

rearing units of workers and brood. Units comprised of overwintered individuals produce more female sexuals and they appear more rapidly than in units comprised of individuals collected at other times of the year, suggesting that overwintering has a positive influence on the production of female sexuals, probably by affecting the developmental potential of larvae. In laboratory rearing units, female sexuals are never produced in the presence of a functional (inseminated) queen, whereas they develop in nearly all such units when queenless. Corpses of functional queens are as effective as living queens in inhibiting the development of female sexuals, suggesting that this queen inhibitory effect is pheromonally mediated. Much of this inhibitory influence is removed when queen corpses are rinsed in pentane, lending support to the involvement of pheromones. The results accord well with the timing of the production of winged queens in nature, which develop from overwintered larvae in the spring following a drastic reduction in queen number through the execution of nearly all the functional queens by the workers.

Key words: Argentine ant, caste determination, queen control, overwintering, primer pheromones

INTRODUCTION

Les insectes sociaux se caractérisent par l'existence d'une caste spécialisée dans la reproduction (les reines) et d'une caste souvent stérile (les ouvrières). Les facteurs réglant le déterminisme de ces castes sont inconnus dans la grande majorité des espèces. Cela est surtout vrai pour la sous-famille des Dolichoderinae, à laquelle peu d'études ont été consacrées.

La fourmi d'Argentine, *Iridomyrmex humilis*, appartenant aux Dolichoderinae, est originaire d'Amérique du Sud. Ses sociétés très polygynes et polycaliques lui permettent de coloniser tous les biotopes favorables. Actuellement elle est établie dans plusieurs régions du monde, y compris le sud de la France, où elle a été introduite accidentellement par l'homme au cours de transports commerciaux.

Les conditions dans lesquelles les sexués femelles ailés d'*I. humilis* sont produits dans la nature donnent quelques indications sur les facteurs réglant le déterminisme de la caste reine. Premièrement ils se produisent saisonnièrement pendant une courte période au printemps (MARKIN, 1970; BENOIS, 1973; BARTELS, 1983; KELLER *et al.*, 1988). Dans le sud de la France et probablement ailleurs, ils se développent à partir des larves hibernées (BENOIS, 1973; KELLER *et al.*, 1988). Ces deux faits suggèrent que la saison influence la production des reines ailées. Deuxièmement, les

sexués femelles ailés se produisent immédiatement après une importante réduction du nombre des reines due à leur exécution massive par les ouvrières (MARKIN, 1970; KELLER *et al.*, 1988). Ce dernier fait suggère que les reines fonctionnelles ont une influence inhibitrice sur l'élevage des reines. La possibilité d'un effet inhibiteur des reines est renforcée par des résultats obtenus au laboratoire par PASSERA *et al.* (1988a): les sexués femelles ailés se produisent dans presque 80% de fragments de colonies orphelinées, mais jamais dans ceux possédant une reine.

A l'aide d'unités standardisées, on a étudié ici le rôle possible de la saison et de l'inhibition royale sur le déterminisme de la caste royale.

MATERIEL ET METHODE

Toutes les fourmis étudiées ont été récoltées en 1988 à Port-Leucate sur la côte méditerranéenne dans le sud de la France. Pour effectuer nos expériences nous avons utilisé des petits élevages standardisés comprenant environ 1200 ouvrières orphelinées, 200-300 larves de tous stades et des douzaines d'oeufs. Une fois par semaine, les fourmis ont été endormies au gaz carbonique et les élevages ont été examinés à l'aide d'une loupe binoculaire pour noter la présence des grosses larves de reines (> 1,9 mm de long) qui se distinguent facilement des larves ouvrières par leur taille et des larves mâles par leur apparence (voir PASSERA *et al.*, 1988b). Les larves ont été laissées en place dans les élevages. Les fourmis ont été maintenues en élevage au laboratoire dans des conditions estivales semblables à celles décrites par PASSERA *et al.* (1988b).

Sauf mention spéciale, toutes les comparaisons qui suivent ont été faites avec des individus hibernés, récoltés au même moment et maintenus au laboratoire pendant le même laps de temps.

EXPERIENCES ET RESULTATS

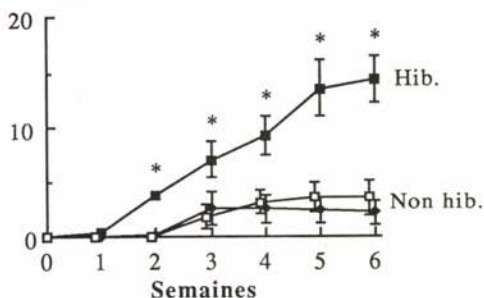
Effet de la saison

Pour déterminer s'il existe un effet dû à l'hibernation, on a comparé la production des larves de reines dans des unités formées d'individus sortant d'hibernation (individus hibernés) à celle d'unités formées d'individus sortis d'hibernation depuis plusieurs semaines (individus non hibernés). Cinq unités ont été réalisées avec des fourmis récoltées à la fin de l'hiver (le 11 mars) et maintenues pendant 12 jours en élevage au laboratoire avant le début de l'expérience. Un autre groupe de cinq unités a été constitué avec des fourmis récoltées juste après la différenciation des larves hibernées dans la nature (le 27 mai). Ce deuxième groupe de fourmis a été maintenu au laboratoire pendant 11 jours avant le début de l'expérience.

Les unités faites avec des individus hibernés ont produit plus de larves et de nymphes de reines que les unités faites avec des individus non hibernés (*fig. 1*). La différence entre les deux groupes a été significative chaque

Fig. 1. - Effet de la saison sur le déterminisme des castes dans des petites unités standardisées. Les astérisques indiquent des différences significatives ($P \leq 0,5$; test t sur les racines carrées) entre le groupe formé d'individus hibernés (Hib.) récoltés le 11/3 et les deux groupes formés d'individus non hibernés (Non hib.) récoltés le 27/5 (losanges) ou le 11/3 et maintenus au laboratoire pendant 41 jours (carrés blancs). $n = 5$ dans chaque cas.

Larves et nymphes de reines



- Effect of season on queen determination in small standardized units. Asterisks indicate significant differences ($P \leq 0,5$, t -test on square-root transformed data) at a particular week between the units comprised of overwintered individuals (Hib.) collected 11 March and the two groups comprised of non overwintered individuals (Non hib.) collected 27 May (diamonds) or 11 March and maintained in the laboratory for 41 days (open squares). $n = 5$ in each case.

semaine à partir de la deuxième. De plus, les larves de reines sont apparues dès la deuxième semaine dans les unités faites avec des individus hibernés; alors qu'il a fallu attendre la troisième semaine dans les élevages formés d'individus non hibernés.

On a également mis en expérience un autre groupe de cinq unités issu de la même société récoltée le 11 mars, mais après avoir élevé les fourmis pendant 41 jours au laboratoire (fig. 1). Cette durée de presque six semaines dans des conditions estivales est assez longue pour que presque toutes les larves parviennent au stade adulte. Ainsi, les larves présentes au début de l'expérience n'ont pas subi l'hivernation. Les résultats sont très comparables à ceux obtenus dans les unités récoltées au mois de mai (fig. 1). D'autres élevages réalisés avec des fourmis récoltées aux autres saisons conduisent à des observations semblables (non publié).

Il semble donc que l'existence d'une période d'hivernation favorise l'élevage des larves royales sans que l'on sache si le froid agit sur le développement larvaire et/ou sur le comportement nourricier des ouvrières.

Effet inhibiteur des reines

Après plusieurs années d'élevage d'*I. humilis*, PASSERA *et al.* (1988b, non publié) ont remarqué qu'une seule reine présente dans une petite unité, ou même une grosse colonie, inhibe la production des sexués femelles ailés, tandis qu'ils se produisent dans presque toutes les unités sans reine. Deux

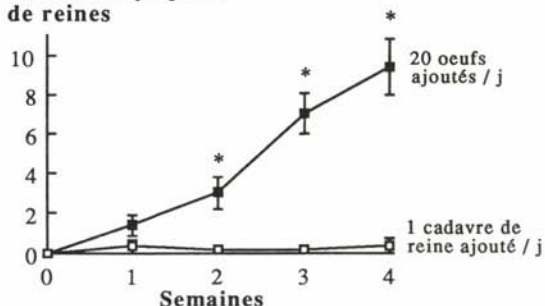
explications qui ne sont d'ailleurs pas exclusives peuvent être proposées pour rendre compte de l'inhibition de la production de nouvelles reines en présence des reines pondueuses: 1) une influence inhibitrice de la reine; 2) un rapport ouvrière/larve bas dû à l'addition continue d'oeufs.

Pour tester ces deux hypothèses, on a mis au point l'expérience suivante. Dans un groupe d'unités sans reine, on a introduit 20 oeufs chaque jour (c'est à peu près la production quotidienne d'une reine). Ainsi ces unités ont eu le même rapport ouvrière/larve que des unités possédant une reine, mais elles sont orphelines. Dans un autre groupe d'unités, on a introduit chaque jour le cadavre frais d'une reine tuée par congélation. Ainsi, ce dernier groupe a été en présence d'une reine, mais le rapport ouvrière/larve a été libre d'augmenter comme dans des unités orphelines.

Les résultats (fig. 2) indiquent que plusieurs larves de reines apparaissent dans les unités sans reines auxquelles des oeufs ont été ajoutés, tandis que la présence de cadavres de reines provoque une inhibition presque complète. Ces résultats nous permettent d'exclure à la fois l'influence du rapport ouvrière/larve sur l'élevage des larves royales et la possibilité d'une influence inhibitrice liée aux oeufs eux-même comme cela a été rapporté par EDWARDS (1987) chez *Monomorium pharaonis*.

Fig. 2. - Effet du rapport ouvrière/larve et des cadavres de reines sur le déterminisme des castes dans des petites unités standardisées. Les astérisques indiquent des différences significatives ($P \leq 0,5$) selon le test t (données transformées en racines carrées). $n = 5$ dans chaque cas.

Larves et nymphes de reines

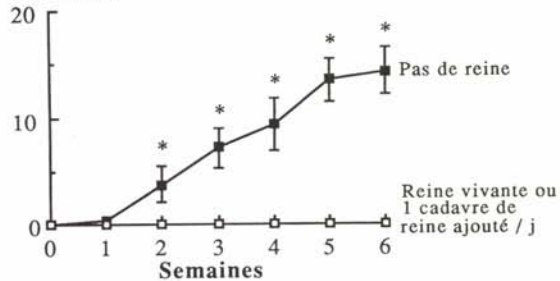


- Effect of the worker/larva ratio and of queen corpses on queen determination in small standardized units. Asterisks indicate significant differences ($P \leq 0.05$) at a particular week according to the t -test (square-root transformation of data). $n = 5$ in each case.

Dans une autre série d'expériences on a comparé le nombre de larves royales obtenu dans trois situations différentes: en présence d'un cadavre frais d'une reine, en présence d'une reine vivante, en l'absence de toute reine (témoin). Dans ce cas, les cadavres de reines ont été totalement inhibiteurs, exactement comme des reines vivantes (fig. 3). Ces résultats excluent un rôle du comportement des reines dans l'inhibition de la production des

Fig. 3. - Effet inhibiteur des cadavres de reines sur l'élevage de nouvelles reines comparé à celui de reines vivantes et à des témoins sans reine. Les astérisques indiquent que les résultats chez les témoins diffèrent significativement de 0 ($P \leq 0,05$; test t sur les racines carrées). $n = 5$ dans chaque cas.

Larves et nymphes de reines



- Inhibitory effect of queen corpses on queen determination in comparison to living queens and queenless controls. Asterisks indicate that the controls differed significantly from 0 at a particular week ($P \leq 0.05$, one-sample t -test, square-root transformation). $n = 5$ in each case.

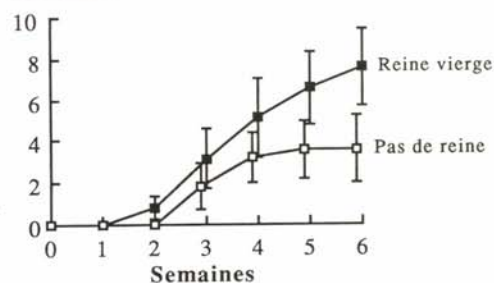
sexués et suggèrent bien qu'il y a une phéromone inhibitrice produite par les reines. Cette hypothèse est fortement renforcée par les résultats des deux expériences suivantes.

Dans la première, l'effet inhibiteur de reines vierges non pondueuses a été testé en mettant une reine ailée dans chacune des unités. Les reines vierges sont les témoins idéaux pour des expériences concernant les phéromones royales, parce qu'elles ont la même forme que les reines pondueuses, mais elles sont immatures et n'ont pas développé tous les systèmes phéromonaux des reines matures (voir VARGO et FLETCHER, 1986).

Comparées aux témoins orphelins, ces reines vierges se sont révélées non inhibitrices (fig. 4). Les facteurs visuels et tactiles liés à la forme de la reine ne sont donc pas en cause dans l'inhibition de la production des larves royales.

Fig. 4. - Effet des reines vierges sur l'élevage de nouvelles reines. Les résultats dans des unités possédant des reines vierges ($n = 7$) ne sont pas significativement différents de ceux obtenus chez des témoins sans reine ($n = 5$; test t sur les racines carrées).

Larves et nymphes de reines



- Effect of virgin queens on queen determination. Units given virgin queens ($n = 7$) did not differ significantly from queenless controls ($n = 5$) at any week (t -test, square-root transformation).

Dans la dernière expérience, des cadavres frais de reines désailées ont été lavés dans du pentane pendant 20 minutes avant de les mettre chaque jour dans des unités. Comparés à ceux obtenus dans des sociétés orphelines, les résultats ne montrent pas de différence significative. Les cadavres frais lavés sont donc moins inhibiteurs que les cadavres frais non lavés. Ainsi, le pentane prive les cadavres d'une partie ou même de la totalité de leur influence inhibitrice.

DISCUSSION

Nos résultats préliminaires fournissent des informations détaillées concernant le déterminisme de la caste royale chez une espèce de Dolichoderinae. Ils suggèrent fortement qu'il y a à la fois un effet de la saison et une influence royale inhibitrice sur la production des reines ailées. Cette conclusion s'accorde parfaitement avec des observations faites dans la nature et relatives à la période d'apparition des nouvelles reines: elles se développent au printemps à partir des larves hibernées et après une importante réduction du nombre des reines fonctionnelles due à leur exécution massive par les ouvrières.

Un effet de la saison et du contrôle royal sur le développement des reines ailées est connu depuis longtemps dans d'autres espèces de fourmis appartenant à d'autres sous-familles: Myrmicinae: *Myrmica rubra* (BRIAN, 1980); Formicinae: *Formica polycтена* (travaux de GÖSSWALD et BIER in SCHMIDT, 1974) et *Plagiolepis pygmaea* (PASSERA, 1984).

Chez *I. humilis* l'effet des reines sur la production des sexués a été étudié par BARTELS (1988). Il a constaté que les reines accaparent tous les oeufs alimentaires pondus par les ouvrières. Dans les sociétés orphelines, ces oeufs trophiques sont dévorés par les larves. Il en tire la conclusion que le développement des larves royales est rendu possible dans les sociétés orphelines grâce à cet apport alimentaire particulier que constituent les oeufs alimentaires; la reine contrôle donc l'élevage des larves sexuées en détournant à son profit ce surplus alimentaire. Or, nous avons démontré dans la présente étude que les cadavres de reines sont aussi inhibiteurs que les reines vivantes. En conséquence, il nous semble que l'intervention comportementale des reines à travers la consommation des oeufs alimentaires n'est pas un phénomène majeur dans l'inhibition de l'élevage de la caste reine, au moins dans nos conditions expérimentales. Il est possible que cette forme de comportement joue un rôle mineur en augmentant l'effet phéromonal.

En conclusion, l'élevage des reines chez la fourmi d'Argentine semble

soumis à un contrôle royal par le biais de l'émission par la reine d'une phéromone inhibitrice. Ce phénomène soupçonné depuis longtemps chez les Insectes sociaux, n'a été démontré réellement que rarement chez les fourmis comme par exemple chez la fourmi de feu (VARGO et FLETCHER, 1986; VARGO, 1988). La facilité avec laquelle on obtient des sexués ailés chez la fourmi d'Argentine en fait un modèle précieux pour l'étude de ces phéromones inhibitrices. Il faudra toutefois trouver un essai biologique rapide évitant d'attendre plusieurs semaines l'apparition des larves royales.

REMERCIEMENTS. - La réalisation de ce travail a été rendue possible par l'obtention d'une bourse du "National Science Foundation" (INT-8702250) à E. L. VARGO.

BIBLIOGRAPHIE

- BARTELS P.J., 1983. - Polygyny and the reproductive biology of the Argentine ant. *Ph.D. Thesis*, University of California, Santa Cruz, pp. 205.
- BARTELS P.J., 1988. - Reproductive caste inhibition by Argentine ant queens: new mechanisms of queen control. *Insectes Soc.*, 35, 70-81.
- BENOIS A., 1973. - Incidence des facteurs écologiques sur le cycle annuel et l'activité saisonnière de la fourmi d'Argentine *Iridomyrmex humilis* Mayr (Hymenoptera, Formicidae) dans la région d'Antibes. *Insectes Soc.*, 20, 267-296.
- BRIAN M.V., 1980. - Social control over sex and caste in bees, wasps and ants. *Biol. Rev.*, 55, 379-415.
- EDWARDS J.P., 1987. - Caste regulation in the Pharaoh's ant *Monomorium pharaonis*: the influence of queens on the production of new sexual forms. *Physiol. Entomol.*, 12, 31-39.
- KELLER L., PASSERA L., SUZZONI J.-P., 1988. - Queen execution in the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis*. *Physiol. Entomol.*, sous presse.
- MARKIN G.P., 1970. - The seasonal life cycle of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Hymenoptera: Formicidae) in Southern California. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 63, 1238-1242.
- PASSERA L., 1984. - *L'organisation sociale des Fourmis*. Privat édit., Toulouse, 360 p.
- PASSERA L., KELLER L., SUZZONI J.-P., 1988a. - Queen replacement in dequeened colonies of the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Psyche*, sous presse.
- PASSERA L., KELLER L., SUZZONI J.-P., 1988b. - Control of brood male production in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Insectes Soc.*, 35, 19-33.
- SCHMIDT G.H., 1974. - Steuerung der Kastenbildung und Geschlechtsregulation im Waldameisenstaat. In: *Sozialpolymorphismus bei Insekten*, G.H. SCHMIDT, Ed. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, Stuttgart, 404-512.
- VARGO E.L., 1988. - A bioassay for a primer pheromone of queen fire ants (*Solenopsis invicta*) which inhibits the production of sexuals. *Insectes Soc.*, sous presse.
- VARGO E.L., FLETCHER D.J.C., 1986. - Evidence of pheromonal queen control over the production of male and female sexuals in the fire ant *Solenopsis invicta*. *J. Comp. Physiol. A*, 159, 741-749.