologie* 40: 562–564.

Majer JD, Delabie JHC (1993) An evaluation of Brasilian cocoa farm ants as potential biological control agents. *Journal of Plant Protection in the Tropics* 10: 43–49.

Manser MB, Madden JR, Kunc HP, English S, Clutton-Brock T (2008) Signals of need in a cooperatively breeding mammal with mobile offspring. *Animal Behaviour* 76: 1805–1813.

Markin GP (1970) Food distribution within laboratory colonies of the argentine ant, *Tridomyrmex humilis* (Mayr). *Insectes Sociaux* 17: 127–157.

Mas F, Haynes KF, Kölliker M (2009) A chemical signal of offspring quality affects maternal care in a social insect. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 276: 2847–2853.

Mas F, Kölliker M (2008) Maternal care and offspring begging in social insects: chemical signalling, hormonal regulation and evolution. *Animal Behaviour* 76: 1121–1131.

Mas F, Kölliker M (2011) Differential effects of offspring condition-dependent signals on maternal care regulation in the European earwig. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65: 341–349.

Masuko K (2003) Larval oophagy in the ant *Amblyopone silvestrii* (Hymenoptera,Formicidae). *Insectes Sociaux* 50: 317–322.

Maynard Smith J (1991) Honest signalling : the Philip Sidney game. *Animal behaviour* 42: 1034–1035.

Maynard Smith J (1994) Must reliable signals always be costly? *Animal Behaviour* 47: 1115–1120.

Maynard Smith J, Harper DGC (1995) Animal signals: models and terminology. *Journal of Theoretical Biology* 177: 305–311.

Maynard Smith J, Harper D (2003) *Animal signals*. Oxford University Press, Oxford.

McCarty JP (1996) The energetic cost of begging in nestling passerines. *The Auk* 113: 178–188.

McNamara JM, Houston AI, Barta Z, Osorno J-L (2003) Should young ever be better off with one parent than with two? *Behavioral Ecology* 14: 301–310.

Mersch DP, Crespi A, Keller L (2013) Tracking individuals shows spatial fidelity is a key regulator of ant social organization. *Science* 340: 1090–1093.

Mock DW, Dugas MB, Strickler SA (2011) Honest begging: expanding from signal of need. *Behavioral Ecology* 22: 909–917.

Mock DW, Forbes LS (1992) Parent-offspring conflict: a case of arrested development. *Trends in Ecology & Evolution* 7: 409–413.

Mondloch CJ (1995) Chick hunger and begging affect parental allocation of feedings in pigeons. *Animal Behaviour* 49: 601–613.

Montagna TS, Raizer J, Antonialli-Junior WF (2015) Effect of larval topical application of juvenile hormone on caste determination in the independent-founding eusocial wasp *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). *Open Journal of Animal Sciences* 5: 174–184.

Morel L, Vander Meer RK (1988) Do ant brood pheromones exist? *Annals of the Entomological Society of America* 81: 705–710.

Moreno-Rueda G (2007) Is there empirical evidence for the cost of begging? *Journal of Ethology* 25: 215–222.

Nonacs P, Carlin NF (1990) When can ants discriminate the sex of brood? A new aspect of queen-worker conflict. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87: 9670–9673.

O'Connor JA, Robertson J, Kleindorfer S (2014) Darwin's finch begging intensity does not honestly signal need in parasitised nests. *Ethology* 120: 228–237.

O'Neal J, Markin GP (1973) Brood nutrition and parental relationships of the imported fire ant *Solenopsis invicta*. *Journal of the Georgia Entomological Society* 8: 294–303.

O'Toole DV, Robinson PA, Myerscough MR (2003) Self-organized criticality in ant brood tending. *Journal of Theoretical Biology* 221: 1–14.

Otte D (1974) Effects and functions in the evolution of signaling systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5: 385–417.

Ottosson U, Bäckman J, Smith HG (1997) Begging affects parental effort in the pied flycatcher, *Ficedula hypoleuca*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 41: 381–384.

Owren MJ, Rendall D, Ryan MJ (2010) Redefining animal signaling: influence versus information in communication. *Biology & Philosophy* 25: 755–780.

Page Robert E, Mitchell SD (1990) Self organization and adaptation in insect societies. *PSA: Proceedings of the Biennial Meeting of the Philosophy of Science Association* 1990: 289–298.

Pamilo P (1991) Evolution of colony characteristics in social insects. I. Sex allocation. *The American Naturalist* 137: 83–107.

Pankiw T (2004) Brood pheromone regulates foraging activity of honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 97: 748–751.

Pankiw T, Jr REP, Fondrk MK (1998) Brood pheromone stimulates pollen foraging in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 44: 193–198.

Parker GA, Macnair MR (1978) Models of parent-offspring conflict. I. Monogamy. *Animal Behaviour* 26: 97–110.

Parker GA, Macnair MR (1979) Models of parent-offspring conflict. IV. Suppression: Evolutionary retaliation by the parent. *Animal Behaviour* 27: 1210–1235.

Parker GA, Royle NJ, Hartley IR (2002) Intrafamilial conflict and parental investment: a synthesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 357: 295–307.

Partan S, Marler P (1999) Communication goes multimodal. *Science* 283: 1272–1273.

Partan S, Marler P (2005) Issues in the classification of multimodal communication signals. *The American Naturalist* 166: 231–245.

Passera L, Aron S (1996) Early sex discrimination and male brood elimination by workers of the argentine ant. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 263: 1041–1046.

Peeters C, Molet M (2010) Colonial reproduction and life histories. In: Lach L, Parr CL, Abbott KL (eds) *Ant Ecology*, 159–176. Oxford University Press, Oxford.

Penick CA, Prager SS, Liebig J (2012) Juvenile hormone induces queen development in late-stage larvae of the ant *Harpegnathos saltator*. *Journal of Insect Physiology* 58: 1643–1649.

Pereboom JJM, Velthuis HHW, Duchateau MJ (2003) The organisation of larval feeding in bumblebees (Hymenoptera, Apidae) and its significance to caste differentiation. *Insectes Sociaux* 50: 127–133.

Petralia RS, Vinson SB (1979) Developmental morphology of larvae and eggs of the imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *Annals of the Entomological Society of America* 72: 472–484.

Polis GA (1981) The evolution and dynamics of intraspecific predation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12: 225–251.

Portha S, Deneubourg J-L, Detrain C (2002) Self-organized asymmetries in ant foraging: a functional response to food type and colony needs. *Behavioral Ecology* 13: 776–781.

Portha S, Deneubourg J-L, Detrain C (2004) How food type and brood influence foraging decisions of *Lasius niger* scouts. *Animal Behaviour* 68: 115–122.

Price K, Harvey H, Ydenberg R (1996) Begging tactics of nestling yellow-headed blackbirds, *Xanthocephalus xanthocephalus*, in relation to need. *Animal Behaviour* 51: 421–435.

Queller DC, Strassmann JE (1998) Kin selection and social insects. *BioScience* 48: 165–175.

Quillfeldt P (2002) Begging in the absence of sibling competition in Wilson's storm-petrels, *Oceanites oceanicus*. *Animal Behaviour* 64: 579–587.

R Core Team (2015) *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Ramos Lacau L de S, Villemant C, Bueno OC, Delabie JHC, Lacau S (2008) Morphology of the eggs and larvae of *Cyphomyrmex transversus* Emery (Formicidae: Myrmicinae: Attini) and a note on the relationship with its symbiotic fungus. *Zootaxa* 1923: 37–54.

Ratnieks FLW, Foster KR, Wenseleers T (2006) Conflict resolution in insect societies. *Annual Review of Entomology* 51: 581–608.

Ratnieks FLW, Wenseleers T (2008) Altruism in insect societies and beyond: voluntary or enforced? *Trends in Ecology & Evolution* 23: 45–52.

Rauter CM, Moore AJ (1999) Do honest signalling models of offspring solicitation apply to insects? *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 266: 1691–1696.

Rauter CM, Moore AJ (2004) Time constraints and trade-offs among parental care behaviours: effects of brood size, sex and loss of mate. *Animal Behaviour* 68: 695–702.

Rendall D, Owren MJ, Ryan MJ (2009) What do animal signals mean? *Animal Behaviour* 78: 233–240.

Robinson GE (1992) Regulation of division of labor in insect societies. *Annual Review of Entomology* 37: 637–665.

Robinson GE, Page RE, Huang Z-Y (1994) Temporal polyethism in social insects is a developmental process. *Animal Behaviour* 48: 467–469.

Rodríguez–Gironés MA (1999) Sibling competition stabilizes signalling resolution models of parent–offspring conflict. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 266: 2399–2402.

Rodríguez-Gironés MA, Zúñiga JM, Redondo T (2001) Effects of begging on growth rates of nestling chicks. *Behavioral Ecology* 12: 269–274.

Rodríguez-Gironés MA, Enquist M, Lachmann M (2001) Role of begging and sibling competition in foraging strategies of nestlings. *Animal Behaviour* 61: 733–745.

Roulin A, Dreiss AN (2012) Sibling competition and cooperation over parental care. In: Royle NJ, Smiseth PT, Kölliker M (eds) *The evolution of parental care*, 133–149. Oxford University Press.

Royle NJ, Hartley IR, Parker GA (2002) Begging for control: when are offspring solicitation behaviours honest? *Trends in Ecology & Evolution* 17: 434–440.

Royle NJ, Hartley IR, Parker GA (2004) Parental investment and family dynamics: interactions between theory and empirical tests. *Population Ecology* 46: 231–241.

Royle NJ, Pike TW, Heeb P, Richner H, Kölliker M (2012a) Offspring social network structure predicts fitness in families. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 279: 4914–4922.

Royle NJ, Smiseth PT, Kölliker M (eds) (2012b) *The evolution of parental care*. Oxford University Press.

Rüger MH, Fröba J, Foitzik S (2007) Larval cannibalism and worker-induced separation of larvae in *Hypoponera* ants: a case of conflict over caste determination? *Insectes Sociaux* 55: 12–21.

Ruxton GD, Schaefer HM (2011) Resolving current disagreements and ambiguities in the terminology of animal communication. *Journal of Evolutionary Biology* 24: 2574–2585.

Saino N, Ninni P, Incagli M, Calza S, Sacchi R, Møller AP, Zuk AEM (2000) Begging and parental care in relation to offspring need and condition in the barn swallow (*Hirundo rustica*). *The American Naturalist* 156: 637–649.

Sauvaget M, Kerdjani O, Savarit F, Fresneau D, Fénéron R (in prep.) Larval movements in the ant *Ectatomma tuberculatum* ant: begging signals or general cues?

Sauvaget M, Picherit L, Savarit F, Fresneau D, Fénéron R (in prep.) Larval food provisioning and begging behaviour depend on social interactions and spatial position in the ant *Ectatomma tuberculatum* (Olivier, 1792).

Schaudinischky L, Ishay J (1968) On the nature of the sounds produced within the nest of the oriental hornet *Vespa orientalis* F. (Hymenoptera). *The Journal of the Acoustical Society of America* 44: 1290–1301.

Schneirla TC (1958) The behavior and biology of certain nearctic army ants last part of the functional season, Southeastern Arizona. *Insectes Sociaux* 5: 215–255.

Schultner E, d'Ettorre P, Helantera H (2013) Social conflict in ant larvae: egg cannibalism occurs mainly in males and larvae prefer alien eggs. *Behavioral Ecology* 24: 1306–1311.

Schultner E, Gardner A, Karhunen M, Helanterä H (2014) Ant larvae as players in social conflict: relatedness and individual identity mediate cannibalism intensity. *The American Naturalist* 184: E161-174.

Schwander T, Lo N, Beekman M, Oldroyd BP, Keller L (2010) Nature versus nurture in social insect caste differentiation. *Trends in Ecology & Evolution* 25: 275–282.

Seeley TD (1982) Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 11: 287–293.

Seeley TD (1998) Thoughts on information and integration in honey bee colonies. *Apidologie* 29: 67–80.

Seeley TD (2002) When is self-organization used in biological systems? *The Biological Bulletin* 202: 314–318.

Sendova-Franks AB, Franks NR (1994) Social resilience in individual worker ants and its role in division of labour. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 256: 305–309.

Sendova-Franks AB, Franks NR (1995) Spatial relationships within nests of the ant *Leptothorax unifasciatus* (Latr.) and their implications for the division of labour. *Animal Behaviour* 50: 121–136.

Sendova-Franks AB, Scholes SR, Franks NR, Melhuish C (2004) Brood sorting by ants: two phases and differential diffusion. *Animal Behaviour* 68: 1095–1106.

Smeets P, Duchateau MJ (2001) Feeding behaviour in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Belgian Journal of Zoology* 131: 119–126.

Smiseth PT, Moore AJ (2002) Does resource availability affect offspring begging and parental provisioning in a partially begging species? *Animal Behaviour* 63: 577–585.

Smiseth PT, Moore AJ (2004) Signalling of hunger when offspring forage by both begging and self-feeding. *Animal Behaviour* 67: 1083–1088.

Smiseth PT, Moore AJ (2007) Signalling of hunger by senior and junior larvae in asynchronous broods of a burying beetle. *Animal Behaviour* 74: 699–705.

Smiseth PT, Moore AJ (2008) Parental distribution of resources in relation to larval hunger and size rank in the burying beetle *Nicrophorus vespilloides*. *Ethology* 114: 789–796.

Smiseth PT, Scott MP, Andrews C (2011) Hormonal regulation of offspring begging and mediation of parent–offspring conflict. *Animal Behaviour* 81: 507–517.

Smiseth PT, Wright J, Kölliker M (2008) Parent–offspring conflict and co-adaptation: behavioural ecology meets quantitative genetics. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 275: 1823–1830.

Solis DR, Fox EGP, Rossi ML, Bueno OC (2010a) Description of the immatures of *Linepithema humil*e Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Biological Research* 43: 19–30.

Solis DR, Fox EGP, Rossi ML, Moretti TDC, Bueno OC (2010b) Description of the immatures of workers of the ant *Camponotus vittatus* (Hymenoptera: Formicidae). *Florida Entomologist* 93: 265–276.

Solis DR, Rossi ML, Fox EGP, Nogueira N de L, Tanaka FAO, Bueno OC (2013) On the morphology of the digestive system of two *Monomorium* ant species. *Journal of Insect Science* 13: 70.

Sorensen AA, Busch TM, Vinson SB (1985) Control of food influx by temporal subcastes in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 17: 191–198.

Sorensen AA, Kamas RS, Vinson SB (1983) The influence of oral secretions from larvae on levels of proteinases in colony members of *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Physiology* 29: 163–168.

Stickland TR, Franks NR (1994) Computer image analysis provides new observations of ant behaviour patterns. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 257: 279–286.

Sundström L, Chapuisat M, Keller L (1996) Conditional manipulations of sex ratios by ant workers : A test of kin selection theory. *Science* 274: 993–995.

Számadó S (2011) The cost of honesty and the fallacy of the handicap principle. *Animal Behaviour* 81: 3–10.

Tallamy DW, Wood TK (1986) Convergence patterns in subsocial insects. *Annual Review of Entomology* 31: 369–390.

Teseo S, Châline N, Jaisson P, Kronauer DJC (2014) Epistasis between adults and larvae underlies caste fate and fitness in a clonal ant. *Nature Communications* 5: 1–8.

Theraulaz G, Bonabeau E, Denuebourg J-N (1998) Response threshold reinforcements and division of labour in insect societies. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 265: 327–332.

Théry M, Heeb P (2008) Communication, sensory ecology, and signal evolution. In: Danchin E, Giraldeau L, Cézilly F (eds) *Behavioural ecology: an evolutionary perspective on behaviour*, 577–612. Oxford University Press, Paris, France.

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 NR (1992) Doing the right thing: ants, honeybees and naked mole-rats. *Trends in Ecology & Evolution* 7: 346–349.

Tripet F, 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.

Trivers RL (1972) Parental investment and sexual selection. *Sexual selection and the descent of Man, 1871-1971*, 136–179. B. Campbell, Chicago.

Trivers RL (1974) Parent-offspring conflict. *American Zoologist* 14: 249–264.

Trivers RL, Hare H (1976) Haplodiploidy and the evolution of the social insect. *Science* 191: 249–263.

Tschirren B, Fitze PS, Richner H (2005) Carotenoid-based nestling colouration and parental favouritism in the great tit. *Oecologia* 143: 477–482.

Ulrich Y, Burns D, Libbrecht R, Kronauer DJC (2016) Ant larvae regulate worker foraging behavior and ovarian activity in a dose-dependent manner. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 70: 1011–1018.

Urbani CB (1991) Indiscriminate oophagy by ant larvae: an explanation for brood serial organization? *Insectes Sociaux* 38: 229–239.

Vargo EL (1998) Primer pheromones in ants. In: Vander Meer RK, Breed MD, Winston M, Espelie KE (eds) *Pheromone communication in social insects : ants, wasps, bees, and termites*, 293–313. Westview Press.

Vargo EL, Fletcher DJC (1986) Evidence of pheromonal queen control over the production of male and female sexuals in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Journal of Comparative Physiology A* 159: 741–749.

Villalta I, Amor F, Cerdá X, Boulay R (2016) Social coercion of larval development in an ant species. *The Science of Nature* 103: 1–8.

Villaseñor E, Drummond H (2007) Honest begging in the blue-footed booby: signaling food deprivation and body condition. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61: 1133–1142.

Vowles DM (1955) The foraging of ants. *The British Journal of Animal Behaviour* 3: 1–13.

Weber NA (1946) Two common ponerine ants of possible economic significance, *Ectatomma tuberculatum* (Olivier) and *E. ruidum* (Roger). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 48: 1–16.

Wenseleers T, Ratnieks FLW, Billen J (2003) Caste fate conflict in swarm-founding social Hymenoptera: an inclusive fitness analysis. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 647–658.

West SA, Griffin AS, Gardner A (2007) Evolutionary explanations for cooperation. *Current Biology* 17: R661–R672.

Wheeler WM (1918) A study of some ant larvae, with a consideration of the origin and meaning of the social habit among insects. *Proceedings of the American Philosophical Society* 57: 293–343.

Wheeler DE (1986a) *Ectatomma tuberculatum*: Foraging Biology and Association with *Crematogaster* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 79: 300–303.

Wheeler DE (1986b) Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *The American Naturalist* 128: 13–34.

Wheeler DE, Buck NA (1992) Protein, lipid and carbohydrate use during metamophosis in the fire ant, *Solenopsis xyloni*. *Physiological Entomology* 17: 397–403.

Wheeler DE, Buck N, Evans JD (2006) Expression of insulin pathway genes during the period of caste determination in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology* 15: 597–602.

Wheeler GC, Wheeler DE (1976) *Ant larvae: review and synthesis.* Entomological Society of Washington.

Wilson EO (1971) *The insect societies*. Belknap Press of Harvard University Press.

Wilson DS, Clark AB (2002) Begging and cooperation: an exploratory flight. In: Wright J, Leonard ML (eds) *The evolution of begging: competition, cooperation and communication*, 43–64.

Winston ML (1991) *The biology of the honey bee*, 2nd ed. Harvard University Press.

Wyatt TD (2003) *Pheromones and animal behaviour: communication by smell and taste*. Cambridge University Press.

Wyatt TD (2010) Pheromones and signature mixtures: defining species-wide signals and variable cues for identity in both invertebrates and vertebrates. *Journal of Comparative Physiology A* 196: 685–700.

Yamane S (1976) Morphological and taxonomic studies on vespine larvae, with reference to the phylogeny of the subfamily vespinae. Studies on the vespoid larvae. *Insecta Matsumurana* 8: 1–45.

Zahavi A (1975) Mate selection—A selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology* 53: 205–214.

Zahavi A (2008) The handicap principle and signalling in collaborative systems. In: d'Ettorre P, Hughes DP (eds) *Sociobiology of communication: an interdisciplinary perspective*, 1–10. Oxford University Press.

Zinck L, Jaisson P, Hora RR, Denis D, Poteaux C, Doums C (2007) The role of breeding system on ant ecological dominance: genetic analysis of *Ectatomma tuberculatum*. *Behavioral Ecology* 18: 701–708.

Les relations jeunes-adultes chez les fourmis :
sollicitations alimentaires des larves de l'espèce *Ectatomma tuberculatum*

RÉSUMÉ :

L'investissement des adultes pour augmenter la survie des jeunes est souvent optimisé par une communication émise par les jeunes et informant les parents de leur niveau de besoin. Nous avons exploré dans cette thèse si les comportements des larves de fourmi pouvaient être des quémandes alimentaires telles que définies par les modèles de communication honnête. En effet, les fourmis, eusociales, possèdent un système de relations sociales et de coopérations qui diffère du modèle parental classiquement décrit. Nous avons donc testé chez la fourmi *Ectatomma tuberculatum* si les comportements des larves pouvaient refléter leur niveau de besoin et si les ouvrières apportaient la nourriture en fonction du signal comme prédit par les modèles. Nous montrons dans cette thèse que les mouvements émis par les larves ainsi qu'un composé chimique volatil larvaire pourraient tous deux intervenir et influencer l'apport alimentaire par les ouvrières. Les mouvements larvaires augmentent avec le stade de développement des larves et le composé chimique augmenterait avec le niveau d'affamement des larves. Les ouvrières, nourrices et fourrageuses, pourraient donc optimiser la répartition des ressources alimentaires de la colonie grâce à ces signaux ou indices des larves. Cependant, nous montrons aussi que plusieurs autres facteurs proximaux interviennent. Les mouvements larvaires font suite à des contacts fortuits avec les ouvrières, et l'organisation spatiale des ouvrières et des larves influencent les mouvements larvaires et le nourrissage. Des hypothèses alternatives ou complémentaires à la communication sont donc proposées.

Young-adult relation in ants: larval solicitations for food in *Ectatomma tuberculatum*

ABSTRACT:

Parental investment to increase survivability of the young is often optimised by signalling emitted by the young and informing the parents of their level of need. In this thesis, we explored whether the behaviour of ant larvae could be analysed as food solicitations as defined by honest communication models. Indeed, ants are highly social and their social relations differ from the social relation in parent-offspring systems which is usually analysed for food solicitations. We therefore tested, in the ant *Ectatomma tuberculatum*, whether behaviour of the larvae was correlated with the level of need and if workers provisioned larvae with food according to the intensity of the signal, as predicted by honest signalling models. We showed in this thesis that movements displayed by the larvae as well as a larval volatile emission could influence food provisioning by workers. Larval movements increase with larval developmental stage and volatile emission vary with nutritional state of the larvae. Nurse and forager workers could then optimise food resources allocation inside the nest thanks to signals or cues from the larvae. However, we also show that several other proximal factors are involved. Larval movements are not freely displayed but follow a contact with a worker, and spatial organisation of workers and larvae influences larval movements and food provisioning. Thus we propose alternative or complementary hypotheses to the communication hypothesis.

DISCIPLINE : Éthologie

MOTS-CLÉS : Communication, Sollicitations, Signal honnête, Relation parentale, Insectes eusociaux, Fourmis, Larves, Ectatomma tuberculatum.

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée EA 4443 –
Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité – 93430 Villetaneuse