

Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Présentée et soutenue par :

Sofia Bouchebti

Le 20/01/2015

Titre :

Comportement d'approvisionnement des fourmis coupeuses de feuilles : de la piste chimique à la piste physique

ED SEVAB : Écologie, biodiversité et évolution

Unité de recherche :

Centre de Recherches sur la Cognition Animale – UMR5169

Directeur(s) de Thèse :

Vincent Fourcassié, CR, CRCA, Toulouse

Rapporteurs :

Claudie Doums, PR, EPHE, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris
Raphaël Boulay, PR, IRBI, Tours

Autre(s) membre(s) du jury :

Alain Dejean, PR, Eco Fog, Toulouse
Rumsais Blatrix, CR, CEFE, Montpellier
Martin Giurfa, PR, CRCA, Toulouse

A mon premier amour éthologique, les blattes...

“If visitors from another star system had visited Earth a million years ago, before the rise of humanity, they might have concluded that leafcutter colonies were the most advanced societies this planet would ever be able to produce.”

Bert Hölldobler et Edward O. Wilson.

Extrait du livre « The Leafcutter Ants: Civilization by Instinct » (2010).

REMERCIEMENTS

Merci...

Vincent Fourcassié, tout d'abord de m'avoir choisie pour ce projet de thèse, toute cette aventure n'aurait pas été possible sans lui. Puis pour son encadrement, sa confiance, sa disponibilité sans faille, et sa patience tout au long de ses trois ans de thèse.

Luiz Carlos Forti, pour m'avoir si merveilleusement bien accueillie dans son laboratoire à Botucatu, pour avoir partagé sa passion de la nature, des animaux et de l'art culinaire brésilien!

Les membres de mon jury de thèse : Martin Giurfa, Claudie Doums, Raphaël Boulay, Rumsais Blatrix, et Alain Dejan pour avoir accepté de lire et d'évaluer mon travail de thèse, ainsi que pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon sujet.

Les membres de mon comité de thèse : Claire Detrain, Audrey Dussutour, et Jean Louis Hemptinne, pour leurs conseils avisés.

Les directeurs du CRCA, Martin Giurfa et Claire Rampon, pour leurs aides et leurs soutiens lors de mes mésaventures administratives UPS...

Gérard Latil, pour son aide au labo, pour m'avoir appris pleins de choses sur les fourmis, mais pas que : saviez-vous par exemple que le tango n'est pas Argentin, mais Toulousain ?! Et enfin pour tous les événements de vulgarisation scientifique auxquels j'ai pu participer grâce à lui, du muséum aux écoles primaires!

Stéphane Ferrere, pour la perfection de mon matériel expérimental toujours construit en un temps record ! Mais aussi pour tous les chocolats...

Maud Combe, qui m'a sauvée plus d'une fois avec mon ordi, et pour son logiciel Antethoc. J'en profite par la même occasion pour remercier Patrick Arrufat, Stéphane Pech, Hélène Halley, Isabel Massou, Lucie Hotier, et Alix Gabrielli pour la bonne humeur quotidienne qui règne grâce à eux dans les couloirs du CRCA.

L'équipe Dynactom :

Audrey Dussutour, pour son aide, ses conseils, sa disponibilité, sa générosité, et ses collaborations qui je l'espère ne s'arrêterons pas là.

Raphael Jeanson, toujours prêt à rendre service, malgré son air ronchon !

Christian Jost, mon très cher voisin de pallier, avec qui j'ai réalisé mes premiers pas dans l'enseignement.

Richard bon, pour son extrême gentillesse.

Jacques Gautrais, pour toute sa sagesse.

Guy Theraulaz, pour ses précieux conseils sur la recherche de post doc.

Les autres équipes :

Lionel Dahan, Guillaume Isabel, et Mathieu Lihoreau, pour leurs sympathies, leurs conseils, leurs aides, mais aussi et surtout pour toute la partie non scientifique d'une thèse !

Mes stagiaires :

Adelaïde Mouton, Julien Floirac, Paula Paris, Axelle Dauphin, et Sari Tanikawa, pour leurs aides précieuses au cours des manips.

Mes collègues doctorants et post doc :

Daniel Calovi (thanks for all the *very very very interesting* stories!), Pierre Lesne (merci d'avoir été un petit renard), Kévin Berthelot (président du MLB), Fabien Demares (dit Fafa in South Africa), Laure Anne Poissonier, Alfonso Pérez Escudero (dit Alfonsito), Petnoi Petsophonsakul, Sepideh Bazzazi, Julian Vicente Page, Andres Eduardo Quiñones, Rémi Gouttefarde, Valentin Lecheval, Jessica Remaud, Rio Tedjakumala, Charlotte Bezzina, Hélène Villain, Kévin Richetin, Karla Vittori, Anais Khuong, David Vogel, Abel Bernadou, et Antoine Wystrach. Merci pour tous ces bons moments au labo et ailleurs !

Hors catégorie et avec une mention toute particulière pour Sara Arganda, ma petite poubelita...

O LISP :

Em teoria chegar num país diferente sem falar a língua local deveria ser muito difícil, mas graças as pessoas a seguir, foi muito fácil ! Muito obrigada a:

Nádia Caldato pela sua ajuda com toda a parte administrativa.

Raphael Travaglini, por sua ajuda indescritível no campo, os experimentos do primeiro capítulo da tese nunca existiriam se não fosse por ele.

Davi Generoso, Maria Inês Bulgari Alves, Tierla G. Schussler Barros, Lais Cristina da Silva, Mariana Brugger Silva, Marcílio de S. Silva, Nilson Satoru Nagamoto, Roberto da Silva Camargo, Ricardo Toshio Fujihara, Nelson, e Marcus, pela sua ajuda no laboratório, mas especialmente por todas as risadas e pelo tempo que passamos juntos.

Lilika e Beethoven também merecem ser mencionados nos agradecimentos: Apesar de sua bondade e proteção que me deram no campo, se não fosse por eles perseguirem as vacas que tentavam comer as folhas das minhas formigas, eu nunca teria terminado os meus experimentos!

E por último, mas não menos importante, minha querida amiga Paula Correa Dias. Não existem palavras para descrever como eu sou grata por ter te conhecido. Muito obrigada por tudo, por sua ajuda no campo, por toda a diversão que tivemos juntas, por ter me apresentado a sua incrível família e amigos.

Eles não são do laboratório, mas eu gostaria de agradecer Angélica Dias e Bruno Luperini pela sua amizade.

Eu já tinha duas nacionalidades antes de ir ao Brasil, mas agora, graças a essas pessoas, eu sinto como se eu tivesse uma terceira: sou brasileira de coração !

Les personnes qui m'ont conduite à faire une thèse :

Je ne citerai pas ici tous mes professeurs de biologie, mais j'aimerais remercier les plus importants: Mme Lhadi ma première professeure d'SVT qui m'a fait aimer la biologie. Qui sait ce que j'aurais fait comme études si j'avais eu un autre professeur ! Martin Giurfa (et oui encore !), j'ai toujours aimé les insectes, mais c'est suite à son cours en L2 que j'ai su avec

certitude que je voulais les étudier ! Et enfin, Marie-Annick Richard qui m'a transmis sa passion pour l'éthologie.

Mes maîtres de stages qui chacun à leurs manières bien différentes ont confirmé mon désir de faire de la recherche: Sébastien Dugravot, Colette Rivault, et Jeri Wright.

Manue, mon amie la plus chère, et sa petite famille, Greg et Milo.

Ma famille :

Mes parents, Anna (-Banana), Betty, Jean-Louis, Pierre, Armelle, Carla, Allegra, Marie, Francis, Ghali et Aïcha.

Dans le règne animal, les insectes sociaux sont sans aucun doute les animaux les plus extraordinaires. Parmi les fourmis, les *Atta* sont de loin les plus merveilleuses. Parmi les *Atta*, *Atta laevigata* est sans conteste l'espèce la plus belle. Quelle chance inouïe j'ai eu de pouvoir observer cette espèce pendant plus de trois ans...



Tableau illustrant mes expériences d'orientation individuelle (chapitre 2), peint par Bruno Luperini.

SOMMAIRE

Introduction générale.....	15
I. Le fourragement chez les fourmis	18
I. 1. Stratégies de fourragement : du fourragement solitaire au recrutement de masse	18
I. 2. Organisation du travail.....	19
I. 3. Prises de décision.....	20
I. 4. Compétition	22
I. 4. 1. Exploration collective et territorialité.....	22
I. 4. 2. Structures construites.....	22
II. Le comportement d’approvisionnement chez les fourmis coupeuses de feuilles	23
II. 1. Généralités sur les fourmis coupeuses de feuilles	23
II. 2. Relation symbiotique fourmi-champignon	23
II. 3. Substrats récoltés	25
II. 4. Division du travail et répartition des tâches.....	27
II. 5. Activité de récolte	31
II. 5. 1. Rythme d’activité	31
II. 5. 2. Recrutement.....	31
II. 5. 3. Efficacité du fourragement	32
II. 5. 4. Structures utilisées lors du fourragement	33
II. 6. Importance de l’étude des fourmis coupeuses de feuilles : impact économique et écologique.....	34
III. Objectifs de la thèse	35
Chapitre 1 - Pistes physiques : dynamique de construction et aspect fonctionnel.....	37
I. Introduction	39
II. Matériels et méthodes.....	41
II. 1. Site d’étude	41
II. 2. Protocole expérimental et données récoltées	42
II. 3. Mesure de la vitesse de déplacement des fourmis	45
II. 4. Estimation de la biomasse découpée lors de la construction d’une piste	45
II. 5. Evaluation de l’impact de la pluie	45
II. 6. Rhizomes	46
II. 7. Analyses statistiques	46

III. Résultats	47
III. 1. Temps de construction des pistes physiques.....	47
III. 2. Dynamique de construction	47
III. 3. Estimation de la biomasse découpée lors d'une construction de piste	50
III. 4. Evaluation des effets de la pluie	50
III. 5. Diamètres des rhizomes	51
III. 6. Vitesse et efficacité de transport.....	51
IV. Discussion	55
IV. 1. Temps de construction	55
IV. 2. Dynamique de construction	57
IV. 3. Vitesse et efficacité du transport de charges.....	58
V. Conclusion.....	59
Chapitre 2 - Orientation sur les pistes d'approvisionnement : étude au niveau individuel et collectif	61
I. Introduction	63
II. Matériels et méthodes.....	66
II. 1. Construction d'une nouvelle piste	66
II. 2. Orientation individuelle	67
II. 3. Analyses statistiques	68
III. Résultats	69
III. 1. Construction d'une nouvelle piste	69
III. 2. Orientation individuelle	70
IV. Discussion	72
V. Conclusion.....	76
Chapitre 3 - Fonctions des tunnels d'approvisionnement : étude comparée de la thermotolérance chez deux espèces sympatriques de fourmis coupeuses de feuilles.....	77
I. Introduction	79
II. Matériels et méthodes.....	80
II. 1. Site d'étude et matériel biologique	80
II. 2. Protocole expérimental et données récoltées	80
II. 3. Analyses statistiques	81
III. Résultats	82
IV. Discussion	84
V. Conclusion.....	86

Chapitre 4 - Rôle des contacts entre ouvrières dans la régulation du recrutement alimentaire	87
I. Introduction	89
II. Matériels et méthodes.....	92
II. 1. Conditions d'élevage	92
II. 2. Dispositif expérimental.....	93
II. 3. Mesures effectuées.....	97
II. 4. Analyses statistiques	98
III. Résultats	98
III. 1. Nombre de fourmis sortantes.....	99
III. 2. Efficacité du fourragement	101
III. 3. Comparaison de l'efficacité du fourragement en phase contrôle entre les expériences avec flux unidirectionnel et bidirectionnel.....	104
IV. Discussion	106
IV. 1. Recrutement.....	106
IV. 2. Efficacité du fourragement	107
V. Conclusion.....	109
Chapitre 5 - Impact de la familiarité sur les préférences alimentaires	111
I. Introduction	113
II. Matériels et méthodes.....	115
II. 1. Conditions d'élevage	115
II. 2. Expériences de choix simultanés	115
II. 3. Expériences de choix séquentiels (Fig. 1)	116
II. 4. Analyses statistiques	118
III. Résultats	119
III. 1. Choix simultanés.....	119
III. 2. Choix séquentiels – flux de fourmis	120
III. 3. Choix séquentiels – comportement de dépôt de phéromone de piste	121
IV. Discussion	124
V. Conclusion.....	127
Chapitre 6 - Rôle des ouvrières et du champignon symbiote sur les préférences alimentaires.....	129
I. Introduction	131
II. Matériels et méthodes.....	133

II. 1. Conditions d'élevage	133
II. 2. Protocole expérimental	134
II. 3. Analyses statistiques	138
III. Résultats	139
III. 1. Tests de choix	139
III. 2. Consommation totale	141
III. 3. Mortalité.....	143
IV. Discussion	144
V. Conclusion.....	145
Discussion générale	147
Références bibliographiques	155
Annexe - Comparative study of resistance to heat in two species of	187
leaf-cutting ants	187

Introduction générale

La recherche de nourriture est un comportement fondamental pour la survie de toute espèce animale. Parce que l'environnement naturel est hétérogène (conditions météorologiques, type de terrain sur lequel les animaux se déplacent, nombre de prédateurs, de parasites, etc.), et que les ressources alimentaires sont très souvent dispersées, changeantes, et différentes en taille, qualité et quantité, les animaux sont amenés à faire de nombreux choix stratégiques pour s'alimenter.

De nombreux travaux sur la recherche de nourriture chez l'animal se situent dans le cadre théorique de la théorie de l'approvisionnement optimal (*optimal foraging theory*) établie par Mac-Arthur et Pianka en 1966. Cette théorie prédit que l'énergie dépensée par l'animal lors de la recherche de nourriture doit être compensée par l'énergie qu'il gagne en s'alimentant. L'efficacité de la recherche de nourriture fait généralement appel à de nombreux compromis (qualité de la nourriture vs risque de prédation, par exemple), et une mauvaise décision prise peut être fatale à l'animal (Stephens et al. 2007).

Les animaux peuvent consommer leurs aliments sur place, mais peuvent également les transporter dans leurs nids ou gîtes. On parle alors de recherche de nourriture centralisée (*central place foraging*), décrite en 1979 par Orians et Pearson. Puisque ces animaux doivent effectuer de nombreux trajets entre leurs gîtes et les sites de recherches alimentaires, la distance devient un paramètre important lors des prises de décision. Ainsi, ces auteurs ont établi trois grandes prédictions en fonction de la distance à laquelle se trouve la nourriture et de l'énergie dépensée: comme le transport de charges engendre une dépense d'énergie supplémentaire, le trajet de retour au gîte doit être plus court que celui de l'aller (1) ; plus la distance augmente, plus la quantité de nourriture transportée par l'animal doit être importante (2), et plus le temps passé sur le site de fourrage à chercher de la nourriture doit être également important (3).

La recherche de nourriture chez les animaux vivant en groupe et pratiquant la recherche de nourriture centralisée possède de nombreux avantages (quantité de nourriture récoltée plus importante, protection contre les prédateurs, etc.). Cependant, cette recherche est également plus complexe et les prises de décisions plus difficiles, car elles sont liées au comportement des congénères et impliquent une communication efficace entre individus (Detrain et Deneubourg 2008). La recherche de nourriture est particulièrement intéressante à étudier chez les insectes sociaux, car un seul groupe d'individus, les fourrageuses, récolte de la nourriture pour toute la colonie. De plus, ces individus sont stériles et la totalité de leur activité à l'extérieur

du nid est donc liée à l'approvisionnement. Les choix effectués ne se font plus en fonction de leurs propres survies, mais en fonction de la survie de la colonie (Hölldobler et Wilson 1990).

I. Le fourragement chez les fourmis

I. 1. Stratégies de fourragement : du fourragement solitaire au recrutement de masse

Le fourragement solitaire est assez rare chez les fourmis. Lorsque le fourragement est collectif, les individus peuvent récolter une quantité beaucoup plus importante de nourriture. Pour cela, ils ont alors besoin de recruter des congénères. Le recrutement, tel que le définissent Hölldobler et Wilson (1990), est une communication qui amène des congénères à un point spatialement défini où du travail est requis. Cette communication prend souvent la forme d'une combinaison de stimuli tactiles, chimiques et/ou acoustiques (stridulations) (Hölldobler et Wilson 1990). Il existe trois grands types de recrutement chez les fourmis:

- Le « tandem running » : la fourmi recrutée suit par contacts tactiles et chimiques la fourmi recruteuse jusqu'à la source de nourriture.
- Le recrutement de groupe : de la même façon que le « tandem running » la fourmi recruteuse va mener tout un groupe de recrutées à la source de nourriture, mais cette fois-ci les contacts tactiles ne sont pas obligatoires.
- Le recrutement de masse : les fourmis recrutées n'ont pas besoin de suivre la fourmi recruteuse pour se rendre sur la source de nourriture découverte, la piste chimique laissée par cette dernière suffit à induire la sortie du nid d'un grand nombre de fourmis (fig. 1).

Il est à noter que certaines espèces de fourmis ne se caractérisent pas par un seul type de recrutement. La fourmi *Ectatomma ruidum*, par exemple, chasse la plupart du temps en solitaire mais elle peut présenter un recrutement de masse en fonction de la quantité de proies disponibles dans le milieu (Schatz et al. 1997); il en est de même pour la fourmi *Tetramorium caespitum* qui peut passer du recrutement de groupe au recrutement de masse en fonction de la qualité des ressources (Collignon et Detrain 2010).

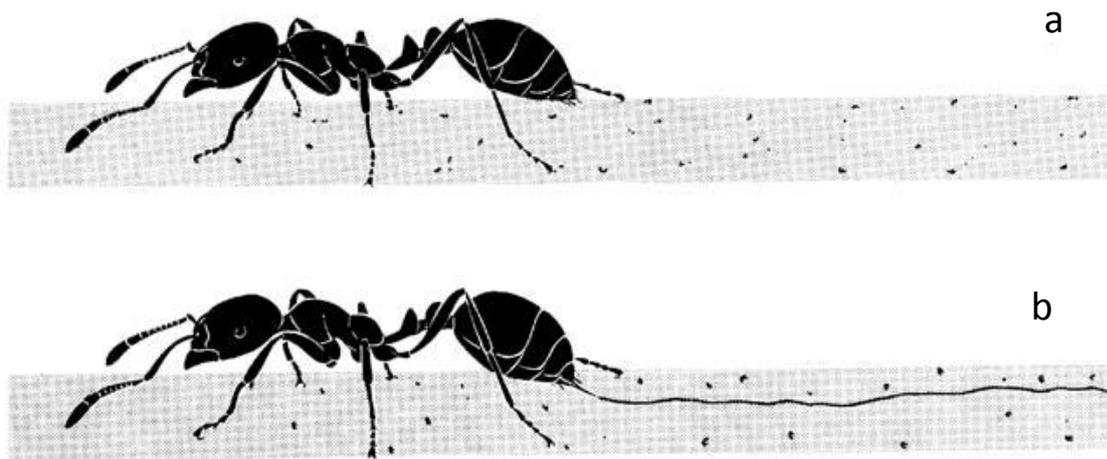


Figure 1 : Comportement de dépôt de la phéromone de piste par la fourmi de feu *Solenopsis invicta*. La fourmi se déplace sur une vitre recouverte de suie, en l'absence de nourriture (a), seules les traces de ses pattes sont visibles ; en présence de nourriture (b), la fourmi abaisse son abdomen sur la surface pour y déposer de la phéromone, la trace de son aiguillon est alors visible sur la vitre (d'après Hölldobler et Wilson, 1990).

I. 2. Organisation du travail

La division du travail, ou polyéthisme, traduit l'existence de groupes d'individus au sein de la colonie spécialisés dans la réalisation d'une ou plusieurs tâches. Cette division du travail peut se faire en fonction de l'âge des individus (polyéthisme d'âge) et/ou en fonction de leurs tailles (existence de castes morphologiques). Le polymorphisme des ouvrières, lorsqu'il existe, s'accompagne généralement d'un polyéthisme et participe à l'amélioration de l'efficacité du fourrageage. En effet, les fourmis de très grandes tailles sont souvent impliquées dans la défense de la colonie (soldats). Mais le polymorphisme intervient aussi dans la division du travail chez les individus spécialisés dans le fourrageage : selon les principes d'ergonomie, les fourrageuses devraient transporter des charges de nourriture dont le poids est proportionnel à leur taille (*size-matching*), ce qui permettrait d'optimiser l'énergie impliquée dans le transport (Traniello 1989b) et de diversifier le régime alimentaire de la colonie (Wetterer 1995). Or, bien que souvent observé chez de nombreuses espèces, ce n'est pas toujours le cas (revue : Traniello 1989b).

L'organisation du travail chez les fourmis peut être complétée par la répartition des tâches (*task allocation*), définie par Jeanne (1986) comme la réalisation d'une tâche subdivisée

séquentiellement en sous-tâches impliquant un transfert de matériel. La répartition des tâches est assez rare lors des activités d'approvisionnement chez les fourmis (Anderson et al. 2002). Les performances de récolte de nourriture sont améliorées par ce type d'organisation car il favorise le transfert d'information lié à la nourriture transportée. De plus, les fourmis se déplacent sur de plus petites portions de terrain. De ce fait elles pourraient se familiariser plus rapidement avec les hétérogénéités liées au terrain et éviter les embouteillages (Anderson et al. 2002). Mais il a aussi été montré que les fourmis qui utilisent la répartition des tâches lors de leur activité de récolte perdent beaucoup de temps lors des transferts, et que ceux-ci limitent le choix de la nourriture à transporter à un petit nombre d'individus (Anderson et Ratnieks 1999; Anderson et al. 2002). Il semblerait en fait que la répartition des tâches ne soit efficace lors du fourragement que dans le cas de grandes colonies (Ratnieks et Anderson 1999).

I. 3. Prises de décision

Les fourmis qui utilisent une stratégie de fourragement de type solitaire, décident elles-mêmes de la direction à prendre pour la recherche de nourriture, en fonction de leurs propres capacités cognitives (Hölldobler et Wilson 1990). En effet, ces fourmis reviennent toujours sur les sites où elles ont trouvé de la nourriture précédemment et elles intensifient leur recherche sur les périmètres des sites qui leur ont procuré les quantités de nourriture les plus importantes (Bolek et al. 2012).

Lorsque les fourmis fourragent collectivement, les prises de décisions s'effectuent de manière décentralisée, par interactions directes et/ ou indirectes entre individus. Les décisions prises sont donc le résultat d'un processus d'auto organisation qui s'effectue grâce à des rétroactions positives et négatives (revue : Detrain et Deneubourg 2008 ; Jeanson et al. 2012). La piste chimique déposée par les ouvrières a un rôle primordial lors de ces choix collectifs. Son dépôt lors de la découverte d'une source de nourriture par la fourmi recruteuse, puis par les fourmis recrutées par la suite, constitue une rétroaction positive qui permet le recrutement d'un nombre de plus en plus important de fourmis. L'arrêt du dépôt de la piste chimique constitue alors une rétroaction négative qui a pour conséquence l'extinction progressive du recrutement. Les fourmis sont ainsi capables de prendre de véritables décisions collectives, par exemple de sélectionner le chemin le plus court entre deux chemins de longueur différente, par simple rétroaction positive, sans qu'aucune modulation du signal chimique n'intervienne. Dans un premier temps les fourmis empruntent les deux chemins de la même façon. Cependant, les fourmis qui reviennent par le chemin le plus court reviennent plus vite. Ainsi la piste chimique

déposée sur le chemin le plus court sera plus rapidement accessible, plus rapidement choisie, et donc encore plus renforcée par le marquage chimique (Deneubourg et Goss 1989; Goss et al. 1989; Beckers et al. 1992). Les fourmis peuvent également moduler leur comportement de dépôt de piste chimique, soit en modifiant l'intensité de leur marquage (Jackson et Châline 2007), soit en décidant d'exprimer ou non ce comportement (Mailleux et al. 2003). Cette modulation leur permet de choisir une ressource en fonction de sa qualité (Beckers et al. 1993; Portha et al. 2002; Mailleux et al. 2003; Jackson et Châline 2007; Collignon et Detrain 2010), de son volume (Breed et al. 1996; Mailleux et al. 2000; Mailleux et al. 2003), de sa quantité (Detrain et Deneubourg 1997; Lenoir 2002), ou encore de la distance à laquelle elle se trouve par rapport au nid (Devigne et Detrain 2006). D'autres signaux, en plus de la piste chimique, peuvent également moduler le choix des fourmis. Les stridulations émises par certaines espèces de fourmis lors de la récolte (Roces et al. 1993; Roces et Hölldobler 1996; Grasso et al. 1999), ou encore les phéromones d'alarme émises par les pucerons élevés par les fourmis (Verheggen et al. 2012), peuvent par exemple moduler aussi les décisions des fourmis. L'encombrement d'une piste, lié à un trafic trop important, oriente les fourmis vers le choix d'une autre piste (Dussutour et al. 2004), mais il réduit également le comportement de dépôt de piste chimique (Czaczkes et al. 2013b) et aura l'effet d'une rétroaction négative sur le recrutement, et donc sur le fourragement. Enfin, l'environnement physique peut moduler la prise de décision chez les fourmis, car la nature et les hétérogénéités du terrain peuvent affecter le taux d'évaporation de la piste chimique (Detrain et al. 2001; Jeanson et al. 2003).

Il est important de souligner que, même lorsqu'il s'agit de décisions collectives, les capacités cognitives des individus sont mises à contribution. De la même manière que pour les fourrageuses solitaires, on observe par exemple une fidélité aux pistes de fourragement chez de nombreuses espèces de fourmis: les ouvrières choisissent d'emprunter préférentiellement les pistes au bout desquelles elles ont trouvé de la nourriture au cours de leur sortie précédente (Rosengren 1971; Hölldobler 1976; Quinet et Pasteels 1996; Salo et Rosengren 2001; Greene et Gordon 2007a; Beverly et al. 2009; Elizalde et Farji-Berner 2012). De plus, lorsque les informations spatiales personnelles (mémoire) se trouvent en conflit avec les informations sociales (piste chimique), certaines fourmis effectuent leur choix exclusivement en fonction de leur mémoire (Czaczkes et al. 2011).

I. 4. Compétition

I. 4. 1. Exploration collective et territorialité

En plus de la phéromone de piste, les zones de fourragement peuvent être marquées lors de l'exploration, de manière active ou de manière passive, par les traces d'hydrocarbures cuticulaires laissées par les fourmis qui s'y déplacent (Hölldobler et Wilson 1990). Ce marquage, appelé « *home-range marking* », permet aux colonies de reconnaître les zones de fourragement disponibles (Hölldobler et Wilson 1990), mais sert également d'indices d'orientation aux fourmis (Hölldobler 1976; Cammaerts et Cammaerts 1987), augmente leur vitesse de déplacement (Cammaerts et Cammaerts 1996), et permet le partitionnement des ressources entre colonies (Devigne et Detrain 2002). Pour éviter la compétition entre colonies, certaines espèces établissent un véritable territoire autour de leur nid, en y déposant une phéromone qualifiée de territoriale (Jaffé et Puche 1984). Les limites de ce territoire peuvent varier dans le temps et l'espace, en fonction des ressources exploitées par les fourmis, ou elles peuvent être fixées de façon permanente quand les ressources sont stables dans le temps et l'espace (Hölldobler et Wilson 1990).

I. 4. 2. Structures construites

Les fourmis peuvent construire des structures, en dehors de leur nid, qui facilitent leur activité d'approvisionnement (revue : Anderson et McShea 2001). Ainsi, pour se déplacer plus vite et assurer un transport plus efficace, certaines espèces construisent des pistes physiques qui les mènent du nid aux ressources exploitées. Pour se protéger des conditions climatiques (dessiccation, pluie, etc.) qui peuvent entraver leur activité d'approvisionnement, les fourmis peuvent aussi construire des tranchées, des galeries, et des tunnels de fourragement reliant le nid aux ressources. Elles peuvent également construire des abris à proximité des ressources, leur permettant ainsi de s'y réfugier lorsque les conditions météorologiques se dégradent. Enfin, pour protéger leurs ressources des mauvaises conditions météorologiques, de la prédation ou des parasites, comme cela peut être le cas pour les fourmis qui se nourrissent du miellat de pucerons par exemple, les fourmis peuvent construire des structures dans lesquelles elles mettent à l'abri leurs organismes mutualistes, ou encore recouvrir leur proies sur les pistes lorsqu'elles n'arrivent pas à les déplacer rapidement.

II. Le comportement d'approvisionnement chez les fourmis coupeuses de feuilles

II. 1. Généralités sur les fourmis coupeuses de feuilles

Les fourmis champignonnistes appartiennent à la sous-famille des Myrmicinae et font partie de la tribu des Attines qui regroupe 230 espèces réparties en 12 genres (Hölldobler et Wilson, 2010). Ces fourmis sont présentes exclusivement dans le Nouveau Monde et leur répartition géographique s'étend depuis l'Argentine jusqu'au sud des Etats-Unis. Deux genres sont appelés fourmis coupeuses de feuilles. Il s'agit des fourmis du genre *Acromyrmex* (24sp) et des fourmis du genre *Atta* (15sp). Les fourmis coupeuses de feuilles sont monogynes, territoriales, et vivent en symbiose avec le champignon *Leucoagaricus gongylophorus* (basidiomycète) qu'elles cultivent en lui apportant principalement du substrat végétal frais, pour s'en nourrir ensuite. Cette symbiose est le résultat d'une coévolution datant de plus de 50 millions d'années. Une colonie d'*Atta* peut atteindre plusieurs millions d'individus. Le nombre d'individus d'une seule colonie d'*Atta laevigata* a par exemple été estimé à plus de 3,5 millions d'individus, le record étant détenu par *A. vollenweideri* avec plus de 7 millions d'individus (Hölldobler et Wilson 2010). Les nids souterrains qu'elles construisent pour abriter leurs ouvrières ainsi que leur champignon symbiotique sont donc de tailles considérables. En déversant du ciment dans les entrées principales des nids, Moreira et al. (2004) ont montré qu'un nid d'*A. laevigata* peut mesurer jusqu'à 67,2 m³ et posséder près de 7864 chambres (contenant du champignon ou des déchets) dont le volume peut varier entre 0,03 et 51 litres. Toutes les chambres sont interconnectées par des tunnels pouvant se trouver à plus de 7 m de profondeur dans le sol. Les excavations des nids d'*Atta* ont révélé des différences d'architecture selon les espèces étudiées (Weber 1972; Moreira et al. 2004a; Moreira et al. 2004b).

II. 2. Relation symbiotique fourmi-champignon

Pour étudier le comportement de récolte des fourmis coupeuses de feuilles, il est important de comprendre les relations symbiotiques qui unissent les fourmis à leur champignon dans le cadre de leur alimentation. Les mycéliums, ou filaments du champignon, se développent sur le substrat préparé par les ouvrières (une fois récolté dans leur environnement par les fourrageuses, les ouvrières vont redécouper le substrat végétal en plus petits morceaux à l'intérieur du nid, mastiquer ces morceaux, et y déposer une gouttelette fécale avant de les insérer dans la meule à champignon). Certains mycéliums produisent à leurs extrémités des structures par renflement du filament. Ces structures, appelées gongylidia, sont riches en lipides et en glucides. Les larves se nourrissent exclusivement de ces gongylidia. Les ouvrières en

consomment également, mais elles peuvent aussi consommer les mycéliums simples, ainsi que la sève présente dans les feuilles qu'elles ingèrent lors de la découpe de celles-ci à l'extérieur du nid ou lors de la préparation du substrat (Quinlan et Cherrett 1979), et *via* la trophallaxie entre ouvrières (Richard et Errard 2009). Quant à la reine, elle semble se nourrir exclusivement des œufs trophiques pondus par les ouvrières (Hölldobler et Wilson 2010). Jusqu'à récemment, il était admis que le champignon digérait la cellulose contenue dans les fragments végétaux rapportés au nid par les ouvrières. Or, une étude menée par Abril et Bucher en 2002, et confirmée plus tard par Silva et al. (2006) et Moller et al. (2011), a démontré que le champignon ne digérait pas la cellulose et était incapable de se développer en milieu de culture contenant uniquement de la cellulose. Le champignon digère en fait d'autres nutriments présents dans les végétaux, principalement des glucides tel que l'amidon ou la pectine (Richard et al. 2005; Moller et al. 2011; Bacci et al. 2013; Licht et al. 2013). Ainsi, le champignon peut se développer au laboratoire sans les fourmis, dans des milieux de culture contenant différentes sources de carbone et d'azote (Abril et Bucher 2004; Loeck et al. 2004; Silva et al. 2006). Le champignon produit les enzymes nécessaires à la digestion des nutriments dans les gongylidia (Bacci et al. 2013; Licht et al. 2013). Les ouvrières les ingèrent sans altérer leurs structures et les déposent sur les fragments végétaux au cours du processus de préparation *via* des gouttelettes fécales. Ce comportement de dépôt de fèces n'est donc pas un simple apport d'engrais comme souvent décrit dans la littérature, mais fait partie intégrante du processus de digestion du substrat végétal. Les fourmis insèrent le substrat végétal à la périphérie de la meule à champignon afin d'induire son développement et sa croissance. Mais c'est au centre de la meule que la quantité de mycéliums, et donc de gongylidia, est la plus importante. Grace à ce comportement de dépôt de gouttelettes fécales lors de la préparation du substrat, les fourmis acheminent les enzymes de digestion sur les parties en croissance du champignon, peu denses en mycélium et donc possédant de très faibles quantités d'enzymes (Licht et al. 2013).

La symbiose entre les fourmis et le champignon inclut également d'autres acteurs : la bactérie du genre *Pseudonocardia* qui permet de lutter contre le champignon parasite *Escovopsis*, et une bactérie du genre *Klebsiella* qui permet de fixer l'azote atmosphérique (Hölldobler et Wilson 2010).

II. 3. Substrats récoltés

Les fourmis coupeuses de feuilles peuvent exploiter un grand nombre d'espèces de plantes. Une seule colonie d'*A. cephalotes* peut par exemple exploiter plus de 36 espèces de plantes en l'espace de 9 semaines (Cherrett 1968). La récolte d'une végétation diversifiée induit une meilleure croissance et survie des colonies (Vieira-Neto et Vasconcelos 2010). Cependant, malgré leur capacité à exploiter un grand nombre d'espèces, les fourmis montrent de fortes préférences pour certaines plantes. Ainsi, Rockwood (1977) et Rockwood et Hubbell (1987) ont montré que sur la trentaine d'espèces exploitées par une colonie de fourmis, les ouvrières concentrent 87% de leur activité de fourragement sur seulement 10 espèces. Les fourmis récoltent principalement du substrat végétal frais (feuilles, fleurs et/ou herbes selon les espèces), mais peuvent également récolter du substrat végétal sec, des graines, et des fèces d'autres insectes (revue : Licht et Boomsma 2010). De nombreuses études, quelquefois contradictoires, ont tenté d'expliquer les préférences observées par les caractéristiques physiques et chimiques des plantes récoltées.

Concernant les caractéristiques physiques, les fourmis *A. cephalotes* et *A. laevigata* semblent préférer récolter de jeunes feuilles tendres (Cherrett 1972; Nichols-Orians et Schultz 1989; Nichols-Orians 1992; Mundim et al. 2009) car plus faciles à découper : quand les feuilles leur sont offertes prédécoupées, cette préférence disparaît (Nichols-Orians et Schultz 1989). Cependant Howard (1988) ne trouve aucune corrélation entre la palatabilité des feuilles et ce facteur dans son étude sur *A. cephalotes*. L'absence de trichomes sur les feuilles semble être aussi un critère de préférence pour *A. cephalotes* et *A. sexdens* (Howard 1988; Kitayama et al. 2010). Toutefois, deux études réalisées au laboratoire avec des substrats synthétiques (comme par exemple du plastique ou de l'éponge recouverts d'une substance attractive), démontrent que les fourmis lors du fourragement n'effectuent pas leur choix en fonction de ces critères physiques, mais qu'une sélection en fonction de ces critères s'effectue par la suite, pendant la phase de préparation du substrat (*Acromyrmex subterraneus* : Camargo et al. 2004; *A. sexdens* : Verza et al. 2007).

Concernant les critères chimiques, le contenu en eau dans les feuilles semble être un critère de sélection (*A. colombica* : Bowers et Porter 1981; Howard 1990, *A. cephalotes* : Cherrett 1972) puisque les fourmis coupeuses de feuilles collectent également de l'eau en plus du substrat végétal (Ribeiro et Navas 2008). Paradoxalement, il a été montré que les fourmis préfèrent récolter des feuilles en état de stress hydrique (*A. colombica* : Meyer et al. 2006; *A.*

sexdens et *A. cephalotes* : Neto et al. 2012) car ces feuilles présentent une accumulation d'osmolytes (saccharose et proline) qui sont sources de nutriments pour les fourmis et le champignon (Meyer et al. 2006). A noter toutefois que ceci est en contradiction avec les résultats d'Howard (Howard 1988; Howard 1990) qui a montré que les fourmis *A. cephalotes* et *A. colombica* ne sélectionnent pas leur feuilles en fonction des nutriments qu'elles contiennent. Les auteurs qui se sont attachés à étudier l'impact sur les préférences des fourmis coupeuses de feuilles des concentrations de divers composés chimiques ont trouvé que l'azote (*A. colombica* : Howard 1990; *A. cephalotes* : Berish 1986; *A. laevigata* : Mundim et al. 2009) et le phosphore (Berish 1986; Mundim et al. 2009) contenus dans les feuilles influençaient significativement leur préférences. Etonnamment, le chlorure de sodium semble aussi être un composé attractif pour les fourmis (*A. cephalotes* : O'Donnell et al. 2010). Certaines substances répulsives peuvent clairement orienter le choix des fourmis vers d'autres plantes, tel que les terpenoïdes (*A. cephalotes* : Hubbell et al. 1983; Hubbell et al. 1984; Howard et al. 1988), les cires (*A. cephalotes* : Hubbell et al. 1984, *A. sexdens* : Salatino et al. 1998), le latex (*A. cephalotes* : Stradling 1978), ou encore les composés organiques volatiles émis par les plantes pour leur défense, incluant ceux dont l'émission est provoquée par l'attaque des fourmis coupeuses de feuilles (*A. colombica* : Kost et al. 2011). Le tannin ne semble pas être un critère de sélection pour *A. colombica* (Howard 1990), mais à fortes concentrations il est répulsif pour *A. cephalotes* (Nichols-Orians 1991a, 1991b, 1992) car il inhibe la croissance du champignon (Nichols-Orians 1991a), alors que sa forme hydrolysable semble être préférée (Howard 1988). Enfin, la présence d'autres organismes, tels que les champignons endophytes présents dans les feuilles (Estrada et al. 2013), ou encore la présence de fourmis *Azteca alfari* défendant leurs arbre (Vasconcelos et Casimiro 1997), orientent la récolte des fourmis coupeuses de feuilles vers d'autres ressources.

Il est très difficile au vu de ces résultats de conclure de façon certaine sur l'existence d'éléments attractifs ou répulsifs qui expliqueraient les préférences des fourmis coupeuses de feuilles pour l'une ou l'autre des espèces de plantes qu'elles exploitent. Les différents types d'analyses réalisées d'une étude à l'autre sur les feuilles ne sont pas exhaustives : une espèce de plante peut très bien posséder un élément attractif pour les fourmis qui peut être contrebalancé par un élément répulsif présent en plus grande concentration. En outre, la plupart de ces études ont été réalisées sur le terrain : les espèces de plantes étudiées peuvent présenter différentes variétés et la composition des feuilles peut changer d'un environnement à un autre, d'un arbre à un autre, mais également au sein d'un même arbre (Howard 1990). Les espèces de

fourmis étudiées sont également différentes et les tailles des colonies, ainsi que l'état du champignon, ne peuvent pas être contrôlés lors des études de terrain et peuvent possiblement influencer le choix du substrat récolté.

En plus des fortes préférences exprimées pour certaines espèces de plantes, les fourmis coupeuses de feuilles sont connues pour montrer quelquefois des patterns de fourragement allant à l'encontre de la théorie du fourragement optimal. Elles peuvent par exemple exploiter une ressource à plusieurs dizaines de mètres de leur nid alors qu'une ressource de même qualité apparente peut parfois se trouver à quelques mètres de celui-ci (Rockwood 1976; Rockwood 1977; Roces 2002). De plus, il est fréquemment observé que ces fourmis arrêtent soudainement d'exploiter une plante alors même qu'elle n'est pas totalement défoliée (Cherrett 1968; Fowler et Stiles 1980; Roces 2002). Trois théories sont généralement avancées pour expliquer de tels patterns de fourragement (décrites dans la revue de Roces 2002). La première, la théorie de l'approvisionnement optimal, pourrait expliquer que les fourmis exploitent une plante de meilleure qualité à une distance plus importante du nid par rapport à une plante de qualité médiocre proche du nid, et arrêtent de défolier une plante lorsqu'une autre de meilleure qualité est découverte. La deuxième, théorie de la conservation des ressources, pourrait expliquer ces mêmes phénomènes par le fait que les fourmis limitent délibérément les dégâts sur leur plantes préférées occasionnés par leur activité de récolte de façon à conserver des ressources « en réserve ». Enfin, la théorie de la balance nutritionnelle suggère que ces fourmis doivent régulièrement changer de plante exploitée pour équilibrer les nutriments requis par la colonie ou éviter l'accumulation trop importante de composés toxiques.

II. 4. Division du travail et répartition des tâches

Comme chez les abeilles (Robinson et Page 1988), il a été montré que la division du travail chez les fourmis coupeuses de feuilles peut être déterminée en partie génétiquement (Hughes et al. 2003; Hughes et Boomsma 2007). Du fait de la polyandrie qui caractérise ces espèces, les colonies sont en effet génétiquement très diversifiées, favorisant de ce fait l'émergence d'une division du travail (Constant et al. 2012). Ainsi, il a été montré que selon leur filiation patrilinéaire, certains individus ont tendance à s'engager dans certaines tâches plutôt que d'autres (Waddington et al. 2010). La patrilinéarité peut aussi influencer l'efficacité du fourragement : les ouvrières de certaines colonies, en fonction de leur patrimoine génétique, découpent des fragments plus ou moins gros de végétation et se déplacent plus ou moins vite (Constant et al. 2012).

Wilson (1980a; 1980b) a identifié chez l'espèce *A. sexdens* quatre castes d'ouvrières en fonction de leurs tailles, et sept en fonction de leurs âges, pour 29 tâches à réaliser au sein de la colonie, allant du comportement de transport des mycéliums (jeunes ouvrières dont la largeur de tête est de 0,008 mm) à la défense du nid (ouvrières âgées dont la largeur de tête est de plus de 3 mm). Le polymorphisme chez les *Atta* est continu, cependant au moins quatre castes principales peuvent quand même être différenciées (Wilson 1980a): les minors, les medias, les majors, et les soldats pour certaines espèces d'*Atta* (Fig. 2). Nous ne décrivons ici en détail que les tâches se déroulant à l'extérieur du nid, donc liées au fourragement.

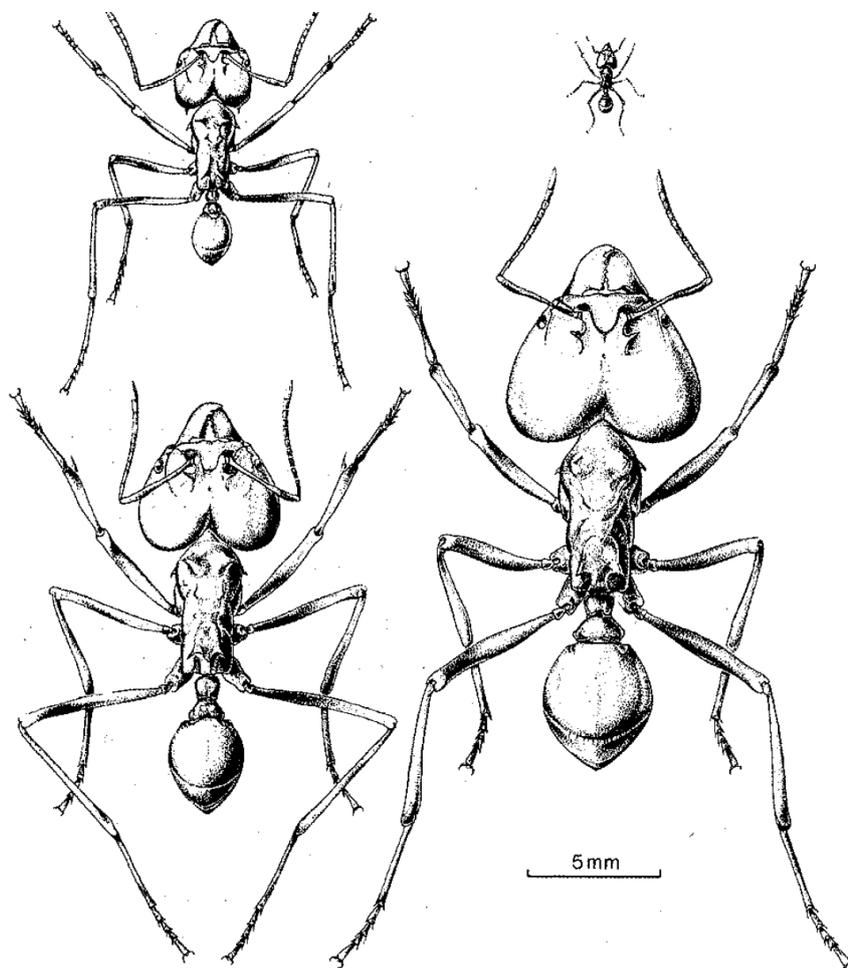


Figure 2 : Polymorphisme de l'espèce *Atta laevigata*. (D'après Hölldobler et Wilson, 2010).

Les jeunes ouvrières minors se trouvent à l'intérieur du nid et assurent l'entretien du champignon et du couvain (hygiène et alimentation). En vieillissant, ces ouvrières sortent à

l'extérieur du nid sur les pistes de fourragement. Cependant, elles n'ont jamais été observées en train de participer à l'activité de récolte. Plusieurs rôles leur ont été attribués lorsqu'elles se trouvent à l'extérieur du nid. Le premier concerne l'entretien de la piste chimique. Evison et al. (2008a) ont montré que les fourmis minors ont une fréquence de comportement de dépôt de phéromones plus important que les fourmis de plus grandes tailles et qu'elles effectuent plus d'aller-retour sur les pistes. Le second rôle des ouvrières minors serait lié à la défense de la colonie. Ces fourmis se caractérisent en effet par un seuil de réponse à la phéromone d'alarme beaucoup plus bas que les autres ouvrières (Hughes et Goulson 2001) et elles participent activement à la défense de la colonie lorsqu'elles se déplacent sur les pistes (Salzemann et Jaffé 1991). Enfin, ces fourmis sont souvent observées perchées sur les fragments de feuilles transportés par d'autres fourmis (*hitchiking behavior*) (Hölldobler et Wilson 2010). Ce comportement aurait un coût certain car il augmente de 12% le poids de la charge transportée et, par conséquent, réduit la vitesse des fourmis qui les transportent (Yackulic et Lewis 2007). Mais il présenterait aussi certains bénéfices pour la colonie. Trois fonctions principales lui ont été attribuées. Premièrement, les ouvrières minors grâce à ce comportement participent à la défense contre les mouches phorides parasitoïdes qui peuvent considérablement perturber l'activité de récolte de la colonie (Bragança et al. 1998; Tonhasca et al. 2001). Ces mouches pondent dans la tête des ouvrières de plus grandes tailles. En se perchant sur les fragments transportés, les ouvrières minors chassent activement ces parasitoïdes (Hölldobler et Wilson 2010). Deuxièmement, les ouvrières minors peuvent nettoyer les feuilles transportées et débiter ainsi le processus de préparation du substrat pour l'incorporation dans la meule à champignon (Vieira-Neto et al. 2006; Griffiths et Hughes 2010). Enfin, ce comportement permet aussi aux ouvrières minor de se nourrir de la sève des fragments de feuilles fraîchement découpés (Vieira-Neto et al. 2006).

Les jeunes ouvrières medias participent à l'intérieur du nid aux déplacements des larves et des nymphes de grandes tailles (Wilson 1980a). Les ouvrières medias plus âgées assurent pratiquement à elles seules la récolte de la végétation (découpe et transport), mais aussi la construction et l'entretien des pistes physiques (Howard 2001), et la défense du nid (Salzemann et Jaffé 1991). En fonction de leur taille, elles peuvent être plus ou moins spécialisées dans des tâches spécifiques de fourragement. Ainsi, les medias de grandes tailles sont impliquées dans la découpe des feuilles les plus dures (Tonhasca et Bragança 2000; Clark 2006). Selon les espèces étudiées, les médias de grandes tailles peuvent être également spécialisées dans la découpe (*A. vollenweideri* : Röschard et Roces 2003, *A. laevigata* : Vasconcelos et Cherrett

1996) ou le transport des charges (*A. cephalotes* : Hubbell et al. 1980). L'état d'usure de leurs mandibules peut également déterminer la tâche à effectuer. Une ouvrière media aux mandibules usées découpera plus lentement et dépensera plus d'énergie lors de la découpe. Par conséquent elle aura plus tendance à transporter les charges qu'à découper des fragments de feuilles (Schofield et al. 2011).

Les ouvrières majors et soldats peuvent participer éventuellement à la récolte (leurs puissantes mandibules leur permettraient de découper les fruits plus facilement (Evison et Ratnieks 2007)), et à l'entretien des pistes physiques (Howard 2001), mais leur rôle principal reste la défense du nid (Salzemann et Jaffé 1991). Peu de prédateurs s'attaquent aux fourmis coupeuses de feuilles, et les soldats sont peu présents sur les pistes de fourragement (Hölldobler et Wilson 2010). Les soldats sont produits par la colonie, uniquement lorsque celle-ci atteint la maturité (environ 4 ans) et commence à produire des individus sexués (Salzemann et Jaffé 1991). Ils restent d'ordinaire à l'intérieur du nid et ne sortent que pendant le vol nuptial, pour assurer la protection des sexués face aux vertébrés (Weber 1972). Pour qu'une fourmi major ou soldat ait un comportement agonistique envers un intrus se trouvant sur la piste, il faut que celui-ci soit préalablement marqué par de la phéromone d'alarme d'une fourmi media ou minor (Salzemann et Jaffé 1991). Par contre, en cas d'attaque de la colonie par des fourmis légionnaires (seules espèces capables d'éliminer une colonie mature d'*Atta*), les ouvrières majors et soldats sortent massivement du nid pour assurer sa défense (Powell et Clark 2004). Il en est de même pour les attaques de vertébrés, tel le fourmilier (Whitehouse et Jaffé 1996). Il semblerait donc que cette caste soit impliquée dans la défense du nid, uniquement lorsque des prédateurs menacent réellement la survie de la colonie.

Le polyéthisme de caste et d'âge chez les fourmis coupeuses de feuilles dépend du contexte. Ainsi, il a été montré que lorsque les colonies n'ont plus accès à une activité de fourragement, comme cela peut être le cas en conditions naturelles pour cause d'intempéries, ce polyéthisme disparaît et toutes les fourmis se retrouvent impliquées dans l'entretien du champignon et du couvain (*Acromyrmex octospinosus* : Muscedere et al. 2011).

Une répartition des tâches s'observe pour les nombreuses activités qui se déroulent au sein de la colonie : lors de la préparation du substrat avant l'insertion dans le champignon, pour l'évacuation des déchets, pour la construction du nid, mais aussi au cours de la migration, exceptionnelle, de la colonie (revue : Hart et al. 2002). Lors du fourragement, il existe une répartition des tâches entre la découpe et le transport chez certaines espèces : certaines ouvrières

découpent les fragments et les laissent tomber au sol, d'autres ouvrières les transportent ensuite vers le nid (*A. cephalotes* : Hubbell et al. 1980, *A. laevis* : Vasconcelos et Cherrett 1996, *A. colombica* : Hart et Ratnieks 2001). Pendant le transport, des transferts indirects de fragments sur les pistes peuvent être observés sous forme de « caches ». L'accumulation des fragments peut se faire à des endroits précis ou tout au long de la piste (Hölldobler et Wilson 2010). La formation de ces tas de fragments est souvent corrélée à la bifurcation d'une piste (Hubbell et al. 1980), mais aussi à des encombrements liés au trafic des fourmis, à la présence d'obstacles ou des pentes de la piste physique (Hart et Ratnieks 2001). De ce fait, Hart et Ratnieks (2001) en concluent que les transferts indirects sont plutôt accidentels et ne participent pas à l'amélioration de l'efficacité du fourragement. Des transferts directs de fragments entre ouvrières ont été observés mais restent extrêmement rares (Hubbell et al. 1980).

II. 5. Activité de récolte

II. 5. 1. Rythme d'activité

Les fourmis coupeuses de feuilles ont un cycle d'activité de fourragement saisonnier et journalier. Ce cycle n'est pas corrélé à la photopériode mais aux températures, à l'humidité, et aux précipitations, qui varient selon la localisation des études et l'espèce étudiée (Cherrett 1968; Lewis et al. 1974; Gamboa 1975; Wetterer 1990; Vasconcelos 2002).

II. 5. 2. Recrutement

Les fourmis coupeuses de feuilles utilisent le recrutement de masse. La phéromone de piste produite dans la glande à venin des ouvrières (première phéromone de piste de fourmis identifiée (Tumlinso et al. 1971) est composée de méthyl 4-méthylpyrrole-2-carboxylate. Elle sert de signal d'orientation vers les ressources mais aussi de signal de recrutement (Hölldobler et Wilson 2010). L'extraction de la phéromone de piste et l'utilisation de solution à différentes concentrations montre que plus la concentration de la phéromone sur la piste est importante, plus le nombre de fourmis sortant du nid est important (Jaffé et Howse 1979). Les fourmis modulent leur comportement de dépôt de phéromone en fonction de l'attractivité de la ressource (Jaffé et Howse 1979; Roces 1993; Roces et Nuñez 1993; Roces et Hölldobler 1994) et de l'état de motivation des ouvrières (Roces et Nuñez 1993; Roces et Hölldobler 1994). Les fourmis scouts modulent également leur comportement de dépôt de phéromone en fonction du substrat qu'elles ont découvert (Roces 1993; Roces et Nuñez 1993) et influencent le recrutement de

leurs congénères vers certains types de ressources (Howard et al. 1996; Lopes et al. 2004). Les scouts peuvent décider de déposer de la phéromone de piste sans avoir au préalable contacté le substrat, par simple apprentissage olfactif (Roces 1994). Les fourmis scouts ont donc un rôle primordial lors de la découverte d'une nouvelle ressource. Outre la phéromone de piste, les stridulations émises par les ouvrières lors de la découpe des feuilles servent de signal de recrutement (Roces et al. 1993).

II. 5. 3. Efficacité du fourragement

Selon les principes du fourragement optimal, une fois la source à exploiter choisie et le recrutement initié, les fourrageuses devraient toutes revenir au nid chargées, avec des fragments de feuilles proportionnés à leurs tailles. Or il n'en est rien.

Tous les auteurs ayant étudié l'activité de récolte chez les fourmis coupeuses de feuilles ont en effet systématiquement observé qu'une très grande proportion de fourmis revenait au nid non chargées (en général plus de 75 % des fourmis, Lugo et al. 1973). Plusieurs fonctions, non exclusives les unes des autres, ont été attribuées à ces fourmis. Ainsi, selon Howard (2001) cinq pourcent de ces fourmis seraient spécialisées dans des tâches de maintenance des pistes physiques, les 95% restant pouvant servir à la défense du territoire de la colonie (Salzemann et Jaffé 1991), au transport de sève (Stradling 1978) ou d'eau (Ribeiro et Navas 2008), ou encore au transfert d'information (Roces 1993; Rocés et Nuñez 1993; Howard 2001; Röschard et Rocés 2011). Enfin, Clark (2006) suggère que ces fourmis pourraient être tout simplement dans l'incapacité de transporter des fragments, car les fragments qu'elles auraient découpés ne seraient pas adaptés à leur taille.

Les fourrageuses revenant au nid chargées transportent généralement des fragments dont les tailles (Cherrett 1972; Rudolph et Loudon 1986; Rocés 1990; Wetterer 1990; Wetterer 1991; Wetterer 1994) ou les poids (Roces 1990) sont corrélés à leur propre taille. Cependant, ces corrélations ne sont pas toujours observées et les fragments transportés peuvent être plus petits ou plus légers que la charge optimale prédite par la taille de l'ouvrière (Burd 1995; Rocés 2002). En transportant des charges plus petites, le processus de préparation du substrat serait accéléré une fois les fragments à l'intérieur du nid (Burd 1996a; Burd 1996b; Burd et Howard 2005b; Burd et Howard 2008). La vitesse des fourmis étant liée à la charge transportée (Röschard et Rocés 2002), de plus petits fragments permettraient ainsi aux fourmis de revenir au nid plus vite pour initier le recrutement plus rapidement (Roces et Nuñez 1993; Rocés et

Hölldobler 1994; Bollazzi et Roces 2011). Mais le transport de petits fragments permettraient également de compenser le poids des ouvrières minores pouvant se trouver sur la feuille et de conserver une vitesse de déplacement optimale (Yackulic et Lewis 2007), ou de compenser les ralentissements provoqués par l'inclinaison de la piste (Lewis et al. 2008). Les fourmis pourraient également réduire la taille des fragments découpés si elles rencontrent des obstacles physiques sur les pistes, les empêchant de se déplacer sur celles-ci avec de gros morceaux (Dussutour et al. 2009b).

Enfin, la répartition des tailles des ouvrières sur les pistes peut être modulée par la ressource exploitée. Lorsque la ressource est constituée de feuilles plus dures à découper, on constate la présence de fourmis de grandes tailles sur la piste (Clark 2006). Lorsque des parasitoïdes sont présents sur les pistes ce sont par contre les fourmis de plus petites tailles qui seront présentes en plus grand nombre (Orr 1992; Erthal et Tonhasca 2000).

II. 5. 4. Structures utilisées lors du fourragement

Chez les fourmis coupeuses de feuilles, des tunnels de fourragement partant des nids sont creusés sous terre (Fig. 3). Ils peuvent mesurer de 4 à 48 cm de large, de 2 à 6 cm de hauteur, et sont de longueur variable, pouvant atteindre dans certains cas plus de 90 m (Hölldobler et Wilson 2010). Ces tunnels forment un réseau de fourragement souterrain, dont les ouvertures en surface peuvent être corrélées spatialement et temporellement avec la présence de ressources exploitables (da Silva et al. 2012). Leur fonction lors de la récolte est double : ils pourraient réduire le temps d'exposition des fourmis aux mouches phorides (da Silva et al. 2012) et aux températures élevées en les préservant ainsi de la dessiccation (Vasconcelos 1990). Ces tunnels débouchent sur des pistes physiques qui mènent vers les ressources (Fig. 3). Ces pistes sont construites et entretenues activement par les fourmis (Shepherd 1982; Howard 2001). Les fourmis coupeuses de feuilles établissent leur territoire à partir de ce réseau de pistes physiques, à l'aide d'une phéromone dite territoriale (Salzemann et Jaffé 1990).



Figure 3 : Structures utilisées lors de la récolte. Photo de gauche : piste physique d'*Atta laevigata*. Photo de droite : nid et tunnels de fourragement excavés d'une colonie d'*Atta capiguara*.

II. 6. Importance de l'étude des fourmis coupeuses de feuilles : impact économique et écologique

De par la taille gigantesque de leurs colonies et leur mode d'alimentation, les fourmis coupeuses de feuilles sont considérées en Amérique du Sud comme le principal ravageur de culture. Au cours du XIX^{ème} siècle, le botaniste français Auguste de Saint Hilaire a même prononcé cette fameuse phrase lors d'un voyage au Brésil : « *ou le Brésil élimine la saúva [Atta], ou la saúva élimine le Brésil* ». La perte économique causée par ces fourmis a été estimée à plusieurs milliards de dollars par an (Hölldobler et Wilson 1990). De ce fait, de très nombreuses études incluant l'utilisation d'insecticides et de fongicides, entre autres, sont entreprises chaque année dans le but de contrôler ces espèces (revue : Della Lucia et al. 2014). Néanmoins, au cours de ces 20 dernières années, des études ont montré le rôle important de ces fourmis dans les écosystèmes tant comme agent de dispersion de graines (Farji-Brener et Silva 1996) que pour l'apport de nutriments dans le sol (Farji-Brener et Silva 1995), et par conséquent l'apport de nutriments au sein des plantes à proximité des nids (Sousa-Souto et al. 2007; Sternberg et al. 2007). De plus, la défoliation des arbres par ces fourmis contribue également en elle-même à l'enrichissement de la biodiversité : la défoliation crée des trous dans la canopée

qui entraînent une luminosité plus importante, ce qui a pour conséquence de tripler la densité des jeunes pousses au niveau du sol et de doubler sa diversité (Correa et al. 2010).

III. Objectifs de la thèse

Les fourmis coupeuses de feuilles, du fait de la relation symbiotique qu'elles entretiennent avec leur champignon, possèdent certainement l'organisation la plus complexe de toutes les espèces de fourmis (Hölldobler et Wilson 2010). Leur activité d'approvisionnement est également très complexe, et leur pattern de fourragement, tel qu'il est observé en conditions naturelles, soulève de nombreuses interrogations. Depuis plus de 40 ans, de nombreuses études ont tenté de répondre à ces questions, sans jamais y parvenir de façon convaincante. C'est dans ce cadre d'étude que se positionne cette thèse.

L'objectif général de cette thèse de doctorat a donc été d'étudier le comportement d'approvisionnement de ces fourmis d'un point de vue global, en appréhendant les multiples aspects de ce comportement par une combinaison d'expériences réalisées au laboratoire et sur le terrain. Nous nous sommes intéressés aux infrastructures mises en place par les fourmis et qui sont impliquées dans l'activité de récolte (pistes physiques et tunnels de fourragement), à la modulation des différents signaux impliqués dans le recrutement (piste chimique et contacts entre ouvrières), et enfin aux choix des substrats récoltés.

Dans un premier temps nous avons caractérisé la vitesse et la dynamique de construction des pistes physiques et étudié l'impact de celles-ci dans l'activité de récolte. Nous avons ensuite évalué les aspects cognitifs liés à ces pistes physiques, le lien possible entre la mémoire spatiale des individus et le tracé suivi par ces pistes ainsi que le rôle qu'elles pourraient jouer dans l'orientation des fourmis lors de l'activité de récolte. Enfin, nous nous sommes intéressés au rôle des tunnels de fourragement. Une des hypothèses que nous avons testée est que le coût énergétique de construction de ces tunnels pourrait être compensé par le bénéfice qu'en retirent les fourmis, par exemple une moindre exposition au stress hydrique. Pour ce faire nous avons comparé la résistance à la chaleur de deux espèces de fourmis coupeuses de feuilles vivant dans le même environnement mais ayant une architecture de nid différente.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à la nature et aux mécanismes de modulation des signaux de communication échangés sur les pistes de fourragement, et à leur impact sur le recrutement et sur l'efficacité du fourragement, en étudiant le rôle respectif de la piste chimique et des contacts entre ouvrières sur ces pistes.

Enfin, dans un troisième et dernier temps, nous avons étudié le déterminisme du choix des substrats collectés. Nous avons d'abord testé le choix des fourmis en fonction du caractère familier ou non du substrat proposé, puis nous avons tenté de déterminer si le choix exprimé par les fourmis pouvait résulter d'un compromis entre les besoins nutritionnels du champignon et/ ou des ouvrières.

Chapitre 1 - Pistes physiques : dynamique de construction et aspect fonctionnel

I. Introduction

La locomotion des insectes est facilitée lorsqu'ils se déplacent sur un substrat lisse et sans obstacle. Ainsi en forêt, milieu particulièrement hétérogène et encombré, beaucoup d'espèces de fourmis choisissent de se déplacer sur des ponts naturels tels que des lianes ou des branches tombées au sol, qui représentent des substrats lisses et linéaires, plutôt que sur la litière du sol (Farji-Brener et al. 2007; Clay et al. 2010; Loreto et al. 2013). Ce comportement permet d'augmenter la vitesse de déplacement des individus mais augmente également les distances parcourues (Loreto et al. 2013). Le moyen permettant de réduire à la fois la vitesse de déplacement et les distances parcourues est la construction de pistes physiques. Chez les animaux ces pistes peuvent se former de deux façons. De manière passive, par la destruction de la végétation suite au passage des individus empruntant régulièrement les mêmes chemins, comme c'est le cas pour les moutons ou les éléphants par exemple (Bates 1950; Blake et Inkamba-Nkulu 2004). Ou encore de manière active, en déblayant les obstacles se trouvant sur les chemins suivis. Seuls les humains et les fourmis sont connus pour construire activement des pistes physiques, possédant d'ailleurs certaines analogies (Buhl et al. 2009; Bruce et Burd 2012). Parmi les fourmis, quelques espèces seulement construisent activement des pistes, essentiellement les fourmis moissonneuses du genre *Pogonomyrmex* et *Messor*, les fourmis des bois du genre *Formica*, et les fourmis coupeuses de feuilles du genre *Atta* et *Acromyrmex* (Anderson et McShea 2001, mais voir Plowes et al. 2013 pour une liste complète concernant le genre *Messor*). La construction des pistes de fourrage est dépendante des ressources exploitées : la fourmi *Lasius fuliginosus* utilise la plupart du temps des réseaux de pistes chimiques et ne construit des pistes physiques que lorsque les ressources sont stables dans le temps (Quinet et al. 1997) ; chez les *Messor* la géométrie des réseaux de pistes se construit en fonction de la distribution spatiale des ressources : les pistes sont plus courtes et possèdent plus d'embranchements quand les ressources exploitées sont abondantes (Lopez et al. 1993); enfin les fourmis coupeuses de feuilles ajustent la complexité de leur réseaux de pistes physiques en fonction de la palatabilité des ressources disponibles (Silva et al. 2013).

Trois fonctions peuvent être attribuées aux pistes physiques. La première est une fonction de territorialité. Les fourmis établissent leurs territoires au travers des réseaux de pistes physiques qu'elles construisent, limitant ainsi les rencontres agonistiques avec d'autres colonies puisque les pistes des colonies voisines ne se superposent jamais (chez les *Atta* : Fowler et Stiles

1980; chez les *Pogonomyrmex* : Hölldobler 1976). A noter toutefois que l'utilisation simultanée d'une même piste sans aucun comportement agonistique a été quelquefois rapportée chez certaines espèces de fourmis, par exemple *Acromyrmex versicolor* et *Atta mexicana* (Mintzer 1980). La seconde fonction des pistes physiques est une fonction d'orientation que Shepherd (1982) qualifie de « mémoire collective ». Les ressources exploitées, telles que des arbres pour les fourmis coupeuses de feuilles, peuvent perdurer sur des durées beaucoup plus longues que la durée de vie des ouvrières ; de ce fait une fourmi naïve peut facilement avoir accès aux ressources, même en l'absence de phéromones, en utilisant les pistes physiques comme un guide (Shepherd 1982). Enfin, comme énoncé plus haut, ces pistes ont pour principale fonction d'augmenter la vitesse de déplacement. Cette augmentation a été rapportée par Fewell (1988b) chez les *Pogonomyrmex*, et par Rockwood et Hubbell (1987) chez les *Atta*. Cependant aucune donnée chiffrée n'apparaît dans les articles de ces auteurs. Jusqu'à présent, très peu d'études se sont consacrées aux pistes physiques de fourrage construites par les fourmis, et notamment par les *Atta*.

Les réseaux de pistes de fourrage chez les *Atta* se construisent de façon radiale tout autour du nid. Il existe en général quelques pistes majeures à partir desquelles s'établissent de nouvelles pistes par bifurcations (Hölldobler et Wilson 2010). Les pistes peuvent mesurer jusqu'à 250 m de longueur. Certaines pistes sont éphémères et ne durent que quelques jours, d'autres sont dites permanentes et peuvent durer plusieurs mois, voire même plusieurs années, même en absence d'activité régulière des fourmis (Kost et al. 2005; Hölldobler et Wilson 2010). Ainsi chez l'espèce *A. cephalotes* il a été montré qu'au cours d'une année 28 pistes en moyenne constituaient le réseau d'une colonie mature (Silva et al. 2013). Les jeunes colonies possèdent un réseau moins complexe et construisent moins de pistes (Kost et al. 2005). Il semblerait qu'un groupe d'ouvrières soit spécialisé dans la construction de ces pistes, et que le coût énergétique de construction et de maintenance d'une piste ne soit pas très élevé, au regard du grand nombre d'individus composant une colonie (Howard 2001). Si les pistes physiques sont si peu coûteuses à construire on pourrait penser que leurs constructions lors de la découverte de nouvelles ressources à exploiter s'effectuent très rapidement. Cependant aucune étude n'a encore été réalisée pour caractériser les différentes étapes de la construction d'une piste physique de fourrage chez les *Atta*, ni pour mesurer son réel impact sur l'activité de récolte au cours de ces différentes étapes. Fowler (1978) avait toutefois noté une corrélation positive entre le développement d'une piste physique et le nombre de fourmis revenant au nid chargées d'un fragment de végétation. Comme la vitesse de locomotion est liée à la rugosité du substrat

(Bernadou et Fourcassié 2008), le transport de charges pourrait être également facilité et sa fréquence pourrait donc augmenter au fur et à mesure de la construction de la piste. Il a été démontré que les fourmis coupeuses de feuilles adaptent leur vitesse en fonction de l'inclinaison des plans sur lesquels elles se déplacent pour maintenir un coût énergétique constant (Holt et Askew 2012). De plus, elles modifient leur comportement de découpe des fragments de feuilles en fonction de leur difficulté de déplacement : sur une pente ascendante les fourmis coupent des morceaux de feuilles plus petits et inversement sur pente descendante (Lewis et al. 2008; Norton et al. 2014), puisque le poids de la charge réduit de façon linéaire la vitesse de déplacement (Burd 2000a). Qu'en est-il lorsque les fourmis se déplacent en milieu naturel ? Une fourmi se déplaçant le long d'une piste chimique avant qu'une piste physique soit construite doit faire face à un substrat très inégal et à un milieu très encombré à cause des brins d'herbes et autres obstacles physiques qu'elle trouve sur son chemin. Sa vitesse de déplacement, mais aussi l'efficacité avec laquelle elle transporte des charges, pourraient augmenter progressivement au cours de la construction de la piste. Les fourmis coupeuses de feuilles sont également capables de modifier leur comportement de découpe en fonction des flux présents sur les pistes, le transport de charges trop volumineuses ralentissant le trafic (Farji-Brener et al. 2011). Une piste entièrement dégagée pourrait accueillir un plus grand flux de fourmis, et la taille des fragments de végétation transportés pourrait donc également être modifiée au cours de la construction d'une piste. Enfin, comme les fourmis plus grandes se déplacent plus vite (Hurlbert et al. 2008), la répartition des fourmis de différentes tailles sur une piste pourrait aussi être modifiée au cours des différentes étapes de sa construction, avec un nombre plus important de fourmis plus grandes en début de construction pour optimiser la récolte. De plus, les fourmis de plus grandes tailles auraient peut-être plus de facilité à passer au-dessus de certains obstacles sur une piste encombrée.

Dans ce chapitre, nous avons dans un premier temps évalué le temps nécessaire à la construction d'une piste puis caractériser sa dynamique de construction. Dans un deuxième temps, nous avons évalué l'impact des pistes physique sur l'activité de récolte des *Atta* et examiné comment cette activité variait au cours de la construction d'une piste.

II. Matériels et méthodes

II. 1. Site d'étude

Quatre colonies matures d'*Atta laevigata* ont été utilisées pour cette étude. Les colonies se trouvaient dans un pâturage près du campus de l'UNESP (Université d'Etat de Sao Paulo),

à Botucatu (22°50'46''S, 48°26'02''W). Les expériences se sont déroulées de juin 2012 à janvier 2013.

II. 2. Protocole expérimental et données récoltées

Afin d'initier la construction d'une nouvelle piste physique, des feuilles d'Acalyphe (*Acalypha wilkesiana*), une ressource très attractive absente dans le pâturage, étaient déposées en tas (environ 500 g) à 3 m d'une piste physique active existante. Une fois la ressource découverte par les fourmis et le trafic de fourmis menant à cette ressource suffisamment important, le tracé de la nouvelle piste en formation était délimité tous les 20 cm à l'aide de bâtonnets de bois. Pour évaluer la fréquence de découpe de brins d'herbes au cours du temps et pour examiner de quelle manière la piste se construit (de manière graduelle, en partant de la piste active existante, ou de manière continue sur toute sa longueur), trois quadrats (quadrats tests) (20 cm × 20 cm, également délimités par des bâtonnets de bois) étaient positionnés sur la piste en formation : le premier quadrat à 50 cm de la ressource, le second au milieu de la piste en formation, et le dernier à 50 cm de la piste physique déjà en activité. Pour s'assurer que la piste physique construite résultait bien du comportement de découpe des fourmis, trois autres quadrats (quadrats contrôles) étaient positionnés de la même manière que les quadrats tests, à 30 cm de ces derniers, en dehors de la piste en formation (Fig. 1). Dans chacun de ces quadrats (tests et contrôles), 20 gommettes de couleurs (10 mm de diamètre) ont été collées sur des brins d'herbes, 10 d'une certaine couleur sur des brins d'herbes verticaux et 10 d'une autre couleur sur les brins d'herbes horizontaux.

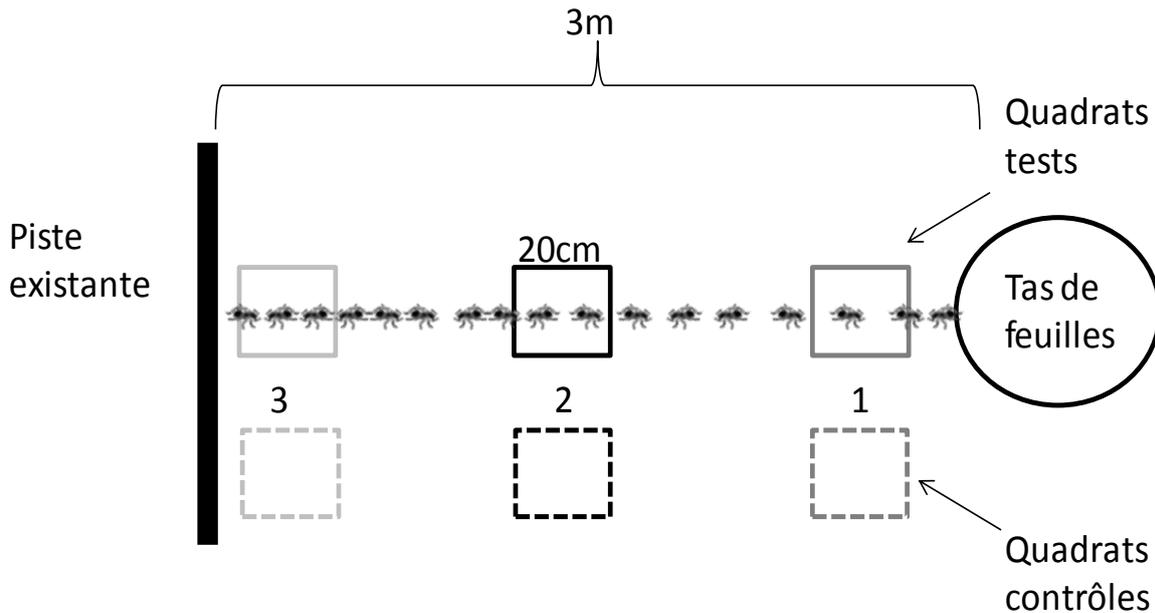


Figure 1. Dispositif expérimental

Avant le début des expériences, nous avons déterminé au cours d'observations préliminaires cinq stades successifs de construction des pistes physiques (Fig. 2):

- Le premier stade correspond au stade de la piste chimique, c'est-à-dire avant que la construction de la piste physique à proprement dite débute. En l'absence de trafic de fourmis, aucune piste n'est visible.
- Le second stade correspond au début de la construction de la piste. Les fourmis ont commencé à découper les brins d'herbe verticaux, il ne reste plus que les brins d'herbe horizontaux le long de la piste chimique. A partir de ce stade, la piste est visible, même en l'absence de fourmis.
- Au troisième stade, les fourmis ont découpé tous les brins d'herbe verts verticaux et horizontaux, il ne reste plus qu'une couche de brins d'herbes secs horizontaux sur la piste.
- Au quatrième stade tous les brins d'herbes verts et secs ont été découpés. Seuls les rhizomes persistent sur la piste.
- Le cinquième et dernier stade correspond à une piste entièrement déblayée de tout obstacle (incluant les rhizomes).

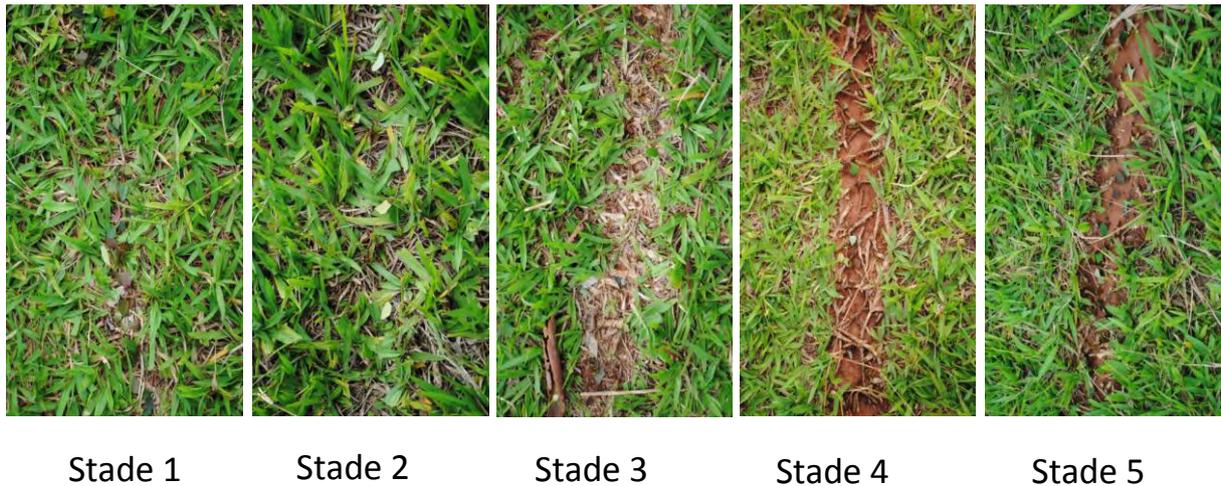


Figure 2. Photographies des 5 stades de construction.

Nous avons considéré les stades 4 et 5 comme des stades finaux de construction de la piste car la présence de rhizomes sur le sol semblait dépendre de l'hétérogénéité du terrain. De plus les fourmis ne semblent pas capables de découper ces rhizomes, seules quelques majors ont été observées en train de les découper.

Au total 30 pistes physiques en construction ont été suivies pendant 5 jours maximum (ou moins si la piste atteignait un des deux stades finaux sur toute sa longueur avant 5 jours). Le premier jour, une observation était réalisée toutes les heures pendant 6 h maximum (le nombre d'observations le premier jour dépendait de l'heure de découverte de la ressource par les fourmis et de l'horaire de fin de leur activité journalière). Les jours suivants, deux observations par jour étaient réalisées (une le matin et une le soir). A cause du changement de rythme d'activité des fourmis au cours des saisons (diurne en saison sèche et nocturne en saison humide), 10 pistes ont été construites de jour et 20 pistes ont été construites de nuit. Les feuilles d'Acalyphé étaient renouvelées chaque fois que nécessaire (environ trois fois par jour).

Pour chaque observation et pour chaque quadrat, le flux de fourmis (c'est-à-dire le nombre de fourmis se déplaçant vers la source de nourriture ou vers le nid, chargées ou non) par minute, la fréquence du comportement de découpe (c'est-à-dire le nombre de fourmis observées en train de découper un brin d'herbe), et le nombre de gommettes restantes étaient noté. De plus, sur toute la longueur de la piste en formation, un des 5 stades de construction était attribué à chaque segment de 5 cm. Nous avons ensuite divisé les longueurs des pistes

construites en 3 parties égales (correspondant à nos 3 quadrats) et calculé la proportion de longueur de piste couverte par chaque stade pour chacune de ces 3 parties.

II. 3. Mesure de la vitesse de déplacement des fourmis

Pour mesurer la vitesse des fourmis, le temps de parcours de fourmis chargées revenant au nid sur une section de 50 cm de piste était relevé. Cent individus ont été suivis pour chaque stade de construction décrit précédemment. Afin de déterminer si le stade 5 offre aux fourmis un substrat optimum de déplacement, le temps de parcours de 100 fourmis se déplaçant sur une surface lisse et homogène (un pont en bois) a également été mesuré. Seules les fourmis marchant en ligne droite, en continu, et sans abandon de charge durant leur trajet étaient prises en compte. La température était relevée pour chaque fourmi suivie. Après avoir mesuré le temps de parcours, les fourmis et leurs charges respectives étaient placées individuellement dans un tube contenant de l'alcool, puis dans un tube Eppendorf placé dans une étuve à 50 °C pendant 3 jours, puis pesées. L'efficacité du transport et la charge relative transportée ont été calculées de la manière suivante (Traniello et Beshers 1991):

Efficacité de transport = vitesse de la fourmi (cm/s) × poids de la charge (mg)

Charge relative = (poids de la fourmi (mg) + poids de la charge (mg)) / poids de la charge (mg)

II. 4. Estimation de la biomasse découpée lors de la construction d'une piste

Dix tapis de terre de 20 cm de long et 5 cm de large ont été prélevés à proximité des nids étudiés. La largeur de 5 cm correspond à la largeur moyenne des pistes physiques d'*Atta laevigata*, largeur étonnément constante d'une piste à l'autre quelle que soit la colonie étudiée. Les tapis de terre étaient ensuite ramenés au laboratoire et les brins d'herbe verts et secs découpés aux ciseaux de façon à reproduire le plus fidèlement possible le comportement de découpe des fourmis. L'herbe était ensuite pesée immédiatement après la découpe (poids frais), puis 3 jours après avoir séjourné dans une étuve à 50 °C (poids sec).

II. 5. Evaluation de l'impact de la pluie

Weber (1972) avait observé que la pluie accélérât la construction des pistes chez les fourmis coupeuses de feuilles et facilitait leur maintenance en déblayant naturellement les obstacles. Cependant ces observations n'avaient pas donné lieu à une quantification rigoureuse. Afin de mesurer plus précisément l'effet de la pluie sur le déblaiement des pistes nous avons

placé sur une piste de stade 5 temporairement inactive, 10 bâtonnets en bois de 3 cm de long ($0,23 \text{ g} \pm 0,02$) et 10 bâtonnets d'un cm de long ($0,076 \text{ g} \pm 0,008$). Les bâtonnets étaient placés en fin de journée à l'intérieur d'un quadrat de 20 cm de côté. Le lendemain matin le nombre de bâtonnets restant dans le quadrat était relevé, ainsi que la hauteur de pluie tombée pendant la nuit à l'aide d'un pluviomètre. Vingt relevés de nuits pluvieuses et 20 de nuits sans pluie ont été effectués.

II. 6. Rhizomes

Afin d'examiner si les fourmis peuvent ou non découper les rhizomes des graminées, les diamètres de 120 rhizomes se trouvant sur les pistes (pour 4 colonies différentes, 30 rhizomes par pistes) et de 120 rhizomes se trouvant en dehors des pistes ont été mesurés.

II. 7. Analyses statistiques

Les diamètres des rhizomes ont été comparés à l'aide d'un test de Student.

Le nombre d'observations effectuées par piste construite étant différent d'une piste à l'autre, nous avons sélectionné les pistes ayant toute une observation réalisée au temps 0, 24 h, 48 h, et 72 h (à ± 4 h), soit 20 pistes sur les 30 suivies au cours des expériences. Les effets du temps et du quadrat ont été analysés avec des ANOVA à mesures répétées pour les variables nombre de gommettes dans les quadrats expérimentaux, fréquence du comportement de découpe, et flux totaux. De la même façon, les effets temps et partie de la piste ont été analysés pour le stade final de construction (stade 4 et 5). Le facteur piste a été considéré comme variable aléatoire pour ces analyses.

Pour identifier les différentes covariables ayant un effet sur la vitesse de déplacement et l'efficacité de transport de charges, nous avons d'abord effectué des ANOVA pour comparer les vitesses en fonction des différents stades de construction avec comme variables indépendantes la température, le poids des fourmis, le poids de la charge transportée, puis le flux de fourmis. Nous avons également effectué des ANOVA pour comparer la charge relative en fonction des différents stades de construction en ayant comme variables indépendantes la température et le poids des fourmis. De même pour comparer le poids des fourmis avec la température comme variable indépendante. Nous avons ensuite pu retirer des modèles les effets des covariables ayant une influence sur nos résultats pour isoler les effets des stades de construction sur la vitesse, la charge relative transportée, le poids des fourmis, et l'efficacité de

transport. Les différences entre les 5 stades de construction ont ensuite été comparées avec des tests post hoc de Tukey.

Toutes les analyses statistiques ont été faites avec le logiciel R 2.13.1 (R Development Core Team, 2011).

III. Résultats

III. 1. Temps de construction des pistes physiques

Nous avons considéré qu'une piste était achevée lorsque les 2/3 de sa longueur étaient en stade 4 ou 5 (stades finaux). La vitesse de construction est extrêmement variable. Une seule piste a été achevée en moins de 24 h, et 63% des 30 pistes suivies l'ont été la fin des 5 jours de nos observations (Fig. 1).

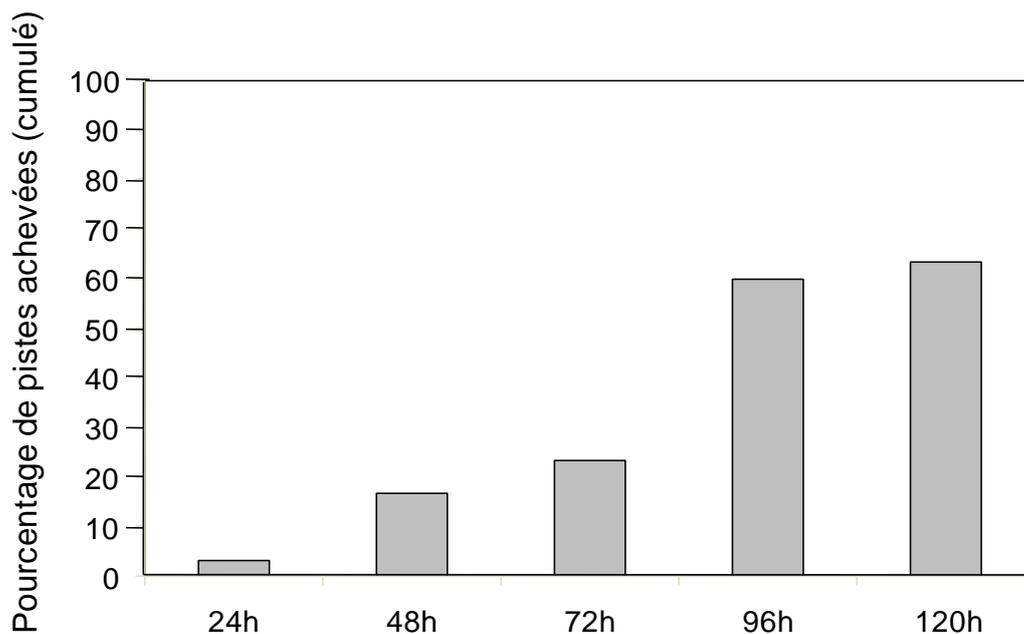


Figure 1. Pourcentage cumulé de pistes considérées comme achevées, c'est-à-dire ayant les 2/3 de leur longueur en stade 4 ou 5, calculé sur les 30 pistes suivies.

III. 2. Dynamique de construction

Le nombre de gommettes restantes est largement inférieur dans les quadrats tests par rapport aux quadrats contrôles (Fig. 2), même si l'on peut noter une légère diminution du

nombre de gommettes dans les quadrats contrôles au cours du temps (probablement dues aux conditions météorologiques : vents, pluies,...). Nous pouvons observer que la majorité des gommettes est découpée durant les premières 24 h de construction de la piste (ANOVA effet temps ; gommettes verticales : $F_{3,220} = 175,437$; $P < 0,001$; gommettes horizontales : $F_{3,220} = 384,786$; $P < 0,001$). Il n'y a pas de différence entre les quadrats 1, 2, et 3 pour les gommettes verticales (ANOVA effet quadrat : $F_{2,220} = 1,694$; $P = 0,186$) mais les gommettes horizontales ne sont pas toutes retirées de façon égale sur les trois quadrats (ANOVA effet quadrat : $F_{2,220} = 3,120$; $P < 0,05$). Il n'y a pas d'interaction significative du nombre de gommettes retiré par quadrat en fonction du temps (ANOVA, gommettes verticales : $F_{6,220} = 0,278$; $P = 0,947$; gommettes horizontales : $F_{6,220} = 1,437$; $P = 0,201$).

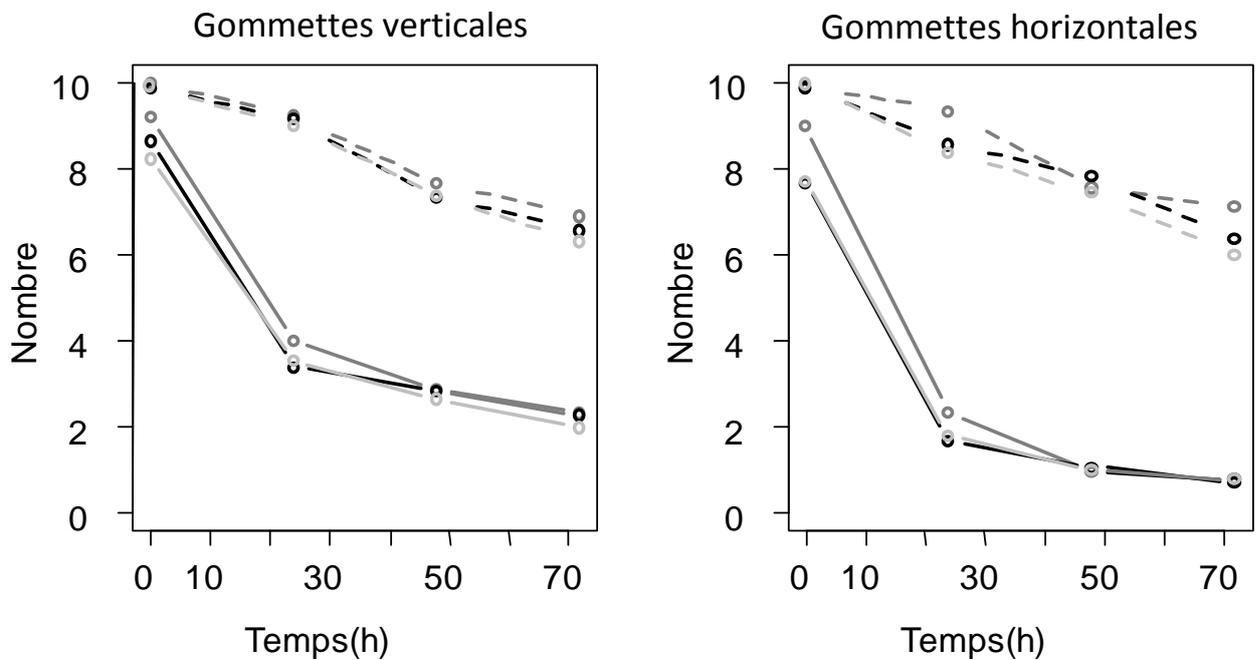


Figure 2. Nombre moyen (N= 20 réplicats) de gommettes restantes dans les quadrats en fonction du temps. Les courbes en pointillés correspondent aux quadrats contrôles, celles en traits pleins aux quadrats tests. Les courbes gris foncé correspondent aux quadrats 1, situés à 50 cm de la ressource ; celles en noir correspondent aux quadrats 2, situés au milieu des pistes en construction ; et celles en gris clair correspondent aux quadrats 3, situés à 50 cm de la piste déjà en activité.

La fréquence de fourmis observées en train de découper un brin d'herbe est importante durant les premières heures d'observation et diminue rapidement au cours des premières 24 h

(Fig. 3 ; ANOVA : $F_{1,226} = 119,377$; $P < 0,001$), mais pas de manière significative entre les quadrats (ANOVA, interaction temps/quadrats: $F_{2,226} = 2,673$; $P < 0,0712$) . On peut observer également une diminution du flux après les 24 premières heures d'observation (Fig. 3; ANOVA: $F_{3,202} = 7,357$; $P < 0,001$), mais il n'y a pas d'interaction significative du temps et des trois quadrats (ANOVA: $F_{6,202} = 0,310$; $P = 0,931$).

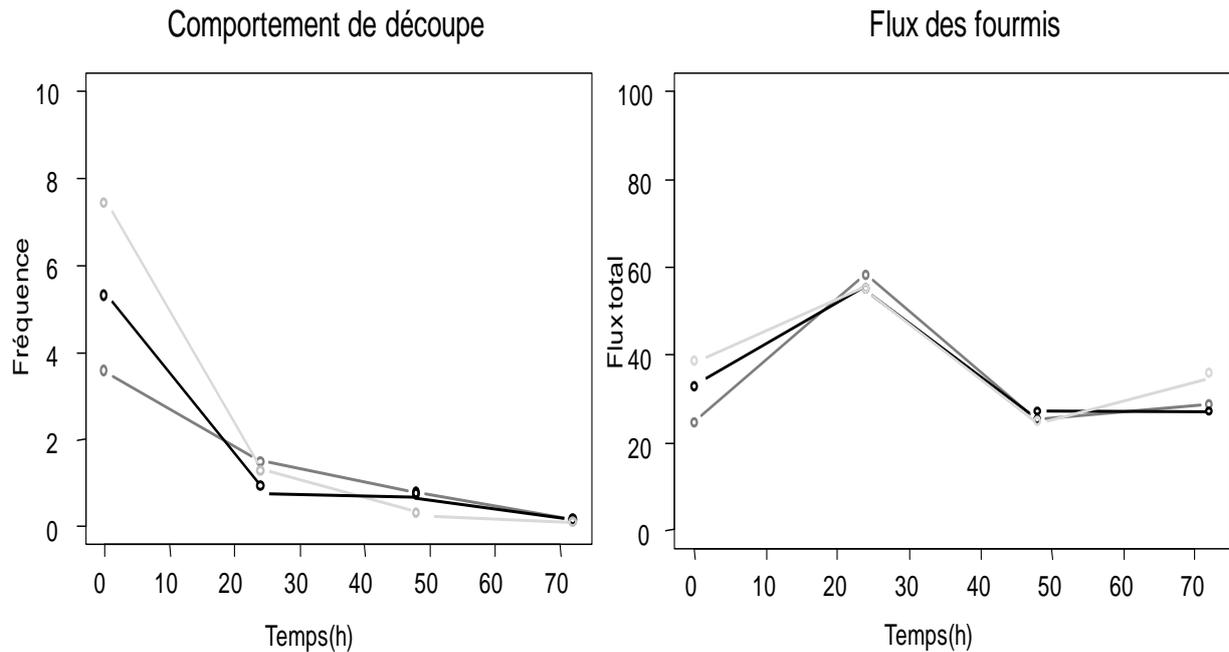


Figure 3. Fréquence moyenne du comportement de découpe et flux total moyen de fourmis par minute en fonction du temps. Les courbes gris foncé correspondent aux quadrats 1, situés à 50 cm de la ressource ; celles en noir correspondent aux quadrats 2, situés au milieu des pistes en construction ; et celles en gris clair correspondent aux quadrats 3, situés à 50 cm de la piste déjà existante.

La piste n'est pas construite de la même façon sur toute sa longueur, le stade final n'atteint pas les mêmes proportions en fonction des trois parties de la piste (Fig.4 ; ANOVA : $F_{2,209} = 14,500$; $P < 0,0001$), la partie 1 (à côté de la ressource de nourriture) est plus lente à atteindre le stade final (Fig.4 ; ANOVA, interaction parties/temps : $F_{3,209} = 39,785$; $P < 0,0001$).

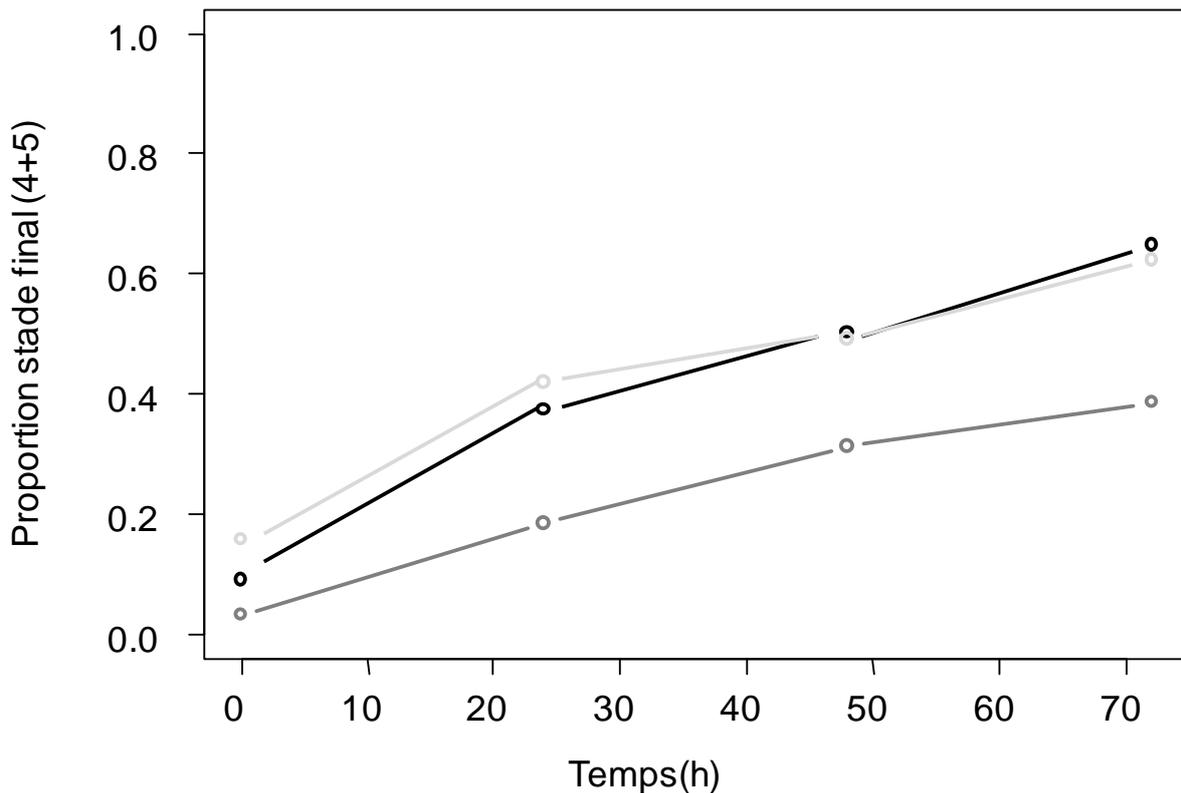


Figure 4. Proportion moyenne de longueur de pistes correspondant au stade final de construction (stades 4 et 5 fusionnés car ils correspondent aux stades finaux) en fonction du temps. Les courbes gris foncé correspondent aux parties 1, parties situées à 50 cm de la ressource ; celles en noir correspondent aux parties 2, situées au milieu de la piste en constructions ; et celles en gris clair correspondent aux parties 3, situées à 50 cm de la piste déjà en activité.

III. 3. Estimation de la biomasse découpée lors d'une construction de piste

Le poids sec découpé calculé pour une piste de 3 m est de 82,9 g (moyenne \pm e.s. par tapis de terre : 5,52 g \pm 0,89).

III. 4. Evaluation des effets de la pluie

Quelle que soit la quantité de pluie tombée pendant la nuit (de 1 mm à 47 mm, tous les objets déposés sur la piste ont été déblayés du quadrat (et très peu retrouvés sur la piste par la suite). Lorsque qu'il n'a pas plu, tous les objets sont restés dans le quadrat, quel que soit leur taille.

III. 5. Diamètres des rhizomes

Les rhizomes se trouvant sur les pistes physiques ont un diamètre plus petit (moyenne \pm e.s., 4,80 mm \pm 1,23) que ceux se trouvant en dehors des pistes (moyenne \pm e.s., 5,82 mm \pm 1,44) (test de Student, $t = -5,88$; $P < 0,001$).

III. 6. Vitesse et efficacité de transport

Quel que soit le stade de construction, la vitesse des fourmis augmente significativement en fonction de la température (ANOVA, $F_{1,592} = 100,78$; $P < 0,001$) et de leurs poids (ANOVA, $F_{1,592} = 55,22$; $P < 0,001$), et diminue de manière significative en fonction du poids de la charge transportée (ANOVA, $F_{1,592} = 179,61$; $P < 0,001$). Le flux n'a par contre aucun effet sur la vitesse des fourmis (ANOVA, $F_{1,592} = 0,64$; $P = 0,421$).

Le poids de la charge transportée diminue significativement plus la température (ANOVA, $F_{1,592} = 27,75$; $P < 0,001$) et le poids des fourmis (ANOVA, $F_{1,592} = 43,06$; $P < 0,001$) augmentent, quel que soit le stade de construction. La température va également avoir une influence sur la répartition en taille des fourmis sur la piste : plus la température augmente et plus le poids des fourmis est important (ANOVA, $F_{1,592} = 31,09$; $P < 0,001$).

La vitesse des fourmis est influencée par le stade de construction, plus la piste physique est déblayée, plus les fourmis se déplacent rapidement (Fig. 5, ANOVA, $F_{5,692} = 115,31$; $P < 0,001$). L'augmentation de vitesse est significative entre chaque passage de stades (Fig 5., test post hoc Tukey, stade 1 vs stades 2, 3, 4, 5, et condition control bois $P < 0,001$; stade 2 vs stades 3,4,5, et condition control bois $P < 0,001$; stade 3 vs stade 5 et condition control bois $P < 0,001$; stade 4 vs stade 5 et condition control bois $P < 0,001$), excepté pour le passage du stade 3 au stade 4 (Fig 5. test post hoc Tukey, stade 3 vs stades 4 $P = 0,40$).

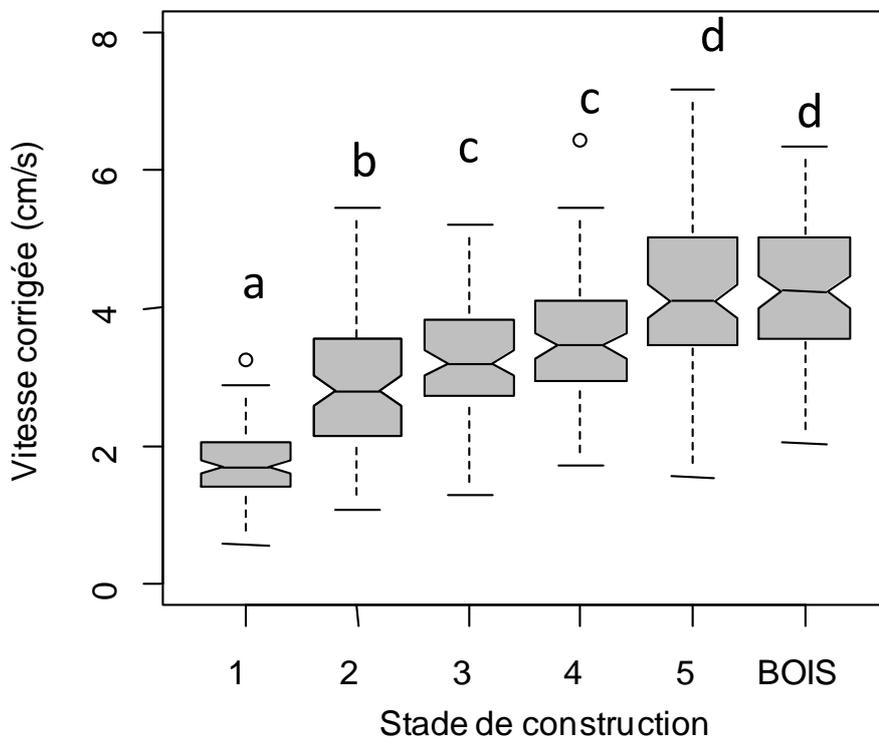


Figure 5. Vitesse des fourmis en fonction des 5 stades de construction et de la condition contrôle pont en bois. La vitesse a été corrigée pour les effets de la température, du poids des fourmis et de leurs charges.

Nous avons trouvé un effet significatif du poids de la charge en fonction du stade de construction (Fig. 6, ANOVA, $F_{4,592} = 0,051$; $P < 0,05$), mais si l'on compare les stades deux à deux nous pouvons dire que globalement le poids de la charge transportée est le même pour les 5 stades de construction (Fig. 6, test post hoc Tukey, stade 1 vs stade 2 $P = 0,013$; stade 1 vs stade 3 $P = 0,64$; stade 1 vs stade 4 $P = 0,20$; stade 1 vs stade 5 $P = 0,31$; stade 2 vs stade 3 $P = 0,37$; stade 2 vs stade 4 $P = 0,83$; stade 2 vs stade 5 $P = 0,71$; stade 3 vs stade 4 $P = 0,94$; stade 3 vs stade 5 $P = 0,98$; stade 4 vs stade 5 $P = 0,99$), les fourmis ne sélectionnent pas leurs charges en fonction du stade de construction.

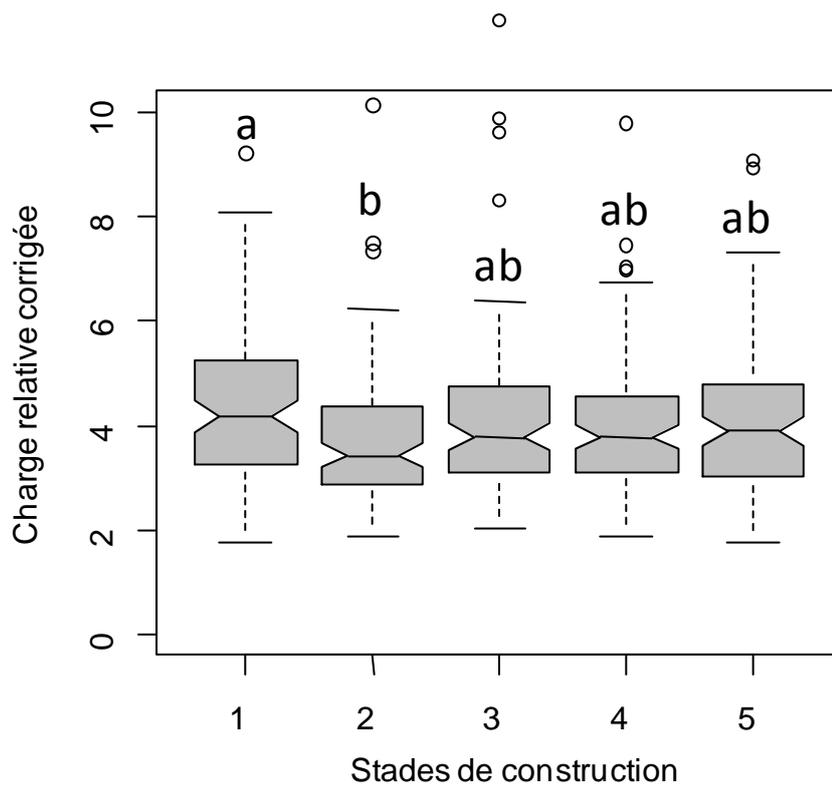


Figure 6. Charge relative en fonction des 5 stades de construction. La charge relative a été corrigée pour les effets de la température et du poids des fourmis.

La répartition de la taille des fourmis n'est pas influencée par le stade de construction, le poids des fourmis rencontrées sur la piste reste le même quel que soit l'avancée de la construction de la piste (Fig. 7, ANOVA, $F_{4,592} = 2,03$; $P = 0,088$).

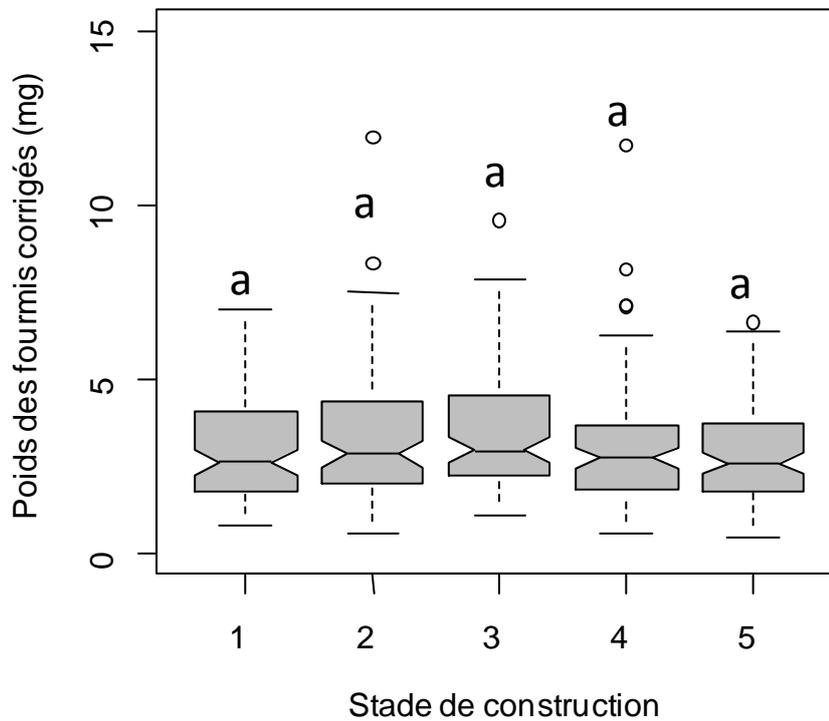


Figure 7. Poids des fourmis en fonction des 5 stades de construction. Le poids a été corrigé pour l'effet température.

De la même manière que la vitesse de déplacement des fourmis, l'efficacité de transport de charge augmente au cours de la construction (Fig. 8, ANOVA, $F_{4,592} = 13,45$; $P < 0,001$), cependant bien que l'efficacité de transport augmente entre le premier et dernier stade de construction, elle n'est pas significativement différente entre chaque passage successif d'un stade à l'autre (Fig. 8) : l'efficacité de transport au cours du stade 1 n'est pas différent du stade 2 (test post hoc Tukey, stade 1 vs stade 2 $P = 0,053$) mais est différent du stade 3, 4, et 5 (test post hoc Tukey, stade 1 vs stade 3, 4, et 5 $P < 0,001$) ; de même pour le stade 2 qui n'est pas différent du stade 3 et 4 (test post hoc Tukey, stade 2 vs stade 3 $P = 0,098$; stade 2 vs stade 4 $P = 0,093$) mais qui est différent pour le stade 5 (test post hoc Tukey, stade 2 vs stade 5 $P < 0,001$) ; le stade 3 est différent du stade 5 (test post hoc Tukey, stade 3 vs stade 5 $P < 0,001$) mais pas du stade 4 (test post hoc Tukey, stade 3 vs stade 4 $P = 1,00$) ; et il n'y a pas non plus de différence significative entre le stade 4 et 5 (test post hoc Tukey, stade 4 vs stade 5 $P = 0,054$).

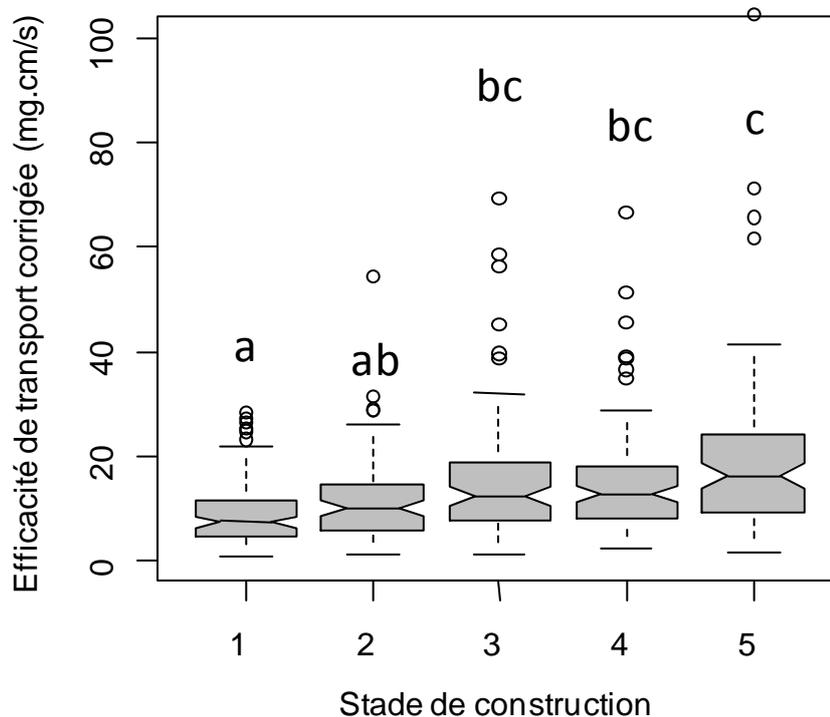


Figure 8. Efficacité de transport en fonction des 5 stades de construction. Pour calculer l'efficacité de transport (vitesse × charge) nous avons utilisé les vitesses corrigées pour les effets de température, et des poids des fourmis et de leur charge ; et le poids de la charge corrigé pour les effets de température et du poids des fourmis.

IV. Discussion

IV. 1. Temps de construction

Les fourmis *A. laevigata* ont initié la construction de pistes physiques à chaque fois que la ressource donnée a été découverte. Les comportements de découpe ont été observés aussitôt que la piste chimique a été établie entre la ressource découverte et la piste déjà en activité. Cependant nos résultats montrent que le temps de construction d'une piste physique est extrêmement variable d'une piste à l'autre : une piste seulement a été complètement dégagée de sa végétation en moins de 24 h et 37 % des pistes suivies sont restées inachevées après 5 jours d'observation. De nombreux facteurs non contrôlés liés aux expériences de terrain pourraient expliquer cette grande variabilité. La ressource donnée aux colonies lors des

expériences était des feuilles d'Acalyphe, cependant les ressources consommées par les colonies entre les expériences n'étaient pas quantifiées et il était impossible de connaître l'état du champignon au sein des nids. Or l'état de motivation des fourmis module leurs comportements de récolte : des fourmis privées de substrat végétal pendant 3 jours découpent des fragments plus petits et montrent un plus fort taux de recrutement lorsque du substrat leur est de nouveau proposé (Roces et Hölldobler 1994). Ainsi, lors de nos expériences, une colonie n'ayant pas pu collecter du matériel végétal les jours précédant l'expérience (pour cause de pluies violentes ininterrompues par exemple) ou n'ayant pas pu en collecter suffisamment pourrait construire une piste plus rapidement pour pallier au plus vite les besoins nutritionnels de la colonie. L'hétérogénéité du terrain et la densité de végétation pourraient également influencer la construction des pistes. Ainsi, Fewell (1988a) a montré que les *Pogonomyrmex* ne construisent des pistes physiques que lorsque la densité de végétation est faible. Dans notre expérience *A. laevigata* initiait la construction d'une piste physique à chacun de nos replicats. La densité de végétation ne semble donc pas être un critère de choix pour décider de la construction ou non d'une piste. Cependant cette variable pourrait avoir un impact sur sa vitesse de construction. En effet, une piste construite sur un terrain dense en végétation compte plus de brins d'herbe à découper, et, pour un flux de fourmis équivalent à une parcelle de terrain possédant une végétation moins dense, le déblaiement de la piste nécessite plus de temps. Les fluctuations journalières des conditions météorologiques (pluies, pics de chaleur et de sécheresse, etc.) ont un impact direct sur l'activité de récolte des fourmis et leur sortie hors du nid. Une piste initiée lorsque les conditions météorologiques sont optimales aura une plus forte probabilité d'être achevée avant une piste initiée lorsque les conditions météorologiques limitent la sortie des fourmis. De plus nos résultats confirment les observations rapportées par Weber (1972) : la pluie, bien que limitant l'activité des fourmis, a un réel impact sur la construction et la maintenance des pistes, en déblayant naturellement les obstacles se trouvant sur celles-ci. Enfin, il est important de noter que de nombreuses pistes physiques rencontrées sur le terrain utilisées depuis plusieurs mois et fréquentées activement restent inachevées sur des longueurs plus ou moins importantes. Le dégagement systématique de la végétation sur toute la longueur d'une piste ne semble donc pas être une règle absolue.

IV. 2. Dynamique de construction

Les pistes physiques se construisent de manière graduelle, de la piste déjà construite vers la ressource exploitée. La partie de la piste se trouvant vers la ressource est construite beaucoup plus lentement que les deux autres parties et reste dans 60% des cas inachevée. Trois raisons pourraient expliquer ce phénomène. La première serait qu'en construisant cette section de piste en dernier, les fourmis garderaient une certaine flexibilité en bout de piste pour adapter son tracé à la distribution spatiale des ressources. *A. laevigata* est une espèce de fourmi coupeuse de feuilles qui découpe les feuilles dans les arbres au niveau du pétiole et les laisse tomber au sol. D'autres fourrageuses redécoupent ensuite ces feuilles en fragments pour les transporter (Vasconcelos et Cherrett 1996). La piste menant à un arbre est donc susceptible de changer de tracé à son extrémité, puisque l'emplacement des feuilles tombées au sol dépend de l'emplacement de la branche exploitée et/ou du vent. De ce fait il n'est pas rare d'observer de nombreuses ramifications de pistes non achevées sous les arbres en cours d'exploitation (*observation personnelle*). De plus, si la ressource exploitée vient à s'épuiser, cette flexibilité pourrait permettre de réorienter le tracé de la piste vers une autre ressource. Farji-Brener et Sierra (1998) ont d'ailleurs montré que les scouts ont une plus forte tendance à explorer en bout de pistes. La découverte d'une nouvelle ressource de nourriture, et donc la construction d'une piste physique vers cette ressource, a par conséquent une probabilité plus importante de s'effectuer par prolongation d'une piste existante plutôt que par la construction d'une nouvelle piste partant du nid. La deuxième explication pouvant expliquer ce phénomène pourrait être liée à la motivation des ouvrières. La spécialisation du groupe d'ouvrières chargées de la construction et de la maintenance des pistes physiques n'étant pas irréversible (Howard 2001), les ouvrières arrivant à proximité de la ressource en cours d'exploitation seraient peut-être plus motivées à découper ou à récolter des fragments de feuilles d'Acalyphes plutôt qu'à découper les brins d'herbes pour dégager la piste. Enfin, comme les pistes physiques ont également une fonction d'orientation (Shepherd 1982), les fourmis n'auraient peut-être plus besoin de se servir des pistes physiques comme guide pour s'orienter à l'approche de la ressource, et se dirigeraient directement vers le tas de feuilles d'Acalyphes lorsque celui-ci est visible (voir chapitre 2).

Nos résultats montrent que le plus gros du travail de construction s'effectue lors des premières 24 h (figure 3 : forte diminution de la fréquence du comportement de découpe au cours des 24 premières heures, figure 2 : forte diminution du nombre de gommettes restantes, également au cours des premières 24 h). Même si 37% des pistes ne sont pas totalement achevées après 5 jours, le tracé de la piste est établi dès les premières heures après la découverte

de la ressource. L'effort de construction est donc très important durant les premières heures de fourragement mais semble diminuer et se stabiliser les jours suivants. Il est intéressant de noter que la diminution du nombre de fourmis observées en train de découper un brin d'herbe correspond à la diminution du flux de fourmis sur la piste. Cette diminution pourrait peut-être s'expliquer par le fait que les ouvrières spécialisées dans la construction de piste arrêtent de fréquenter la piste en construction car celle-ci serait suffisamment dégagée.

IV. 3. Vitesse et efficacité du transport de charges

La construction d'une piste augmente significativement la vitesse de déplacement des fourmis et cette augmentation s'effectue de manière graduelle au cours des différents stades de construction, le dernier stade (sol nu totalement déblayé et sans rhizome) offrant aux fourmis une surface parfaitement plane et lisse sur laquelle leur vitesse de déplacement est maximale (Fig. 5). Seul le passage du stade 3 (couche de brins d'herbe secs) au stade 4 (sol nu avec rhizomes) n'induit pas d'augmentation de vitesse. Bien que les rhizomes et les brins d'herbe secs constituent des substrats très différents, le déplacement sur ces deux substrats semble donc avoir le même impact sur la locomotion des fourmis. Une piste construite sur une parcelle de terrain sur laquelle se trouvent des rhizomes ne permettrait donc pas aux fourmis d'atteindre leur vitesse maximale. Pour pouvoir se déplacer à leur vitesse maximale il faudrait alors que les fourmis puissent choisir l'emplacement des pistes physiques. Les mesures réalisées sur les diamètres des rhizomes ont révélées de manière très surprenante que les rhizomes se trouvant sur les pistes avaient un plus petit diamètre que ceux se trouvant en dehors des pistes. Les rhizomes de faibles diamètres étant plus faciles à découper, les fourmis auraient dû les découper pendant la construction de la piste, ne laissant que les rhizomes de plus gros diamètre sur les pistes. Or nos résultats prouvent le contraire. Ainsi, soit les fourmis arrivent à découper les rhizomes (en désaccord avec nos observations) et ne découpent que les plus gros car ils représentent une gêne plus conséquente pour leur déplacement, soit elles arrivent bel et bien à sélectionner l'emplacement des nouvelles pistes qui leur permettra d'atteindre leur vitesse de déplacement maximale.

L'efficacité du transport des charges augmente également en fonction des différents stades de construction mais cette augmentation se fait de manière plus discrète et moins prononcée (Fig. 8). Cependant, la charge transportée et le poids des fourmis (donc leur taille) restent constants au cours de la construction d'une piste (Fig. 6 et 7). Il n'y a donc pas de modification du comportement de découpe des fragments ni de modification dans la distribution

des fourmis de différentes tailles au cours de la construction d'une piste. La construction d'une piste se faisant de manière graduelle, les fourmis au cours d'un même trajet sont confrontées à plusieurs stades de constructions successifs. Il n'apparaît dès lors plus nécessaire pour une colonie d'adapter la taille des fragments découpés ou encore la répartition de la taille des fourmis aux différentes étapes de construction d'une piste physique.

V. Conclusion

La construction de pistes physiques chez les *Atta* augmente la vitesse de déplacement des individus et l'efficacité de transport de charge de manière significative, et ce graduellement tout au long des étapes de construction de la piste. Cependant la durée de construction des pistes est extrêmement variable, et l'effort de construction est concentré sur les premières 24 h. Pourquoi ne pas maintenir cet effort de construction jusqu'au déblaiement complet de la piste physique puisqu'un sol nu, entièrement déblayé de tout obstacle, offre un substrat optimal de déplacement et de transport de charge ? L'augmentation de l'efficacité du transport bien que significative reste relativement faible entre le premier et le dernier stade de construction, de plus il n'y a pas de changement significatif entre le passage de deux stades construction (Fig. 8). Les fourmis pourraient ainsi initier la construction de leurs pistes physiques pour répondre d'abord à une fonction de territorialité et/ ou d'orientation vers les nouvelles ressources découvertes, et achever la construction de la piste en fonction des besoins nutritionnels de la colonie.

Notre étude s'est déroulée en milieu de pâturage. Bien que présentant des hétérogénéités de terrain, celles-ci sont faibles par rapport aux hétérogénéités rencontrées en forêt tropicale. De plus, en forêt tropicale les ponts naturels font partie intégrante des réseaux de pistes physiques des fourmis coupeuses de feuilles (Farji-Brener et al. 2007). L'espèce *A. laevigata* étant une espèce que l'on rencontre aussi bien en pâturage qu'en forêt, il serait intéressant de comparer la dynamique de construction des pistes dans ces deux milieux. *A. laevigata* cultive son champignon symbiotique préférentiellement avec des feuilles de dicotylédones, mais peut aussi récolter des monocotylédones (graminées) (Della Lucia et al. 2014). Ainsi, il n'est pas étonnant que la découverte d'une nouvelle ressource conduise systématiquement à la construction d'une nouvelle piste puisque les brins d'herbe découpés lors de la construction peuvent potentiellement servir à la culture du champignon. Les espèces d'*Atta* ne récoltant que des feuilles pourraient avoir un comportement de construction différent et ne pas établir systématiquement une piste à chaque nouvelle ressource

découverte. Inversement, pour les *Atta* ne récoltant que des graminées, on pourrait supposer que la vitesse de construction pourrait être encore plus rapide.

Chapitre 2 - Orientation sur les pistes d'approvisionnement : étude au niveau individuel et collectif

I. Introduction

Beaucoup d'animaux sont dotés d'incroyables capacités de navigation et peuvent se déplacer sur des distances de plusieurs milliers de kilomètres lors de leurs mouvements migratoires (Bingman et Cheng 2005). A plus petite échelle, pouvant quand même atteindre 10 km pour certaines espèces, les insectes sociaux possèdent eux aussi de remarquables capacités de navigation qu'ils utilisent pour effectuer des trajets entre leur nid et les sources de nourritures qu'ils exploitent (Collett et al. 2003). Ainsi, en utilisant certains repères de leur environnement tel que des repères visuels (repères célestes, repères terrestres ponctuels, ou encore panorama visuel) (Wehner et Wehner 1990; Wehner 2003; Knaden et Wehner 2005; Wystrach 2011), des repères tactiles ou chimiques (Seidl et Wehner 2006; Steck 2012), ou encore le champ magnétique terrestre (Banks et Srygley 2003; Riveros et Srygley 2008) et la direction du vent (Wolf et Wehner 2005), les fourmis sont capables de se déplacer de leur nid vers les ressources qu'elles exploitent en mémorisant des trajets précis ou des segments de trajectoires sur la base de repères successifs, ou encore en faisant de l'intégration de trajet (mécanisme leur permettant d'estimer leur position grâce à l'intégration des composantes de translation et de rotation de leurs déplacements) (Collett et al. 2003).

Les fourmis se déplacent sur le sol. Par conséquent les indices chimiques tels que les dépôts de phéromone de pistes sont très utilisés (Hölldobler et Wilson 1990). Les fourmis fourrageant de manière solitaire et n'utilisant pas de piste chimique, comme les fourmis du genre *Cataglyphis* par exemple, peuvent quant à elles s'orienter grâce à l'odeur de leur nid (Steck et al. 2009) et aux odeurs de nourriture transportées par le vent (Wolf et Wehner 2005). Les fourmis qui utilisent un système de recrutement de masse se déplacent sur des pistes chimiques qu'elles créent elles-mêmes en déposant des phéromones de piste. Cependant ces pistes ne sont pas polarisées (Hölldobler et Wilson 1990) et pour s'orienter sur ces pistes chimiques, les fourmis utilisent donc généralement également d'autres types d'indices (Hölldobler 1976; Traniello 1989a). Ainsi chez la fourmi *Lasius niger*, il a été démontré que les phéromones de piste et des indices visuels sont utilisés de façon complémentaire (Aron et al. 1993; Evison et al. 2008b). Néanmoins, en cas de conflit entre ces différents indices, les fourmis ayant déjà effectué le trajet se fient plus aux indices visuels qu'à la piste chimique pour s'orienter (Aron et al. 1993; Grüter et al. 2011). La piste chimique a donc une fonction d'orientation pour les fourmis naïves, mais comme elle augmente également la vitesse de déplacement des fourrageuses (Czaczkes et al. 2011), les fourmis continuent d'utiliser les deux types d'indices, même après avoir effectué plusieurs fois le même trajet (Czaczkes et al. 2011).

De plus, en cas de routes complexes, comme c'est souvent le cas en conditions naturelles, le trajet est plus difficile à mémoriser et la piste chimique guide alors les fourmis le temps qu'elles apprennent à associer la route empruntée aux repères de l'environnement (Czaczkes et al. 2013a). Il a d'ailleurs été montré qu'une fourmi qui a fait des erreurs lors de son trajet aller a un comportement de dépôt de phéromones plus important lors de son trajet retour (Czaczkes et al. 2013a). Cependant, certaines espèces de fourmis telle que la fourmi d'Argentine *Linepithema humilis* ou la fourmi du Pharaon *Monomorium pharaonis* ne semblent se baser que sur la piste chimique pour s'orienter, sans tenir compte des indices visuels (Aron et al. 1993). En absence d'utilisation de repères visuels le long des pistes, les angles de bifurcations des pistes au niveau de leurs embranchements peuvent alors permettre aux fourmis de s'orienter dans la bonne direction (nid ou ressource) (Jackson et al. 2004). Chez les fourmis qui se déplacent sur des réseaux de pistes physiques, quelle que soit l'espèce, les angles formés par la bifurcation des pistes sont remarquablement similaires (environ 60°) (Acosta et al. 1993; Buhl et al. 2009). Ceci suggère un phénomène d'invariance dans les mécanismes de construction de ces réseaux de pistes (Buhl et al. 2009). En complément de la piste chimique certaines fourmis pourraient donc aussi utiliser pour s'orienter vers leur nid ou vers les sources de nourriture se trouvant à l'extrémité des pistes les angles formés par la bifurcation des pistes. La construction d'une nouvelle piste physique semble quant à elle correspondre à un compromis entre le chemin le plus court pour rejoindre une piste existante et le chemin le plus court pour rejoindre le nid (Acosta et al. 1993). De plus, les pistes physiques sont généralement droites et peu sinueuses (Lopez et al. 1993; Kost et al. 2005). La construction d'une nouvelle piste semble donc obéir à des critères d'optimalité et elle est probablement liée également aux capacités d'orientation et de navigation des fourmis. Les fourmis qui découvrent l'emplacement d'une nouvelle source de nourriture pourraient par exemple revenir à leur nid ou vers la piste la plus proche de laquelle elles proviennent par intégration du trajet et initier ainsi la construction d'une piste selon le chemin le plus court, ce qui ne sera pas le cas si elles utilisent des repères terrestres proches qu'elles ont mémorisé lors du trajet de recherche qu'elles ont effectué avant de trouver la source de nourriture.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés au rôle de l'orientation dans la construction des pistes chez les fourmis coupeuses de feuilles. Ces fourmis utilisent pour s'orienter préférentiellement la piste chimique, puis des indices visuels, et enfin l'inclinaison de la piste (Vilela et al. 1987). De plus, elles peuvent également utiliser des indices thermiques pour s'orienter à l'approche de leur nid (Kleineidam et al. 2007) et le champ magnétique

terrestre ou la direction des rayons lumineux pour faire de l'intégration de trajet et revenir vers leur nid depuis des distances plus importantes (Banks et Srygley 2003; Riveros et Srygley 2008; Riveros et al. 2014). Lors de nos expériences, nous avons forcé les fourmis à emprunter un pont en V (chemin long et non optimal) pour récolter des fragments de feuilles pendant 12 h, puis nous avons retiré ce pont pour observer ensuite la géométrie de la piste construite. Si la piste est construite à l'emplacement du pont en V, cela signifiera que les fourmis utilisent effectivement leurs capacités de navigation au moment de la construction des pistes et qu'elles se déplacent selon des trajets précis mémorisés sur la base de repères terrestres. Cela signifiera également que les fourmis restent « piégées » dans leur premier choix même si celui-ci n'est pas optimal. Ce résultat serait semblable à ceux trouvés chez *Lasius niger* et *Linepithema humile* dont les ouvrières continuent d'utiliser un chemin plus long pour rejoindre une source de nourriture (car la piste de phéromone est déjà établie et renforcée), même si la possibilité d'utiliser un chemin plus court et donc plus optimal par la suite leur est donnée (Goss et al. 1989; Beckers et al. 1992). Si la piste est construite de façon rectiligne par contre, cela montrera que les fourmis sont capables de faire de l'intégration de trajet pour revenir vers la piste la plus proche ou vers leur nid. La longueur de la piste construite déterminera ensuite quels types d'optimisation les fourmis privilégient : chemin court pour rejoindre la piste en activité la plus proche (réduction des coûts de construction), chemin plus long et dirigé vers le nid pour rejoindre plus rapidement le nid (réduction du temps de trajet), ou un compromis entre ces deux stratégies.

Nous avons également testé les capacités d'orientation des fourmis au niveau individuel en les relâchant directement sur le pont, à 60 cm de celui-ci ou à plus de 100 m afin d'identifier les repères utilisés par les fourmis. Si les fourmis arrivent à s'orienter dans la direction astronomique de leur nid ou du tas de feuilles à plus de 100 m du pont, cela signifiera qu'elles sont capables d'utiliser des repères célestes. Si elles n'arrivent à s'orienter qu'à une distance de 60 cm du pont, cela signifiera qu'elles n'utilisent pas de repères célestes mais uniquement des repères terrestres. Enfin, si elles n'arrivent à s'orienter ni à plus de 100 m du pont ni à 60 cm de celui-ci, cela voudra dire que la phéromone de piste est essentielle à la navigation de ces fourmis lorsqu'elles se déplacent sur les pistes. Les données publiées concernant l'orientation des fourmis coupeuses de feuilles ne concernent que les fourmis revenant au nid chargées (Vilela et al. 1987; Banks et Srygley 2003; Kleineidam et al. 2007; Riveros et Srygley 2008). Or les fourmis revenant chargées ne participent pas à la construction de la piste. Nous avons

donc pris en compte dans cette expérience trois catégories de fourmis : les fourmis sortant du nid, et les fourmis rentrant au nid, chargées et non chargées.

II. Matériels et méthodes

Quatre colonies matures d'*Atta laevigata* ont été utilisées pour cette étude. Les colonies se trouvaient dans un pâturage près du campus de l'UNESP, université d'état de Sao Paulo, à Botucatu (22°50'46''S, 48°26'02''W).

II. 1. Construction d'une nouvelle piste

Un pont en bois en forme de V (angle à 90°, 2 m de long, 3 cm de large et 30 cm de hauteur) était placé perpendiculairement à une piste physique active entre cette piste et un tas de feuilles d'Acalyphes (*Acalypha wilkesiana*, environs 500 g) (Fig. 1). Le tas de feuilles était placé au centre d'un cylindre en PVC dont les parois étaient enduites de Fluon. L'accès aux feuilles par les fourmis n'était donc possible qu'en empruntant le pont. Afin d'initier le recrutement vers cette nouvelle ressource via le pont, 200 fourmis prélevées sur la piste physique étaient placées sur le tas de feuille dès la mise en place du pont. Après 12 h, le dispositif expérimental (pont + cylindre en PVC) était retiré et le tas de feuilles renouvelé. Après 24 h, la géométrie de la nouvelle piste physique construite (achevée ou non) vers le tas de feuilles était notée. Le pont en V était placé selon deux configurations : la pointe du V orientée vers la direction du nid ou à son opposé. Nous avons réalisé 30 expériences pour chaque configuration. Pour chaque expérience un dessin à l'échelle de la géométrie de la piste construite a été réalisé. Nous avons mesuré également la longueur totale de la piste construite et l'angle formé par cette piste au niveau de son embranchement avec la piste existante.



Figure 1 : Dispositif expérimental. Le pont en forme de V est utilisé pour les expériences sur la construction de nouvelles pistes et pour celles sur l'orientation individuelle. La planche en bois mélaminé blanche placée sur le sol n'est pas présente pendant les expériences de construction de nouvelles pistes.

II. 2. Orientation individuelle

Pour ces expériences les fourmis se déplaçant sur le pont en bois placé entre la piste existante et le tas de feuilles étaient prélevées délicatement à l'aide d'une pince entomologique souple, puis placée dans une boîte en plastique par groupe de 50. Les fourmis étaient ensuite déposées individuellement au centre d'un cercle de 60 cm de diamètre gradué tous les 10° (dont le 0° était toujours orienté en direction du nord), dessiné sur une planche en bois mélaminé. Les fourmis déposées sur la planche étaient confinées dans une boîte en plastique (diamètre 10 cm) pendant 30 secondes, pour réduire les perturbations dues à leur manipulation. La direction de fuite des fourmis était notée lorsqu'elles sortaient du cercle dessiné à la périphérie de la planche. Les fourmis qui mettaient plus de deux minutes à sortir du cercle n'étaient pas prises en compte et l'expérience était alors interrompue. La planche était lavée à l'éthanol après chaque test. Elle pouvait être placée à deux distances différentes, soit à 60 cm du pont sur lequel les fourmis étaient prélevées ou à plus de 100 m de celui-ci. L'orientation des fourmis a aussi été testée directement sur la piste : les fourmis étaient prélevées de la même façon que décrite précédemment mais relâchées sur le pont en V, au même endroit que leur capture. Les fourmis étaient ensuite suivies sur une section du pont de 60 cm de long centré sur le point de capture,

et la direction des fourmis au moment où elles sortaient de cette section (nid ou tas de feuilles) était notée. Trois catégories de fourmis ont été testées : les fourmis sortant du nid et se dirigeant vers le tas de feuilles, et celles revenant au nid, chargées et non chargées. Cinquante fourmis par catégorie et par nid ont été testées dans les 3 conditions expérimentales (lâcher sur le pont, à 60 cm de celui-ci, ou à 100 m).

Toutes les expériences d'orientation individuelle ont été effectuées par temps clair et ensoleillé.

II. 3. Analyses statistiques

Les géométries des pistes construites ont été regroupées selon 4 types de géométrie (Fig. 2) : piste suivant le chemin le plus court pour rejoindre la piste en activité (type 1), piste suivant le tracé du pont (type 2), piste suivant un chemin plus long (type 3), et enfin, géométrie « autre » (type 4) qui regroupe toutes les configurations non comprises dans les précédentes.

La fréquence de ces 4 types de géométrie a été comparée pour les deux configurations du pont (pointe du V tournée vers le nid ou à l'opposé du nid) avec un test de χ^2 d'indépendance (χ^2 test of independance). Si la géométrie de la construction d'une nouvelle piste s'effectue au hasard, nous pourrions nous attendre à une distribution des géométries égale entre les 4 configurations, nous avons donc comparé les fréquences obtenues à des fréquences théoriques ($\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}$) en utilisant un test de χ^2 d'adéquation (χ^2 goodness of fit test).

Pour l'orientation individuelle, nous avons utilisé des statistiques circulaires pour calculer le vecteur moyen de la direction de fuite des ouvrières pour chaque condition et chaque catégorie de fourmis (Batschelet 1981). L'uniformité des distributions a été testée avec un test de Rao. Nous avons ensuite comparé la direction du vecteur moyen des distributions avec les directions du nid et du tas de feuilles (direction vraie pour les lâchers à 60 cm du pont, direction astronomique pour les lâchers à 100 m) en utilisant un V test. Pour la condition où les fourmis ont été testées directement sur le pont, le nombre de fourmis se dirigeant vers le nid et celui se dirigeant vers le tas de feuilles ont été comparés aux fréquences théoriques ($\frac{1}{2}, \frac{1}{2}$) à l'aide d'un test de χ^2 d'adéquation (χ^2 goodness of fit test).

Tous les tests statistiques ont été effectués avec le logiciel R 2.13.1 (R Development Core Team, 2011).

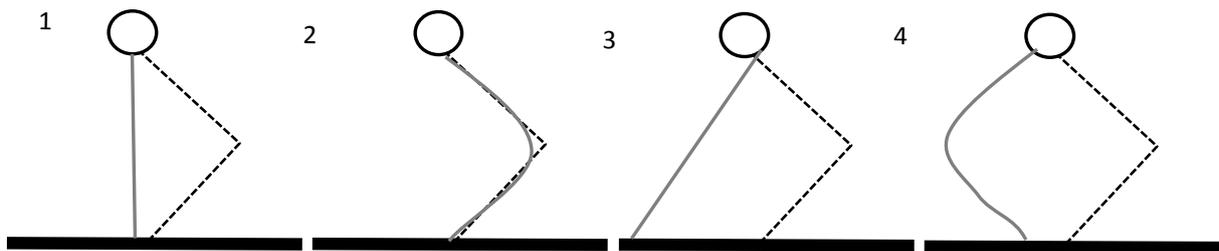


Figure 2 : Types de géométrie de pistes physiques observés après retrait du pont en V. Le cercle correspond au tas de feuilles, la ligne noire en continu à la piste en activité, la ligne noire en pointillés à l'emplacement du pont, la ligne grise à la nouvelle piste construite après le retrait du pont. 1= chemin court, 2= chemin suivant le l'emplacement du pont, 3= chemin long (ce tracé peut également se trouver symétriquement opposé à celui représenté ici, en fonction des 2 configurations dans laquelle est placé le pont : angle du pont vers le nid ou non), 4= autre, ici est représenté un exemple de tracé qui ne correspond à aucune des configurations attendues

III. Résultats

III. 1. Construction d'une nouvelle piste

L'orientation de la pointe du pont (vers le nid ou non) n'a pas d'impact sur la fréquence des différents types de géométrie observés pour la nouvelle piste (Fig. 3 ; $\chi^2 = 7,15$; $dl = 3$; $P = 0,067$). Mais les 4 configurations sont significativement différentes des fréquences théoriques choisies (Fig. 2 ; $\chi^2 = 29,30$; $dl = 3$; $P < 0,0001$).

Condition 1+2

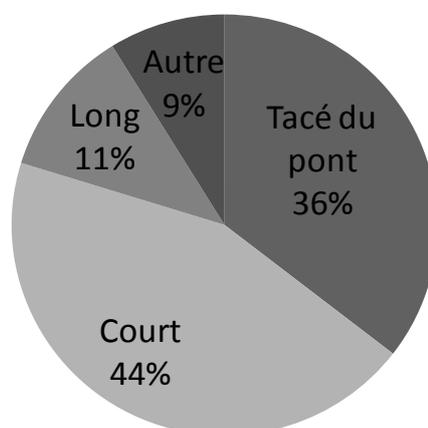


Figure 3 : Pourcentage des 4 types de géométrie observés pour les deux configurations dans laquelle est placé le pont (pointe vers le nid ou à l'opposé de celui-ci). N= 60 tests.

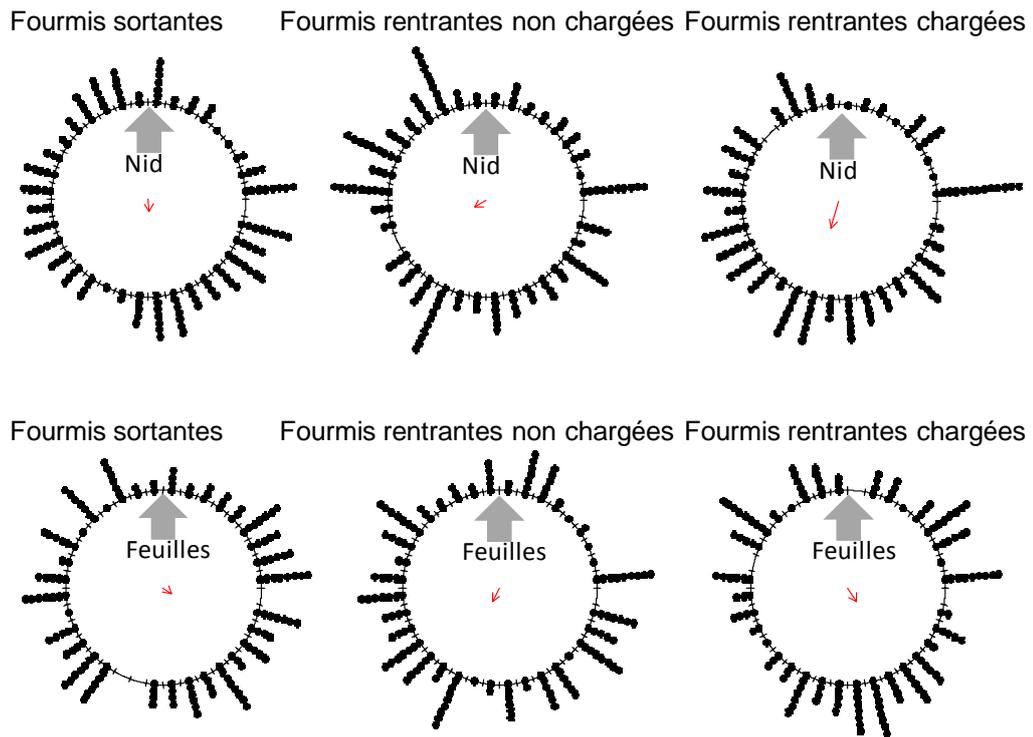


Figure 5 : Histogrammes circulaires de la direction de fuite des fourmis testées à plus de 100 m de leur point de capture. La flèche grise représente la direction du nid ou du tas de feuilles. La flèche rouge représente le vecteur moyen de la distribution circulaire. Les distributions ont été normalisées de façon à ce que la direction théorique testée se situe vers le haut de la page. N= 50 pour chaque catégorie de fourmis.

Les fourmis sortant du nid se dirigent aussi bien vers le nid que vers le tas de feuilles après avoir été relâchées sur la piste (Fig. 6 ; $\chi_2 = 1,30$; $dl= 1$; $P= 0,253$). Les fourmis retournant au nid par contre se dirigent significativement vers le nid, qu'elles soient chargées (Fig. 6 ; $\chi_2 = 14,10$; $dl= 1$; $P<0,0001$) ou non chargées (Fig. 5 ; $\chi_2 = 19,44$; $dl= 1$; $P<0,0001$).

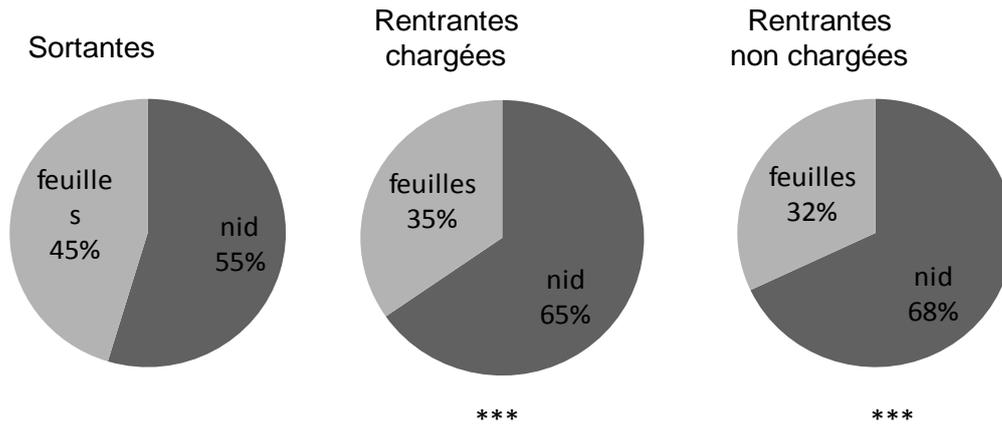


Figure 6 : Pourcentage de fourmis lâchées sur le pont à l'emplacement de leur point de capture et se dirigeant vers le nid ou vers le tas de feuille. N= 50 pour chaque catégorie de fourmis. *** : $P < 0,0001$

IV. Discussion

Les fourmis coupeuses de feuilles construisent leurs pistes physiques en fonction du chemin le plus court pour rejoindre la piste la plus proche (44% des pistes construites). Elles semblent par conséquent préférer réduire les coûts énergétiques liés à la construction d'une piste (Howard 2001), plutôt que de réduire leur temps de trajet (chemin long 11% des pistes). Ces résultats diffèrent de ceux observés chez les fourmis du genre *Messor*, où il a été montré que les pistes étaient construites selon un compromis entre ces deux stratégies (Acosta et al. 1993). Il est à noter que la végétation autour des nids de *Messor* est généralement plus parsemée que chez les *Atta*, ce qui pourrait induire un coût de construction de la piste moins élevé chez les *Messor* que chez les *Atta* et expliquer ces résultats. De plus, Acosta et al. (1993) basent leur conclusion exclusivement sur la mesure des angles formés par les embranchements des pistes, la longueur et la géométrie des pistes construites n'étant pas prises en compte. Or, nous avons également trouvé que, bien que le tracé des nouvelles pistes soit rectiligne dans sa plus grande partie, toutes les pistes nouvellement créées possèdent un angle d'embranchement similaire avec la piste active, les nouvelles pistes déviant sur les derniers 10 cm pour rejoindre la piste active selon un angle d'environ 60° (données non présentées). De plus, le protocole utilisé par Acosta et al. (1993) est différent du nôtre. En effet les pistes formées lors de cette étude l'étaient naturellement, c'est-à-dire sans ajout de nourriture de la part des expérimentateurs. Les scouts

découvrent les nouvelles sources de nourriture et mènent les fourrageuses à ces sources en déposant une piste chimique. Il est donc très probable qu'un petit nombre de fourmis (les scouts) soient à l'origine du tracé de la piste chimique, et par la suite de celui de la piste physique. Or dans notre expérience les fourmis ont directement eu accès aux ressources par l'intermédiaire du pont en bois, sans qu'un recrutement par des scouts soit nécessaire, ce qui pourrait mener à des résultats différents de ceux observés lorsque les pistes se forment naturellement (Kost et al. 2005). Étonnamment, sur les 60 répliques de l'expérience réalisées, on observe dans 27% des cas la construction simultanée de deux pistes physiques avec des géométries différentes. Le coût énergétique de la construction de la piste ne semble donc pas être très important, comme l'a confirmé Howard (2001). Malgré cela les fourmis privilégient une stratégie de construction de la piste le long du chemin le plus court. Le temps de construction d'une piste physique est extrêmement variable (voir chapitre 1). En construisant une piste selon le chemin le plus court, les fourmis assurent donc peut être dans un premier temps une durée de construction réduite qui leur permettra d'acheminer les fragments de feuilles plus rapidement au nid, la construction d'une piste plus longue mais plus optimale en terme de temps de trajet s'effectuant peut être dans un deuxième temps.

Les fourmis construisent également leurs pistes en suivant le tracé du pont (36% des pistes). Huit pistes ont même été construites en reproduisant l'angle droit du pont (4 pour chacune des 2 configurations du pont). Cela prouve que les fourmis sont capables d'utiliser leurs capacités d'orientation et de mémorisation pour construire une piste selon un trajet précédemment appris. Ces résultats démontrent également, en accord avec les résultats d'orientation individuelle (voir ci-dessous), que les fourmis utilisent principalement des repères terrestres (visuels) pour s'orienter. Cette configuration de piste n'est pas optimale en termes de coût de construction et de temps de trajet. La construction dans un deuxième temps d'une deuxième piste, plus courte en termes de temps de trajet, pourrait donc permettre aux fourmis d'améliorer leur efficacité de fourragement.

La construction de nouvelles pistes ne correspondant à aucune des géométries attendues (géométrie « autre » : 9%), peut s'expliquer par les hétérogénéités du terrain : les fourmis pourraient construire leur piste de manière à éviter certains obstacles ou dénivelés de terrain.

Concernant l'orientation individuelle, nos résultats sont en contradiction avec ceux décrits par Bank et Srygley (2003). Leur étude montre qu'en condition ensoleillée les fourmis arrivent parfaitement à s'orienter en direction du nid, alors qu'en conditions nuageuses les

fourmis utilisent le champ magnétique terrestre pour s'orienter, concluant ainsi que les *Atta* se servent du compas solaire pour s'orienter. Or dans notre expérience les fourmis testées à plus de 100 m de leur nid (donc sans repères terrestres connus) n'arrivent pas à s'orienter, quelle que soit leur sens de déplacement sur la piste avant capture, montrant ainsi leur incapacité à se servir du compas solaire ou du champ magnétique terrestre. Plusieurs hypothèses pourraient être avancées pour expliquer ces différences de résultats. Premièrement, le temps écoulé entre le moment de la capture et le moment du test : dans nos expériences, contrairement à celles de Bank et Srygley (2003), les fourmis été capturées par groupe de 50 et un temps plus ou moins long pouvait s'écouler jusqu'au test. Les fourmis pouvaient ainsi passer plus de 60 min enfermées dans une boîte. Les conditions de capture et d'enfermement pourraient compromettre les capacités d'orientation des fourmis. Deuxièmement, dans les expériences de Bank et Srygley (2003), les fourmis étaient testées à proximité d'une piste physique. En fait, la piste physique arrivait dans leurs expériences directement dans le dispositif (une tente) où les fourmis étaient prélevées. Dans nos expériences les fourmis étaient transportées passivement jusqu'au lieu de test, or le transport passif pourrait également perturber les capacités d'orientation (Fourcassié et al. 2000), les fourmis ayant généralement besoin de parcourir leur trajet activement pour le mémoriser (Collett et al. 2003). Enfin, il est très probable que seules certaines fourmis, les scouts, s'aventurent hors des pistes physiques, et sur de longues distances qui plus est. Les fourmis scouts ont généralement des plus grandes capacités de navigation (Baader 1996; Grasso et al. 1997; Offord et al. 2013). Il serait donc intéressant de refaire cette expérience en prélevant cette fois des fourmis se déplaçant en dehors des pistes. Nous avons d'ailleurs observé trois comportements différents lors de nos expériences, une fois les individus relâchés au centre du dispositif : les fourmis pouvaient soit partir à toute vitesse en ligne droite avec les mandibules grandes ouvertes dès leurs lâchés sur la planche (comportement agonistique, montrant très probablement que ces fourmis étaient perturbées suite à leur capture), soit effectuer des cercles de plus en plus grands sur le dispositif avec les antennes au sol (ces fourmis recherchaient très probablement une piste chimique (voir Wetterer et al. 1992)), soit présenter un comportement dit de « scan », c'est-à-dire que les fourmis après s'être nettoyées les antennes et les yeux se dressaient sur leur pattes, la tête et les antennes hautes, et effectuaient plusieurs tours sur elles-mêmes. Nous n'avons pas pris en compte ces trois comportements dans nos analyses, mais il est fort probable que seules les fourmis montrant un comportement de « scan » arrivent à s'orienter, et il ne serait également pas étonnant que ces fourmis soient des scouts.

Quand les fourmis sont en présence de repères terrestres par contre (testées à 60 cm du point de capture), les fourmis sortant et revenant au nid non chargées s'orientent vers le tas de feuilles. Le tas de feuilles en lui-même et le dispositif expérimental pourraient être utilisés comme repères visuels (et aussi olfactif pour les feuilles) par les fourmis : les fourmis perdues (car transportées passivement) se dirigeraient vers ce repère visuel (et possiblement olfactif) proche et saillant dans leur environnement, repère dont elles auraient mémorisé la position par rapport à la piste au cours des trajets précédents, pour ensuite rejoindre la piste physique les menant au nid. Cependant, les fourmis chargées n'arrivent pas à s'orienter, que ce soit vers le nid ou vers le tas de feuilles. Les fourmis chargées ont généralement une plus grande motivation à rentrer au nid (Hölldobler et Wilson 1990), ces résultats sont donc surprenants mais identiques à ceux rapportés chez *A. cephalotes* (Wetterer et al. 1992). Wetterer et al. (1992) suggèrent que les fourmis chargées ne s'orientent pas vers une direction précise car elles sont à la recherche d'une piste chimique. De plus, il a été montré que chez les fourmis *Messor*, qui construisent également des pistes physiques, que les fourmis ne s'orientent pas vers le nid mais vers les pistes (Offord et al. 2013). Or dans notre expérience la piste se trouve tout autour du dispositif (pont en V + piste physique en activité avant l'expérience). Les fourmis chargées pourraient donc s'orienter vers la piste entourant le dispositif, suivant différentes directions de fuites. Pour tester cette hypothèse, il faudrait refaire cette expérience mais sans laisser le pont en V au moment des tests. Lorsque les fourmis sont testées directement sur leur point de capture (le pont) par contre, les fourmis retournant au nid (chargées et non chargées) repartent en direction du nid, alors que les fourmis sortantes repartent aussi bien en direction du nid qu'en direction de la ressource.

Il est assez difficile de tirer des conclusions au vu de ces résultats car il semble y avoir de grandes variabilités interindividuelles. Ces variabilités pourraient être la conséquence de l'expérience acquise de chaque individu : une fourmi a généralement besoin de faire plusieurs trajets avant de mémoriser un chemin (Collett et al. 2003). Or, parmi les fourmis prélevées lors de nos expériences il se pourrait qu'il y ait des fourmis naïves sortant du nid pour la première fois. Un plus grand échantillonnage nous aurait peut-être permis de nous affranchir de ce biais. De plus, le pont utilisé n'était laissé en place que pendant 12 h, ne permettant ainsi sans doute pas l'apprentissage du trajet par la totalité des fourmis prélevées pour les tests.

V. Conclusion

Les fourmis coupeuses de feuilles construisent leurs pistes physiques en fonction du chemin le plus court pour rejoindre la piste la plus proche (44%), mais se servent également de leur mémoire spatiale pour construire leurs pistes, même si le chemin le long duquel la piste est construite n'est pas le plus optimal (36%). La construction de deux pistes simultanées, menant à la même ressource, confirme le faible coût de construction des pistes (Howard 2001) et laisse envisager la possibilité d'une construction ultérieure d'une nouvelle piste, peut-être plus longue à construire mais dont la géométrie est optimale.

Les résultats des expériences d'orientation au niveau individuel ont confirmé que les fourmis coupeuses de feuilles sont capables d'utiliser des indices terrestres, bien qu'il existe une forte variabilité interindividuelle dans leurs performances. Cette forte variabilité confirme donc le rôle de « mémoire collective » des pistes physiques (Shepherd 1982), puisqu' en cas de dégradation de la piste chimique (par de fortes pluies par exemple), un grand nombre d'individus serait incapable de s'orienter.

Il serait donc intéressant d'étudier les capacités cognitives des fourmis scouts lors de l'orientation individuelle, mais également le rôle particulier qu'elles peuvent avoir dans la géométrie de la construction des pistes physiques. Puisque ces fourmis ont pour rôle de découvrir des nouvelles ressources et de recruter leurs congénères vers celles-ci, il ne serait pas étonnant que la géométrie des pistes physiques s'établisse selon les trajets retours de ces scouts.

**Chapitre 3 - Fonctions des tunnels
d'approvisionnement : étude comparée de
la thermotolérance chez deux espèces
sympatriques de fourmis coupeuses de
feuilles**

I. Introduction

La valeur adaptative d'un individu dépend de ses capacités à s'adapter à son environnement thermique. Ceci est d'autant plus vrai pour les animaux ectothermes, tels que les insectes, chez lesquels le développement (Czarnoleski et al. 2013), la croissance, la fécondité (Dillon et al. 2009), et les capacités de locomotion (Angilletta et al. 2002) dépendent directement de la température ambiante. La thermotolérance des insectes, c'est-à-dire leur résistance à la chaleur, est fortement corrélée à leurs environnements naturels. Ainsi d'un point de vue global, les insectes vivant à hautes latitudes ou altitudes ont généralement une plus grande thermotolérance car ils sont exposés à des températures extrêmement variables (Chown et al. 2002; Sunday et al. 2011). A plus petite échelle la thermotolérance peut aussi varier localement entre insectes vivant dans le même biotope : les fourmis arboricoles par exemple, dont les nids sont exposés à de fortes températures, sont plus résistantes à la chaleur que les fourmis vivant au sol dans le même milieu (Hood et Tschinkel 1990).

Les insectes ont développé plusieurs types de traits adaptatifs qui leur permettent de résister à la chaleur et à la dessiccation (Chown et Nicolson 2004). Ces traits peuvent être d'ordre morphologique (augmentation de la taille du corps ou de la pigmentation cuticulaire par exemple), ou d'ordre physiologique (production accrue de protéines « *heat-shock* » : Gehring et Wehner 1995). Mais ils peuvent aussi être d'ordre comportemental : comportement d'agrégation (Waldbauer 2001), ou encore utilisation de refuges thermiques par exemple (Wehner et al. 1992). Les insectes peuvent également rapidement adapter leur thermotolérance aux changements climatiques survenant dans leur environnement. Les fourmis coupeuses de feuilles de l'espèce *Atta sexdens* par exemple sont plus résistantes à la chaleur lorsqu'elles se trouvent dans des colonies se situant en zones urbaines que lorsqu'elles se trouvent dans des colonies situées en zones rurales (Angilletta et al. 2007).

Les insectes sociaux ont un avantage supplémentaire par rapport aux insectes solitaires. Ils sont en effet capables de construire collectivement des nids ayant des structures complexes dans lesquels la température et l'humidité sont maintenues à peu près constantes par contrôle passif ou actif (Jones et Oldroyd 2007; Bollazzi et Roces 2010a; Bollazzi et Roces 2010b). Les fourmis coupeuses de feuilles, que l'on rencontre essentiellement dans les régions tropicales du Nouveau monde et qui peuvent donc être exposées à des températures élevées (Hölldobler et Wilson 2010), construisent ainsi des nids souterrains pouvant contenir des milliers de chambres dans lesquelles la température et l'humidité sont maintenues à des valeurs très stables afin de

réunir les conditions optimales pour la croissance de leur couvain et de leur champignon symbiote (Hölldobler et Wilson 2010). La régulation de la température dans les nids peut se faire passivement, par conduction thermique (Bollazzi et al. 2012), ou activement, par ouverture et fermeture des entrées du nid par les ouvrières (Bollazzi et Roces 2010a).

Atta capiguara et *Atta laevigata* sont deux espèces de fourmis coupeuse de feuilles dont les nids peuvent se trouver dans les mêmes pâturages au Brésil. Alors qu'*A. capiguara* récolte exclusivement des monocotylédones (graminées), *A. laevigata* peut quant' à elle récolter aussi bien des monocotylédones que des dicotylédones (feuilles) (Della Lucia et al. 2014). Ces deux espèces sont caractérisées par une architecture de nid bien différente : *A. capiguara* construit en effet des tunnels de fourragement plus longs et plus profonds qu'*A. laevigata*. Ceci pourrait constituer un trait adaptatif permettant aux ouvrières de l'espèce *A. capiguara* les moins résistantes à la chaleur de se déplacer jusqu'aux zones de fourragement en ne s'exposant pas aux hautes températures du milieu extérieur. Pour tester cette hypothèse nous avons mesuré la survie des ouvrières de ces deux espèces lorsqu'elles sont exposées pendant plusieurs heures à des températures élevées. Nous avons également étudié si cette survie pouvait varier avec la taille des ouvrières et dépendre de leur contenu en eau.

II. Matériels et méthodes

II. 1. Site d'étude et matériel biologique

Trois colonies d'*A. laevigata* et trois colonies d'*A. capiguara* ont été utilisées dans cette étude. Les colonies se trouvaient dans un pâturage près du campus de l'UNESP (Université d'Etat de Sao Paulo), à Botucatu (22°50'46''S, 48°26'02''W). Les fourmis utilisées pour cette expérience ont été prélevées sur les pistes physiques principales des nids, entre 7 h et 9 h du matin, d'octobre 2012 à mars 2013.

II. 2. Protocole expérimental et données récoltées

Les fourmis prélevées sur le terrain étaient échantillonnées de manière à avoir la plus grande variabilité possible dans la taille des ouvrières. De retour au laboratoire, les fourmis étaient pesées (poids frais) à l'aide d'une balance de précision puis immédiatement placées individuellement dans des tubes Eppendorf. Un coton imbibé d'eau était placé dans chaque tube Eppendorf afin de saturer l'air en humidité. Après une période d'acclimatation de 30 min dans

la pièce à 25 °C, les tubes étaient placés dans un bain-marie qui pouvait être réglé sur trois températures : 25 °C (température contrôle), 37 °C et 39 °C (températures tests, qui correspondent aux températures maximales atteintes à Botucatu en 2012). L'état de chaque fourmi (morte ou vivante) était noté toutes les 5 min, pendant 5 h maximum. Lorsqu'une fourmi était notée morte, elle était immédiatement sortie du bain-marie puis placée dans une étuve à 50 °C pendant 3 jours. A l'issue de ces 3 jours, la fourmi était pesée (poids sec). Les fourmis des deux espèces étaient testées en même temps dans le bain-marie, par groupe de 20 individus de chaque espèce. Au total, 120 fourmis ont été testées pour chaque température et chaque espèce, soit 40 fourmis par colonie.

II. 3. Analyses statistiques

Nous avons utilisé le package *coxme* du logiciel R pour effectuer les analyses de survie (Therneau 2012). Les données de longévité pour 37 °C et 39 °C ont été comparées à l'aide de deux modèles de Cox mixtes à risque proportionnel. Les fourmis toujours en vie après 5 h d'observation étaient considérées comme données censurées. Pour étudier l'effet de la taille des ouvrières sur la survie des fourmis, nous avons classé les ouvrières en 4 catégories en fonction de leur poids : >3 mg, 3-6 mg, 6-12 mg, et <12 mg. Les effets sur la survie du facteur espèce (2 niveaux : *A. capiguara* et *A. laevigata*), de la catégorie de taille (4 niveaux), ainsi que l'effet lié à l'interaction entre ces deux variables ont été testés dans le modèle de Cox. La variable colonie a été rentrée dans le modèle comme variable aléatoire. Chaque effet a été testé en comparant à l'aide d'un test de χ^2 l'amplitude de la variation de vraisemblance des deux modèles incluant ou non l'effet.

Le pourcentage en eau contenu dans les corps des fourmis a été calculé selon la formule: $(1 - \text{poids sec} / \text{poids frais}) \times 100$. Le pourcentage en eau a été comparé entre chaque catégorie de taille pour chaque espèce avec un test de Kruskal Wallis. Puis, pour chaque catégorie de taille, le pourcentage en eau dans le corps des fourmis a été comparé entre espèces avec un test de Wilcoxon Mann-Whitney.

Tous les tests statistiques ont été effectués avec le logiciel R 2.13.1 (R Development Core Team, 2011).

III. Résultats

Dans le bain marie à 25°C (condition contrôle), une ouvrière d'*A. laevigata* et deux ouvrières d'*A. capiguara* seulement sont mortes avant la fin des expériences (à la 285^{ième} minute, et à la 15^{ième} et 210^{ième} minute, respectivement). Du fait de ce très faible taux de mortalité, les données obtenues à 25°C n'ont donc pas été incluses dans nos analyses statistiques.

Indépendamment de leurs tailles, les ouvrières d'*A. laevigata* et d'*A. capiguara* survivent bien plus longtemps à 37°C qu'à 39°C (Fig. 1). Les résultats montrent un effet significatif de l'espèce et de la classe de taille, aussi bien à 37°C qu'à 39°C (Effet espèce: $\chi_2= 53,26$; $P<0,001$ et $\chi_2= 124,76$; $P<0,001$; effet classe de taille : $\chi_2= 64,68$; $P<0,001$ et $\chi_2= 133,87$; $P<0,001$ pour 37°C et 39°C, respectivement), mais pas d'interaction significative entre ces deux effets ($\chi_2= 6,81$; $P= 0,078$; et $\chi_2= 5,55$; $P= 0,536$; pour 37°C et 39 °C, respectivement). Quelle que soient leurs tailles et la température à laquelle elles ont été testées, d'une façon générale les ouvrières d'*A. laevigata* sont bien plus résistantes aux hautes températures que les ouvrières d'*A. capiguara* (Fig. 1). L'effet de la taille sur la survie est plus prononcé pour *A. capiguara* que pour *A. laevigata* à 37 °C, mais est comparable pour les deux espèces à 39 °C.

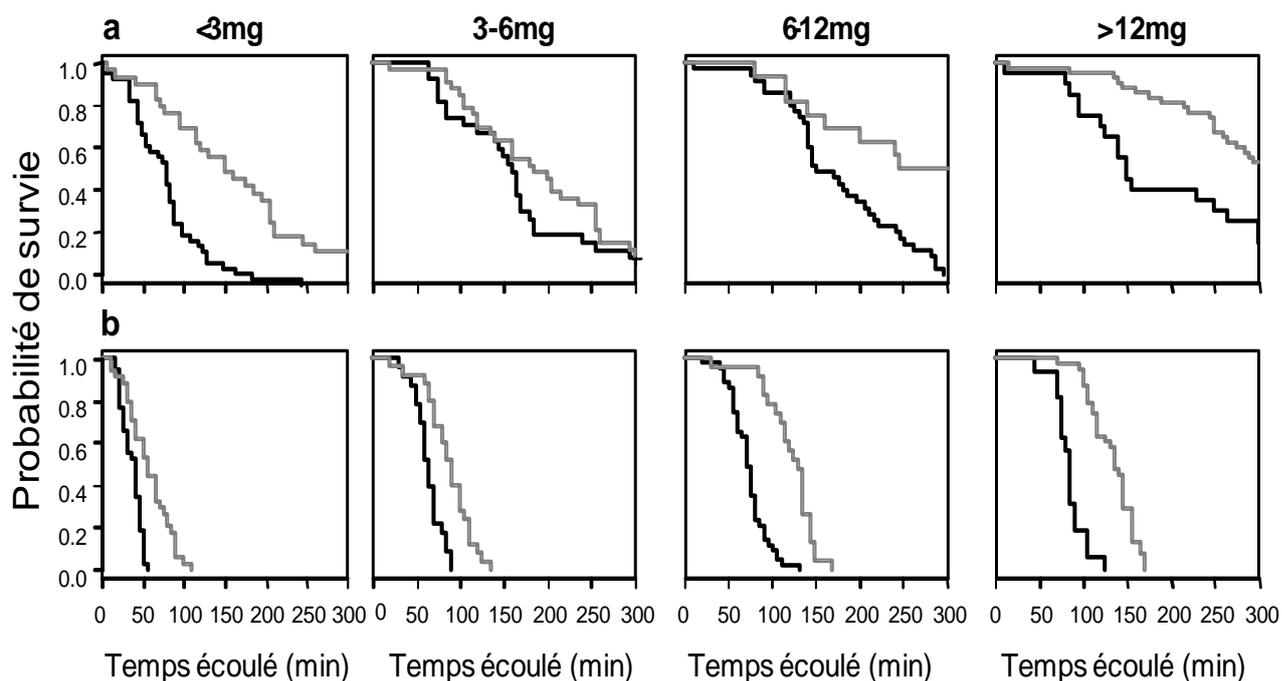


Figure 1 : Courbes de survie des deux espèces étudiées pour chaque catégorie de tailles à a) 37 °C et b) 39 °C. Ligne grise : *A. laevigata*, ligne noire : *A. capiguara*.

Le pourcentage en eau varie significativement entre les classes de tailles pour l'espèce *A. capiguara* ($K= 9,139$; $dl= 3$; $P<0,05$), mais pas pour l'espèce *A. laevigata* ($K= 6,513$; $dl= 3$; $P= 0,0891$).

Excepté pour les fourmis les plus grosses (>12 mg : $W= 1094,5$; $P= 0,258$), les ouvrières d'*A. laevigata* ont un contenu en eau dans leurs corps plus important que celles d'*A. capiguara* (<3 mg: $W = 3296,0$; $P<0,001$; 3-6 mg: $W= 1908,0$; $P<0,001$; 6-12 mg: $W = 1545,0$; $P<0,001$) (Fig. 2).

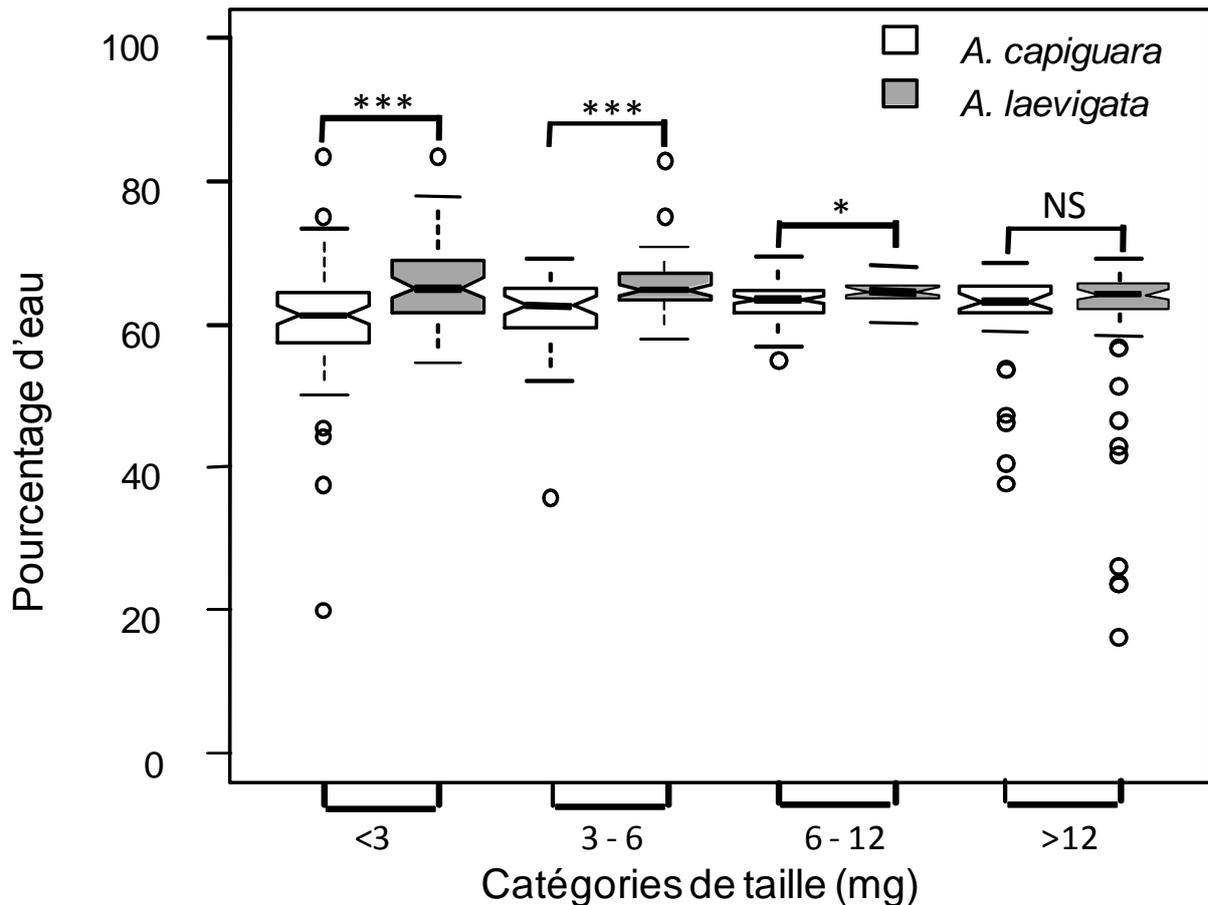


Figure 2 : Boîtes à moustache des pourcentages en eau dans les corps des deux espèces de fourmis pour chaque catégorie de taille. En gris: *A. laevigata*, en blanc : *A. capiguara*. *** : $P < 0,001$; * : $P < 0,05$; NS: non significatif (Wilcoxon test)

IV. Discussion

Le taux de mortalité des ouvrières des deux espèces *A. laevigata* et *A. capiguara* est extrêmement faible quand elles sont placées à 25 °C (température contrôle) et ne diffère pas entre les deux espèces. Ce résultat montre que les fourmis ne sont pas perturbées par les manipulations lors de nos expériences. A plus hautes températures (37 °C et 39 °C) cependant, les ouvrières d'*A. laevigata* sont plus résistantes que celles d'*A. capiguara*, indépendamment de leurs tailles. Le pourcentage d'eau dans le corps des ouvrières d'*A. laevigata* est plus important que dans celui des ouvrières d'*A. capiguara*, ce qui pourrait expliquer cette plus grande résistance à la chaleur. Néanmoins, le pourcentage en eau des fourmis de grandes tailles

(>12 mg) n'est pas significativement différent entre les deux espèces, bien que les fourmis de grandes tailles d'*A. laevigata* soient plus résistantes à la chaleur. D'autres facteurs permettant de réduire la perte en eau pourraient être impliqués, tels que l'épaisseur de la cuticule, la quantité et la composition des hydrocarbures cuticulaires (Hood et Tschinkel 1990), ou encore la présence de certains composés métaboliques augmentant la résistance au stress lié à la déshydratation (Chown et al. 2011).

Dans nos expériences, la résistance à la chaleur augmente en fonction de la taille des individus pour les deux espèces. Ces résultats confirment ceux obtenus pour d'autres espèces de fourmis, montrant que le taux de perte en eau est plus faible chez les fourmis de grandes tailles (Clemencet et al. 2010), même après ajustement de la perméabilité cuticulaire (Lighton et al. 1994). Les fourmis de grandes tailles sont généralement plus résistantes car la surface corporelle d'une ouvrière s'accroît moins vite que sa masse, ce qui rend la dessiccation des grandes fourmis plus lente par rapport aux plus petites ouvrières (Hood et Tschinkel 1990). De plus, les ouvrières de grandes tailles peuvent également posséder de plus grandes réserves en eau (Kaspari 1993; Lighton et al. 1994; Cerdá 2001).

A. laevigata et *A. capiguara* étant deux espèces pouvant se trouver dans le même biotope, il est probable que cette dernière ait développé des traits adaptatifs comportementaux lui permettant de réduire son exposition aux fortes chaleurs de son environnement. *A. capiguara* pourrait par exemple éviter les fortes températures en modulant son activité en fonction des fluctuations journalières et saisonnières de la température ambiante (Kay et Whitford 1978; Jayatilaka et al. 2011), et de l'humidité (Kaspari et Weiser 2000). Et en effet, il a été démontré que le rythme d'activité de fourragement d'*A. capiguara* est corrélé aux températures ambiantes mais également au taux d'humidité (Caldato et al. en préparation), comme c'est le cas pour d'autres d'espèces d'*Atta* (*A. colombica* : Rockwood 1975; *A. cephalotes* : Lewis et al. 1974). Les études réalisées sur *A. laevigata* sont plus controversées : en savane tropicale le rythme d'activité de cette espèce ne semble pas dépendre de facteurs environnementaux (Farji-Brener 1993), alors qu'en forêt tropicale l'activité est limitée par les fortes pluies en saison humide (Vasconcelos 2002). Dans le pâturage dans lequel nous avons prélevé nos individus, l'activité de fourragement d'*A. laevigata* dépend des fluctuations saisonnières puisque, de la même façon que pour *A. capiguara*, l'activité cesse pendant la journée en période sèche. Cependant, l'activité de fourragement d'*A. laevigata* semble se maintenir sur des périodes plus longues en début de matinée (*observation personnelle*). De plus, *A. laevigata* est une espèce possédant un plus grand polymorphisme (étendue de poids secs mesurés lors de nos expériences : 0,50-41,70

mg et 0,70-92,30 mg, pour *A. capiguara* et *A. laevigata* respectivement). Puisque les fourmis de plus grandes tailles sont plus résistantes à la dessiccation que celles de plus petites tailles, *A. laevigata* devrait donc fourrager sur des périodes d'activités plus longues qu'*A. capiguara*. Il serait intéressant d'étudier la distribution journalière et saisonnière de la taille des ouvrières d'*Atta* sur les pistes de fourragement car, en plus de dépendre du taux de parasitisme dans le milieu (Yackulic et Lewis 2007), la distribution des tailles pourrait également dépendre de la température ambiante, comme cela a déjà été montré chez d'autres espèces de fourmis (Retana et Cerda 1994; Cerda et Retana 1997; Cerda et Retana 2000). Un second trait adaptatif qui pourrait permettre à *A. capiguara* de réduire son temps d'exposition aux fortes chaleurs serait de modifier l'architecture des tunnels de fourragement partant du nid. Or *A. capiguara* construit des tunnels de fourragement généralement plus longs et plus profonds que *A. laevigata* (Moreira et al. 2004a; Bollazzi et al. 2012). Ceci pourrait donc permettre aux ouvrières de réduire le temps qu'elles passent à l'extérieur et donc le temps d'exposition aux températures élevées lorsqu'elles se déplacent sur les pistes. Cependant, il est probable que les ouvrières ne parcourent pas la totalité de la longueur des tunnels lorsqu'elles fourragent, mais qu'elles effectuent des transferts de charges une fois à l'intérieur des tunnels (Röschard et Roces 2011). Les tunnels pourraient alors servir de refuges thermiques, dans lesquels les ouvrières se réfugierait en cas d'augmentation trop rapide de la température.

V. Conclusion

L'architecture du nid et de ses infrastructures (tunnels de fourragement) pourrait donc constituer un caractère adaptatif du comportement de construction des ouvrières qui serait liée à la thermotolérance de l'espèce à laquelle elles appartiennent. L'espèce *A. laevigata* est une espèce possédant un plus grand polymorphisme et un pourcentage en eau dans le corps plus important que l'espèce *A. capiguara*. La construction de tunnels plus longs et plus profonds pourrait donc être une adaptation comportementale permettant à l'espèce *A. capiguara* de compenser l'absence d'adaptations morphologiques (plus grand polymorphisme) et physiologiques (contenu en eau plus important) aux hautes températures.

Chapitre 4 - Rôle des contacts entre ouvrières dans la régulation du recrutement alimentaire

I. Introduction

Des déplacements collectifs sont observés chez de nombreux organismes (Couzin 2009). Cependant, seuls les humains et les insectes sociaux sont connus pour se déplacer en flux bidirectionnels (Fourcassié et al. 2010). Chez les insectes sociaux ces flux se forment généralement du nid vers les sources de nourriture, les individus se déplaçant sur des pistes chimiques ou physiques. De nombreuses collisions ont alors lieu entre les individus se déplaçant en sens opposés (entre ceux sortant du nid et ceux rentrant au nid) ; ces collisions ont pour conséquence de diminuer de manière significative la vitesse de déplacement des individus et représentent donc un coût pour la colonie (Burd et al. 2002; Burd et Aranwela 2003; Burd 2006). Burd et Aranwela (2003) ont ainsi calculé qu'une ouvrière d'*A. cephalotes* se déplaçant sur une piste de 100 m peut entrer en collision avec plus d'une centaine d'autres ouvrières, ce qui entraîne une diminution de sa vitesse moyenne d'environ 16%. A l'instar des humains (Moussaid et al. 2011), deux types de stratégies peuvent être employées par les insectes sociaux pour réduire ces taux de collisions : le trafic peut s'organiser spatialement ou temporellement. Ainsi, les fourmis légionnaires (Couzin et Franks 2003) et certaines espèces de termites (Miura et Matsumoto 1998) ségrégent leurs flux en trois files : les individus chargés revenant au nid se déplacent au milieu de la piste, alors que ceux qui sortent du nid se déplacent sur les côtés de la piste. En cas de trafic trop important sur une piste, les fourmis peuvent aussi diviser leur flux et emprunter deux pistes différentes menant à la même source de nourriture (Dussutour et al. 2004). Suite à un encombrement, par exemple au niveau d'un rétrécissement de la piste, on peut également observer chez les fourmis une désynchronisation temporelle des flux entre les individus sortant et rentrant au nid (Dussutour et al. 2005; Dussutour et al. 2009a). Néanmoins, ces règles d'organisation du trafic ne semblent pas être suivies systématiquement par les fourmis. Ainsi, Burd (2006), contrairement à ce qu'avait observé Dussutour et al. (2009a) chez *A. colombica*, n'observe pas de changement d'organisation du trafic chez *A. cephalotes* après avoir diminué artificiellement la largeur de leur piste. Dussutour et al. (2007) ont en outre observé que, si les déplacements sur une piste étroite se traduisent tout naturellement par une diminution du nombre total de fourmis passant en un point de la piste, ils sont aussi accompagnés d'une augmentation de la proportion de fourmis revenant au nid chargées, c'est-à-dire d'une augmentation de l'efficacité du fourragement. Ces expériences suggèrent que les collisions entre fourmis, qui impliquent nécessairement des contacts antennaires, pourraient donner lieu à des transferts d'informations. Les fourmis sortant du nid, qui contactent au cours de leur trajet un grand nombre de fourmis rentrant au nid chargées d'un fragment de feuille,

pourraient être stimulées à récolter à leur tour, ce qui se traduirait par une augmentation de la proportion d'ouvrières rentrant au nid chargées, expliquant ainsi le résultat observé.

Le rôle des contacts antennaires dans la communication a fait l'objet de plusieurs travaux chez les insectes sociaux. Il a ainsi été montré que les contacts antennaires servent à la reconnaissance coloniale (et par extension à la défense du nid) mais qu'ils sont également liés aux comportements alimentaires. Ainsi, chez plusieurs espèces de fourmis (*Solenopsis invicta*, *Myrmica rubra*, *Lasius fuliginosus*) le taux de contacts antennaires reste constant entre individus quelle que soit leur densité, mais peut rapidement augmenter en présence d'individus étrangers (menace pour la colonie) ou en présence de nourriture (Gordon et al. 1993). Les contacts antennaires initient également la trophallaxie chez les abeilles (Winston 1991) et les fourmis (Hölldobler et Wilson 1990). Lors d'une trophallaxie, la fréquence et l'intensité de ces contacts augmentent en fonction de la qualité de la nourriture échangée (Goyret et Farina 2003; Mc Cabe et al. 2006; Wright et al. 2012), et de l'état de motivation de l'individu receveur (Mc Cabe et al. 2006; Wright et al. 2012), démontrant ainsi l'étendue de la complexité de ce mode de communication. Les contacts antennaires ont également un rôle décisif dans le recrutement vers les nouvelles sources de nourriture, aussi bien chez les abeilles, au cours de la danse frétilante (Gil et De Marco 2010), que chez les fourmis (Hölldobler 1999; Le Breton et Fourcassié 2004; Torres-Contreras et Vasquez 2007). Chez *Solenopsis invicta* par exemple, les ouvrières scouts revenant au nid après avoir découvert une nouvelle source de nourriture modulent leur comportement d'antennation en fonction de la qualité de la ressource qu'elles ont trouvée (Cassill 2003). Cette modulation disparaît cependant chez *Lasius niger* lorsque la colonie est en état de jeûne prolongé (Mailleux et al. 2010; Mailleux et al. 2011). Le rôle des contacts dans la récolte de nourriture chez la fourmi rouge moissonneuse *Pogonomyrmex barbatus* a été particulièrement bien étudié. Ainsi, le nombre d'ouvrières fourrageuses sortant du nid par unité de temps à la reprise de l'activité journalière le matin dépend directement du taux de retour au nid des ouvrières patrouilleuses (Greene et Gordon 2007b). Une fois que l'activité de récolte a été initiée, seules les ouvrières revenant au nid chargées de nourriture ont un impact sur le taux de sortie des ouvrières fourrageuses (Schafer et al. 2006). Le taux de sortie des ouvrières chute entre 2 et 3 min après avoir retiré manuellement toutes les fourmis revenant chargées vers le nid, et il se rétablit 5 min après l'arrêt de la manipulation (Gordon et al. 2008). L'introduction de leurres dans le nid (billes de verre recouvertes d'hydrocarbures cuticulaires prélevés sur des ouvrières scouts et/ou odeur de nourriture -acide oléique) a permis de montrer que cette modulation n'était possible que grâce au contact de l'ouvrière et de sa charge, car

seuls les leurres recouverts des deux odeurs ont un impact sur le taux de sortie des ouvrières (Prabhakar et al. 2012; Greene et al. 2013). Une telle modulation n'est cependant pas observée chez les fourmis coupeuses de feuilles. Ainsi, Burd (2000b), après avoir retiré d'une piste pendant deux heures toutes les fourmis chargées revenant au nid, n'a observé aucun changement dans le taux de sortie des fourrageuses. D'autres expériences ont montré toutefois que les ouvrières chargées pouvaient jouer un rôle important chez ces fourmis. Il a été par exemple démontré que les fourmis recrutées par une ouvrière scout ramenant une ressource de bonne qualité se déplaçaient plus rapidement et ramenaient plus de fragments de feuilles, et cela même lorsque la ressource récoltée est de qualité inférieure à celle ramenée initialement par l'ouvrière scout à l'initiative du recrutement (Roces 1993). De plus, Roces et Nuñez (1993) et Bollazzi et Roces (2011) ont montré que les fourmis recrutées découpent des fragments de feuilles plus petits une fois arrivées à la ressource, ce qui leur permet d'augmenter leur vitesse de déplacement sur le chemin de retour, et donc de contacter plus rapidement un plus grand nombre d'ouvrières. Ces mêmes auteurs observent également que les fourmis sortantes ont significativement plus de contacts antennaires que les fourmis rentrantes en début de récolte, ce qui suggère qu'elles sont à la recherche d'informations. Farji-Brener et al. (2010) ont corroboré cette hypothèse en montrant qu'une fourmi sortant du nid a une probabilité plus importante de trouver une nouvelle ressource en dehors de la piste après avoir été en contact avec une fourmi revenant au nid et portant cette nouvelle ressource.

Si le rôle des contacts antennaires dans la communication sur les pistes d'approvisionnement chez les fourmis coupeuses de feuilles reste encore à préciser on sait depuis longtemps par contre que ces fourmis utilisent un recrutement de masse basé sur le dépôt d'une phéromone de piste (Tumlinson 1971) pour guider et recruter leurs congénères vers les nouvelles ressources découvertes. Cette phéromone composée de méthyl 4-méthylpyrrole-2-carboxylate est issue de la glande à venin des fourmis, et celles-ci la déposent en abaissant leur abdomen sur le sol (Morgan 2009). Le taux de recrutement est proportionnel à la densité des dépôts de phéromone sur la piste (Jaffé et Howse 1979). Les fourmis peuvent ainsi réguler le taux de recrutement en modulant individuellement leur comportement de dépôt de phéromone de piste en fonction de la qualité de la ressource qu'elles ont découverte (Jaffé et Howse 1979 ; Roces 1993 ; Roces et Nuñez 1993). Cependant, la piste chimique déposée par les *Atta* est extrêmement persistante. Les fourmis peuvent en effet suivre une piste qui a été déposée il y a plus de 6 jours (Moser et Silverstein 1967). Une fois la piste chimique établie, les fourmis pourraient donc moduler leur recrutement vers la ressource exploitée en utilisant d'autres modes

de communication. Il a par exemple été montré qu'elles pouvaient utiliser la stridulation comme signal de recrutement (Roces et al. 1993; Roces et Hölldobler 1996). Les contacts antennaires pourraient également jouer un tel rôle modulateur. On pourrait imaginer par exemple que lorsque le taux de contact entre ouvrières sortant du nid et ouvrières rentrant au nid chargées d'un fragment de feuille diminue du fait de l'épuisement progressif de la ressource exploitée, les fourmis sortant du nid effectuent plus de demi-tours ou aient une tendance plus élevée à choisir une autre piste lorsqu'elles arrivent à une bifurcation. Ceci éviterait qu'elles parcourent inutilement toute la longueur de la piste.

Jusqu'à présent, une seule étude s'est intéressée au rôle des contacts dans l'efficacité du fourragement, mais sans manipulation directe de ces contacts (Dussutour et al. 2007). Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés aux rôles respectifs des contacts et de la piste chimique dans l'activité de récolte de la fourmi coupeuse de feuilles *Atta laevigata*. Nous avons évalué l'impact des taux de contacts sur le recrutement et l'efficacité du fourragement, soit en diminuant ce taux de contacts, en retirant du flux retour des fourmis chargées ou non chargées, soit en l'augmentant, en mettant des fragments de feuilles en mouvement au-dessus de la piste. L'impact de la phéromone de piste a également été évalué en diminuant la densité de dépôts de piste chimique ou en la supprimant complètement.

II. Matériels et méthodes

II. 1. Conditions d'élevage

Deux colonies matures d'*Atta laevigata* (récoltées en 2008 près de Botucatu, état de Sao Paulo, Brésil) ont été utilisées pour ces expériences. Ces deux colonies étaient maintenues en conditions constantes de laboratoire (température : 25 ± 2 °C, humidité : $30 \pm 10\%$), sous un cycle jour : nuit de 12 : 12. Le champignon de chacune de ces deux colonies était maintenu dans des boîtes en PVC (l×L×H: 27×24×27 cm) fermées dans lesquelles étaient pratiqués des orifices pour l'aération. Les boîtes étaient reliées entre elles par des tuyaux de PVC. Une boîte ouverte servant d'aire de fourragement (l×L×H: 21×47×20 cm) et une autre de même dimension utilisée pour l'évacuation des déchets étaient également reliées à chacune des colonies. Les parois de ces boîtes étaient enduites de Fluon® afin d'empêcher les fourmis de s'échapper. Pendant la durée des expériences les colonies avaient accès en permanence à une réserve d'eau et étaient nourries *ad libitum* avec du pyracantha (*Pyracantha coccinea*, Rosaceae) récolté sur le campus de l'Université Paul Sabatier. Afin de motiver leur comportement de fourragement le substrat végétal utilisé pour les expériences était des ronces (*Rubus fruticosus*, Rosaceae,

substrat qu'elles préfèrent au pyracantha, cf. chapitre 5) également récolté sur le campus de l'Université Paul Sabatier. Les jours d'expérience ces ronces étaient récoltées le matin et conservées au réfrigérateur au cours de la journée.

II. 2. Dispositif expérimental

Une heure avant le début des expériences, le substrat végétal restant dans l'aire de fourragement était retiré. Un pont (longueur : 70 cm, largeur : 15 mm) était ensuite installé entre l'aire de fourragement et une seconde boîte (1×L×H: 30×46×12 cm) dans laquelle était déposé 3g de ronces prédécoupées en disque d'un centimètre de diamètre. La durée totale des expériences étaient de 70 min (Fig. 1). Les 30 premières minutes correspondaient à la phase de familiarisation avec le dispositif expérimental, les fourmis pouvant parfois mettre un certain temps avant d'emprunter le pont. Les 20 minutes suivantes correspondaient à la phase contrôle, durant laquelle aucune manipulation n'était réalisée. Et les 20 dernières minutes correspondaient à la phase test, où l'une des 9 manipulations décrites ci-dessous était appliquée. Lors du passage entre la phase contrôle et la phase test la boîte contenant les ronces était retirée et aussitôt remplacée par une nouvelle boîte contenant à nouveau 3 g de ronces. Les fourmis présentes dans la première boîte étaient alors placées le plus rapidement possible dans cette nouvelle boîte. Les fourmis présentes sur le pont n'étaient par contre pas retirées. Les flux de fourmis se déplaçant sur le pont pendant les phases contrôle et test étaient filmés sur une section de 15 cm par une caméra (JVC HDD everio) placée sur le côté et au milieu du pont.

Conditions expérimentales « flux bidirectionnel » (Fig. 1) :

- Condition contrôle (1) : Aucune manipulation n'est réalisée durant les 20 minutes de la phase test. Le flux de fourmis entre la phase contrôle et la phase test devrait rester inchangé ou augmenter si les flux ont tendances à s'intensifier au cours du temps. De même pour l'efficacité du fourragement.
- Condition diminution retour chargé (2): Une fourmi chargée sur deux revenant au nid est retirée du flux pendant la phase test. Les fourmis sont saisies délicatement avec une pince souple dès qu'elles s'engagent sur le pont pour revenir au nid, puis elles sont placées dans une boîte à part. Si le taux de contact avec les fourmis chargées a une influence sur l'activité de récolte, le taux de recrutement (fourmis sortant du nid) et /ou l'efficacité du fourragement en phase test devraient diminuer.

- Condition diminution retour non chargé (3) : De même que pour la condition précédente, en retirant cette fois une fourmi non chargée sur deux. Si les fourmis revenant au nid non chargées ont un impact sur l'activité de récolte, le taux de recrutement et/ ou l'efficacité du fourragement en phase test devraient diminuer.
- Condition augmentation des contacts (4): Des fragments de feuilles (disque d'un centimètre de diamètre) sont suspendus par des fils métalliques à un système de rail relié à un moteur. Ces fragments sont disposés tous les 5 cm sur le rail et suspendus à quelques centimètres de la surface du pont, de manière à toucher les antennes et les pièces buccales de la plupart des fourmis se trouvant sur le pont. Pendant la phase test les fragments suspendus au rail se déplacent de la boîte contenant le substrat vers le nid, à une vitesse de 4 cm/s (vitesse moyenne d'une fourmi chargée se déplaçant sur un substrat lisse, cf. chapitre 1). Ce dispositif a été mis au point dans le but de se rapprocher le plus possible du comportement d'une fourmi revenant au nid chargée. Ainsi, si les contacts entre les fourmis sortant du nid et les fourmis rentrant au nid chargées d'un fragment de feuille sont importants pour stimuler les fourmis à récolter, l'efficacité du fourragement devrait augmenter en phase test.
- Condition sans phéromone (5) : Le pont utilisé en phase familiarisation et en phase contrôle est retiré et un nouveau pont vierge de tout indice chimique est mis en place pendant la phase test. La moitié des fourmis se trouvant sur le pont retiré sont placées dans l'aire de fourragement se trouvant à côté du nid, l'autre moitié dans la boîte contenant le substrat végétal. Si la phéromone de piste est importante pour maintenir l'activité de récolte, le flux de fourmis en phase test devrait diminuer.
- Condition demi phéromone (6): Un film en PVC d'un millimètre d'épaisseur est placé sur toute la partie horizontale du pont (ce qui exclue les deux piliers du pont) pendant la phase test. Des trous d'un centimètre de diamètre ont été percés aléatoirement sur toute la longueur du film. La moitié de la surface du film a été trouée. Les fourmis se déplaçant sur le pont ne peuvent donc percevoir que la moitié de la piste chimique déposée en phase de familiarisation et en phase contrôle. Si la phéromone de piste est importante pour maintenir l'activité de récolte, le flux de fourmis en phase test devrait diminuer. Néanmoins, si l'activité de récolte est proportionnelle aux dépôts de phéromone de piste percus, cette diminution devrait être moins prononcée qu'en condition sans phéromone (5).

- Condition demi pont (7) : Dans cette condition deux ponts de 7,5 mm de large sont placés côte à côte pendant la phase de familiarisation et la phase contrôle de manière à reproduire le pont de 15 mm de large utilisé dans les conditions précédentes. En phase test un des deux ponts est retiré, diminuant ainsi de moitié la surface disponible sur laquelle les fourmis peuvent se déplacer. Du fait du rétrécissement de la piste, le flux de fourmis devrait diminuer, mais le taux de contacts entre fourmis devrait augmenter et, par conséquent, l'efficacité du fourragement devrait également augmenter si les contacts stimulent les fourmis sortant du nid à récolter (Dussutour et al. 2007).

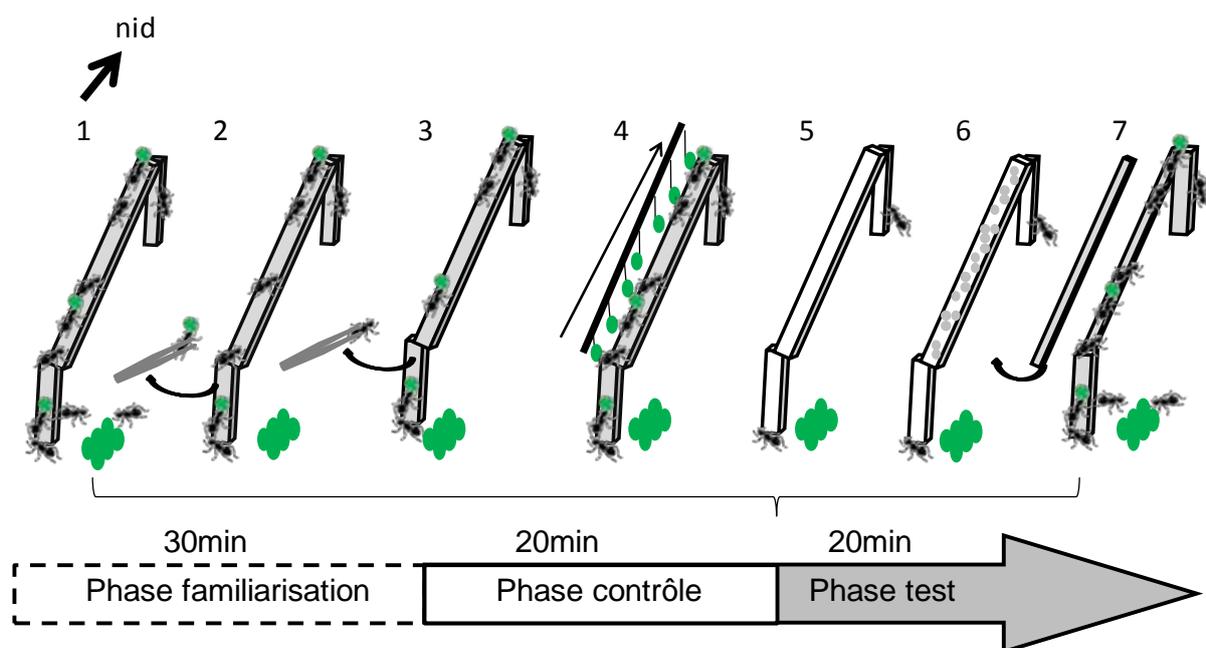


Figure 1 : Protocole expérimental utilisé pour les 7 conditions (numérotées de 1 à 7) dans lesquelles un flux bidirectionnel existe en phase test.

Conditions expérimentales « flux unidirectionnel » (Fig. 2):

Le déroulement des expériences est identique aux conditions précédentes, à la différence près que durant toute la durée de l'expérience, c'est à dire pour les 3 phases de celle-ci, les

trajets aller et retour des fourmis se font sur deux ponts distincts. Le dispositif est constitué de deux ponts de 15 mm de large qui relient le nid à la boîte contenant le substrat végétal (voir Ribeiro et al. (2009) pour l'utilisation d'un dispositif similaire). Le premier pont est enduit de Fluon® sur toute la longueur du pilier (33 cm) qui se trouve dans la boîte contenant les fragments de feuilles, le second pont est enduit de Fluon® sur le pilier opposé, c'est-à-dire le pilier qui se trouve du côté du nid. Pour avoir accès aux fragments de feuilles, les fourmis sont donc obligées d'emprunter le premier pont, puis, arrivées au niveau du pilier, elles tombent dans la boîte contenant le substrat. Pour retourner au nid, elles sont alors obligées d'emprunter le second pont. Le flux sur chacun des ponts est donc unidirectionnel. Deux conditions ont été testées :

- Condition flux unidirectionnel contrôle (8): Aucune manipulation n'est effectuée pendant la phase test. De même que pour la condition flux directionnel contrôle, les flux de fourmis et l'efficacité du fourragement entre la phase contrôle et la phase test devraient rester inchangés ou augmenter si les flux ont tendance à s'intensifier avec le temps ou si l'efficacité du fourragement tend à augmenter avec le temps.
- Condition flux unidirectionnel augmentation contacts (9) : le même dispositif que celui utilisé dans la condition augmentation des contacts avec flux bidirectionnels (condition 4) est utilisé. Le dispositif est placé au-dessus du premier pont, menant les fourmis au bac dans lequel se trouvent les fragments de feuilles. Si le taux de contacts avec les fragments de feuilles a un impact sur l'activité de récolte, le flux de fourmis et l'efficacité de la récolte devraient augmenter en phase test.

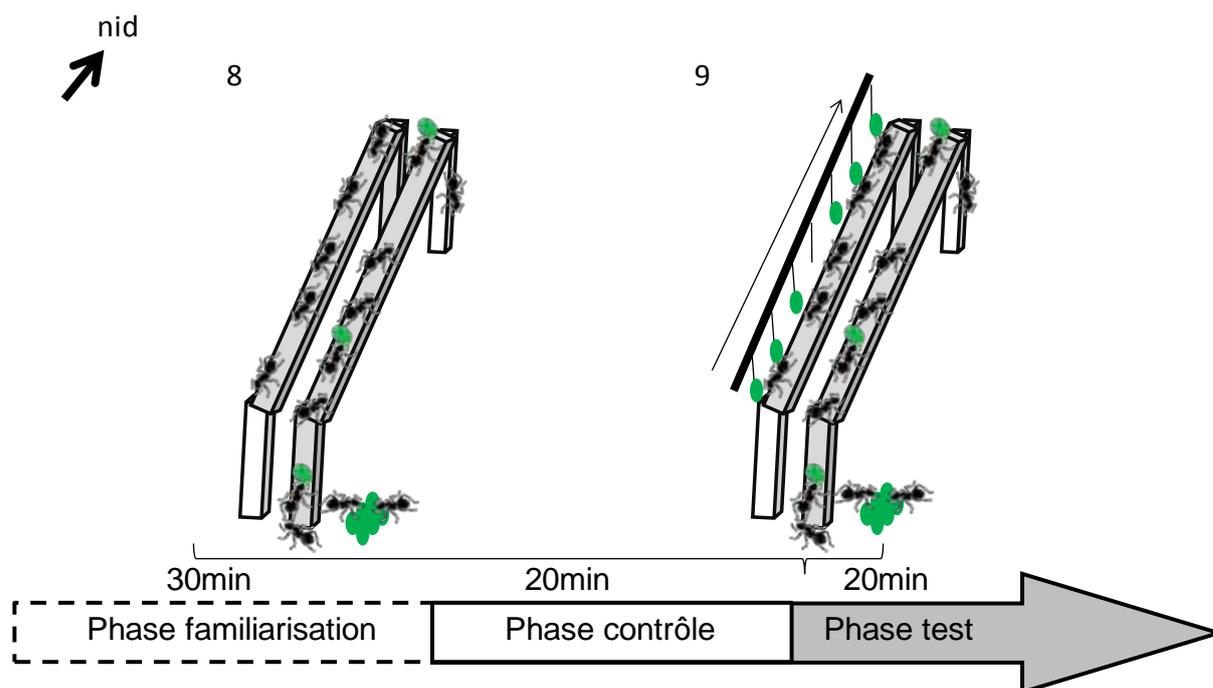


Figure 2. Dispositif et protocole expérimental utilisé dans les 2 conditions (numérotées de 8 à 9) flux unidirectionnel.

Pour éviter tout biais lié aux vibrations du moteur lors des conditions augmentation de des contacts (conditions 4 et 9), le moteur a été allumé et le rail positionné au-dessus du pont pendant la phase test pour toutes les autres conditions. Au total, 10 répliques par condition et par colonie ont été réalisées, soit au total 9 conditions x 2 colonies x 10 répliques = 180 tests. Chaque colonie était testée une fois par jour dans une des 9 conditions. L'ordre dans lequel les différentes conditions étaient testées pour chaque colonie était aléatoire.

II. 3. Mesures effectuées

Le nombre de fourmis (fourmis se déplaçant vers le substrat végétal, fourmis revenant au nid, en distinguant les fourmis chargées et non chargées) a été compté pendant la phase contrôle et la phase test de chaque expérience à l'aide du logiciel Anthethoc développé au CRCA par Maud Combe. L'efficacité du fourragement a été estimée par le ratio du nombre de fourmis revenant au nid chargées d'un fragment de feuille sur le nombre total de fourmis revenant au nid (chargées et non chargées).

II. 4. Analyses statistiques

En raison de la très forte variabilité de l'activité de récolte entre les différentes répliques de l'expérience pour une même condition (due probablement aux variations saisonnières dans l'état du champignon), nous avons travaillé sur la différence de flux entre la phase contrôle et la phase test de chaque réplique de l'expérience. Pour cela nous avons soustrait le nombre total de fourmis compté dans la phase test au nombre total de fourmis compté dans la phase contrôle et nous avons calculé à quel pourcentage d'augmentation ou de diminution cette différence correspondait. Pour calculer l'efficacité du fourragement, une correction a été appliquée sur les flux retour pour les deux conditions dans lesquelles des ouvrières revenant au nid étaient retirées pendant la phase test, au moment où elles s'engageaient sur le pont (conditions 2 et 3): le nombre de fourmis revenant chargées pendant la phase test dans la condition 2 ainsi que celui revenant non chargées dans la condition 3 ont été doublés. Pour le nombre de fourmis sortantes et l'efficacité du fourragement nous avons d'abord comparé les valeurs des différences entre phase test et phase contrôle pour chaque condition à la valeur 0 avec un test de Student, afin de déterminer si ces variables augmentaient ou diminuaient en phase test. Nous avons ensuite comparé les différentes conditions expérimentales à l'aide de modèles linéaires à effets mixtes en considérant la variable colonie comme une variable aléatoire. Des tests *post hoc* de Tukey ont ensuite été réalisés pour comparer les conditions deux à deux. Les packages *nlme* (Pinheiro 2014) et *multcomp* (Hothorn 2008) du logiciel R ont été utilisés. Les conditions flux bidirectionnel et flux unidirectionnel ont été traitées séparément.

Tous les tests statistiques ont été effectués avec le logiciel R 2.13.1 (R Development Core Team, 2011).

III. Résultats

Pour évaluer l'impact du taux de contact et de la phéromone de piste sur le nombre de fourmis sortant du nid et l'efficacité du fourragement, nous avons comparé pour toutes nos conditions l'écart en pourcentage entre la phase test et la phase contrôle pour chaque condition expérimentale (conditions 2 à 7) à l'écart en pourcentage entre la phase test et la phase contrôle pour la condition contrôle (condition 1). Si l'écart observé dans la condition expérimentale est supérieur à l'écart observé dans la condition contrôle, cela signifiera que la manipulation effectuée en phase test induit une augmentation de l'activité des fourmis ou de l'efficacité du fourragement. Si, à l'inverse, l'écart pour la condition expérimentale est inférieur à celui observé dans la condition contrôle, cela signifiera que la manipulation effectuée induit une

baisse de l'activité ou une diminution de l'efficacité du fourragement. Enfin, si les écarts sont comparables pour la condition expérimentale et la condition contrôle, cela signifiera que la manipulation n'a aucun effet sur l'activité de récolte ou l'efficacité du fourragement.

III. 1. Nombre de fourmis sortantes

Concernant les 7 conditions à flux bidirectionnels il y a globalement une réduction dans le nombre de fourmis sortant du nid entre la phase contrôle et la phase test (test de Student ; $P < 0,05$; Fig. 3). L'écart en pourcentage du nombre de fourmis sortant du nid entre la phase test et la phase contrôle de l'expérience est globalement significativement différent entre les conditions (Fig. 3 ; $F_{6,132} = 15,01$; $P < 0,001$). La diminution des contacts entre ouvrières sortant du nid et ouvrières revenant au nid chargées (condition 2) ou non chargées (condition 3) n'a pas d'effet sur la réduction observée entre les deux phases de l'expérience dans le nombre de fourmis sortant du nid. En revanche, l'augmentation des contacts avec les fragments de feuilles (condition 4), la diminution de la largeur du pont (condition 7), et la diminution de la densité des dépôts de phéromones (condition 5 et 6) réduisent de façon significativement plus importante que pour la condition contrôle le nombre de fourmis sortant du nid dans la phase test par rapport à la phase contrôle. La condition augmentation des contacts (condition 4) a le même impact sur la réduction du nombre de fourmis sortantes que les conditions sans phéromone (condition 5), demi phéromone (condition 6) et demi pont (condition 7). Il n'y a pas non plus de différence entre les conditions sans phéromone (condition 5), demi phéromone (condition 6) et demi pont (condition 7).

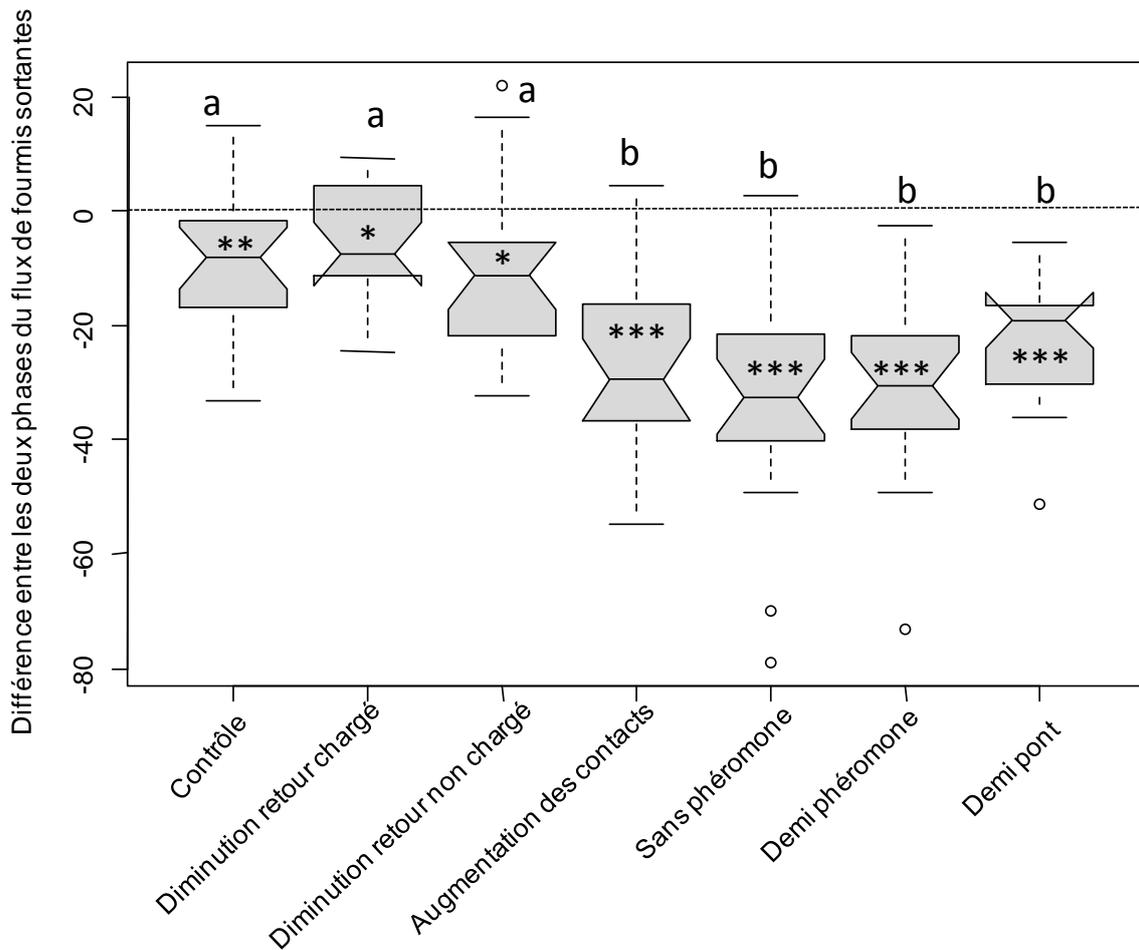


Figure 3. Différence (exprimée en pourcentage) dans le nombre de fourmis sortant du nid entre la phase test et la phase contrôle de l'expérience pour les 7 conditions dans lesquelles le flux est bidirectionnel. Les différences statistiques entre conditions sont indiquées par des lettres placées au-dessus des boîtes : les conditions partageant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes entre elles (test de Tukey, $P < 0.05$). Les encoches sur les côtés des boîtes correspondent à l'intervalle de confiance à 95% de la médiane. Les astérisques dans les boîtes à moustaches correspondent aux résultats des tests de Student : les différences de chaque groupe expérimental comparées à la valeur 0. * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,001$; *** = $P < 0,0001$

Pour les deux conditions à flux unidirectionnel, l'augmentation des contacts avec les fragments de feuilles (condition 9) entraîne également une réduction significativement plus importante par rapport à la condition contrôle (condition 8) du nombre de fourmis sortant du nid pendant la phase test par rapport à la phase contrôle (Fig 4 ; $F_{1,37} = 9,80$; $P < 0,05$).

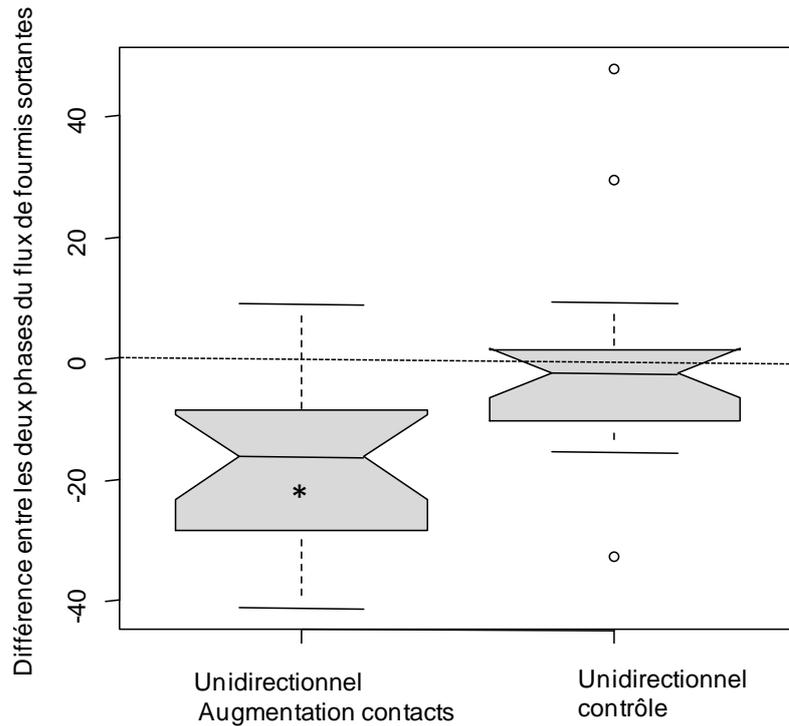


Figure 4. Différence (exprimée en pourcentage) dans le nombre de fourmis sortantes entre les phases test et contrôle des expériences pour les deux conditions à flux unidirectionnel. Les astérisques dans les boîtes à moustaches correspondent aux résultats des tests de Student dans lesquels les différences de chaque groupe expérimental sont comparées à la valeur 0. *= $P < 0,05$; ** = $P < 0,001$; *** = $P < 0,0001$

III. 2. Efficacité du fourragement

Pour les conditions dans lesquelles le flux est bidirectionnel, lorsqu'aucune manipulation n'est effectuée (condition contrôle), l'efficacité du fourragement augmente entre la phase contrôle et la phase test de l'expérience (Fig. 5). Globalement, l'efficacité du fourragement varie de manière significativement différente entre les deux phases de l'expérience pour l'ensemble des conditions testées (Fig. 5 ; $F_{6, 132} = 16,17$; $P < 0,001$). L'écart dans l'efficacité du fourragement entre la phase contrôle et la phase test est significativement plus important dans la condition contrôle comparée aux conditions diminution retour non chargé (condition 3), augmentation des contacts (condition 4), sans phéromone (condition 5), et demi phéromone (condition 6). Mais cet écart n'est pas significativement différent de celui observé dans les conditions diminution retour chargé (condition 2) et demi pont (condition 7).

Les conditions diminution retour chargé (condition 2) et non chargé (condition 3), ainsi que demi pont (condition 7) ont le même impact sur l'efficacité du fourragement. L'impact de l'augmentation des contacts avec des fragments de feuilles (condition 4) ne diffère pas de celui observé dans les conditions diminution des flux retours (conditions 2 et 3) et rétrécissement du pont (condition 7). Enfin, la présence de phéromone a un impact significatif sur l'efficacité du fourragement puisque pour les deux conditions dans lesquelles la densité des dépôts de phéromone est diminuée (conditions 5 et 6) on observe une réduction significativement plus importante de l'efficacité du fourragement que dans toutes les autres conditions. Cette réduction n'est pas significativement différente entre les deux conditions dans lesquelles la phéromone est manipulée.

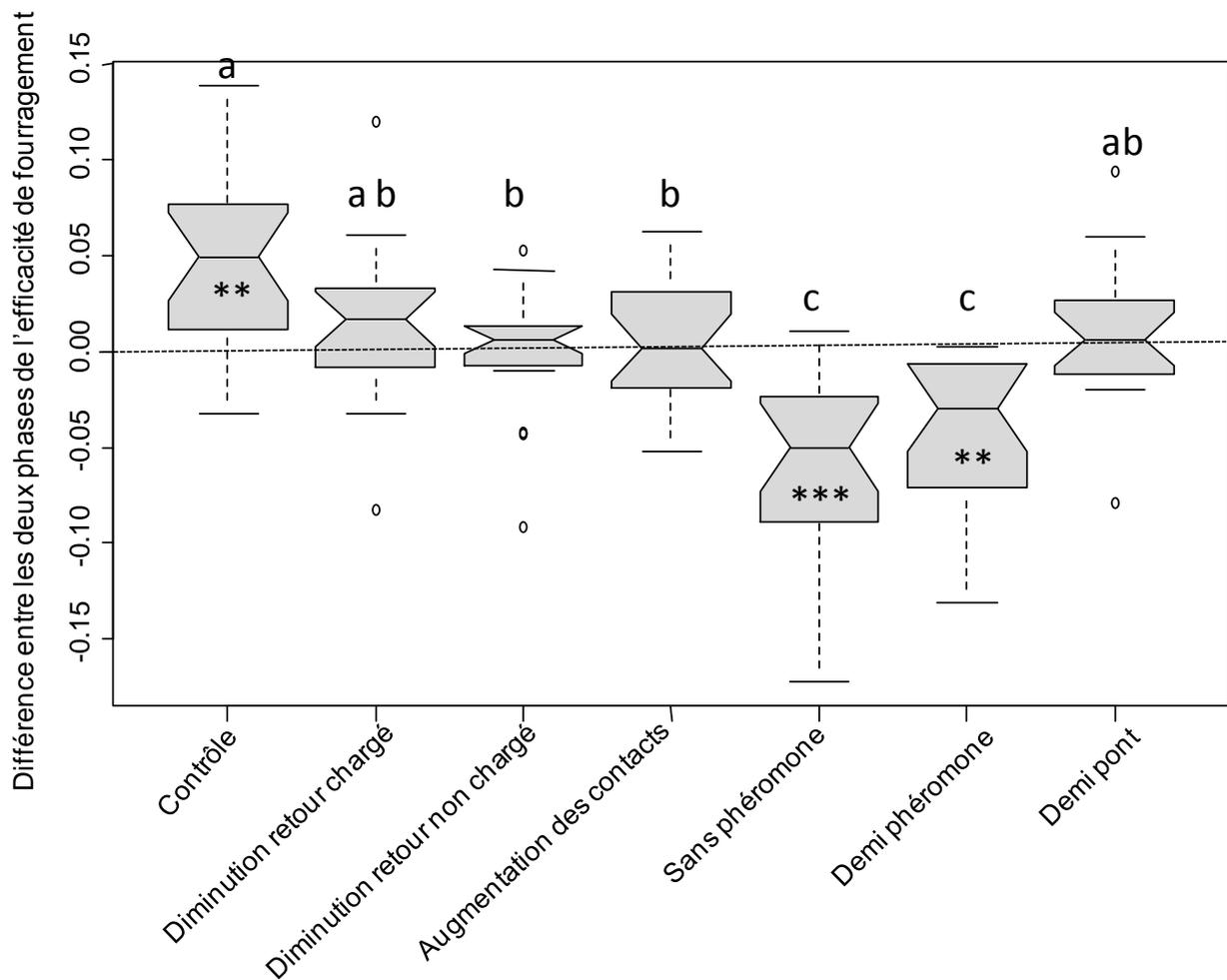


Figure 5. Différence entre la phase test et la phase contrôle de l'efficacité du fourragement pour les 7 conditions dans lesquelles le flux entre le nid et le substrat exploité est bidirectionnel. Les différences statistiques entre conditions sont indiquées par des lettres placées au-dessus des boîtes : les conditions partageant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes entre elles (test de Tukey, $p > 0,05$). Les encoches sur les côtés des boîtes correspondent à l'intervalle de confiance à 95% de la médiane. Les astérisques dans les boîtes à moustaches correspondent aux résultats des tests de Student dans lesquels les différences de chaque groupe expérimental sont comparées à la valeur 0. * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,001$; *** = $P < 0,0001$

Quand les fourmis se déplacent en flux unidirectionnel, l'augmentation des contacts (condition 9) n'a pas d'effet significatif sur l'efficacité du fourragement (Fig. 6 ; $F_{1,37} = 1,32$; $P = 0,25$).

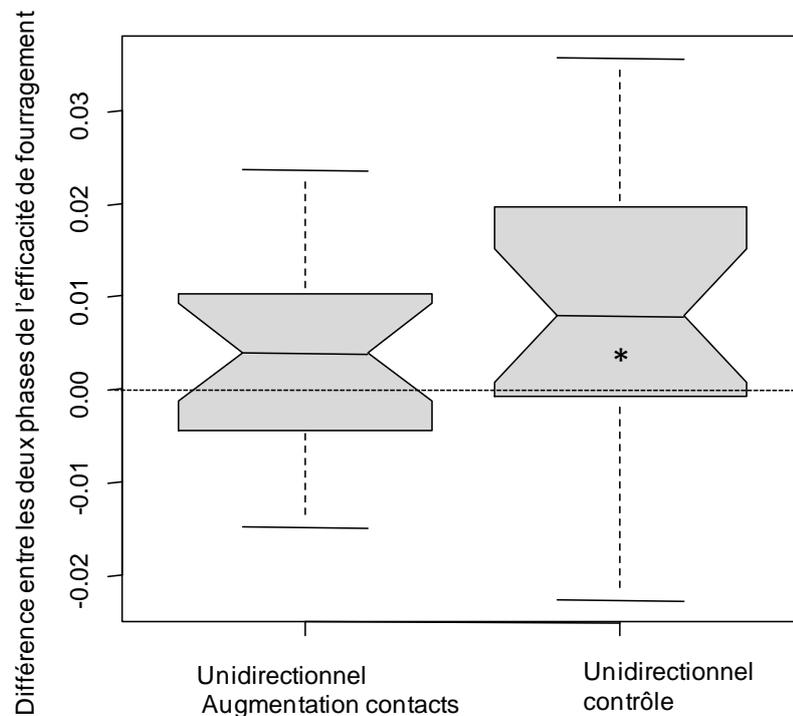


Figure 6. Différence dans l'efficacité du fourragement entre la phase contrôle et la phase test des expériences pour les deux conditions dans lesquelles les flux aller et retour sur le pont sont séparés. Les astérisques dans les boîtes à moustaches correspondent aux résultats des tests de Student dans lesquels les différences de chaque groupe expérimental sont comparées à la valeur 0. *= $P < 0,05$; ** = $P < 0,001$; *** = $P < 0,0001$

III. 3. Comparaison de l'efficacité du fourragement en phase contrôle entre les expériences avec flux unidirectionnel et bidirectionnel

Les phases de familiarisation et de contrôle étant différentes pour les flux uni- et bi-directionnel (un pont ou deux ponts), il n'est pas possible de comparer l'écart en pourcentage entre la phase contrôle et la phase test des conditions à flux uni- et bi-directionnel. Pour évaluer l'impact d'un flux unidirectionnel, nous avons donc choisi de comparer l'efficacité du fourragement pour la phase contrôle uniquement. Ainsi l'efficacité du fourragement des 7 conditions en flux bidirectionnel et des 2 conditions en flux unidirectionnel a été comparée en l'absence de manipulation.

Globalement l'efficacité du fourragement diffère significativement entre les conditions (Fig. 7 ; $F_{8,170} = 7,09$; $P < 0,0001$). Elle reste comparable pour toutes les conditions où les fourmis se déplacent en flux bidirectionnel (conditions 1 à 7) ainsi que pour les deux conditions où les fourmis se déplacent en flux unidirectionnel (conditions 8 et 9). D'une façon générale, l'efficacité du fourragement est significativement plus importante quand les fourmis se déplacent en flux bidirectionnel que lorsqu'elles se déplacent en flux unidirectionnel. Les conditions flux unidirectionnel augmentation des contacts (condition 9) et bidirectionnel contrôle (condition 1) ne donnent pas des résultats significativement différents.

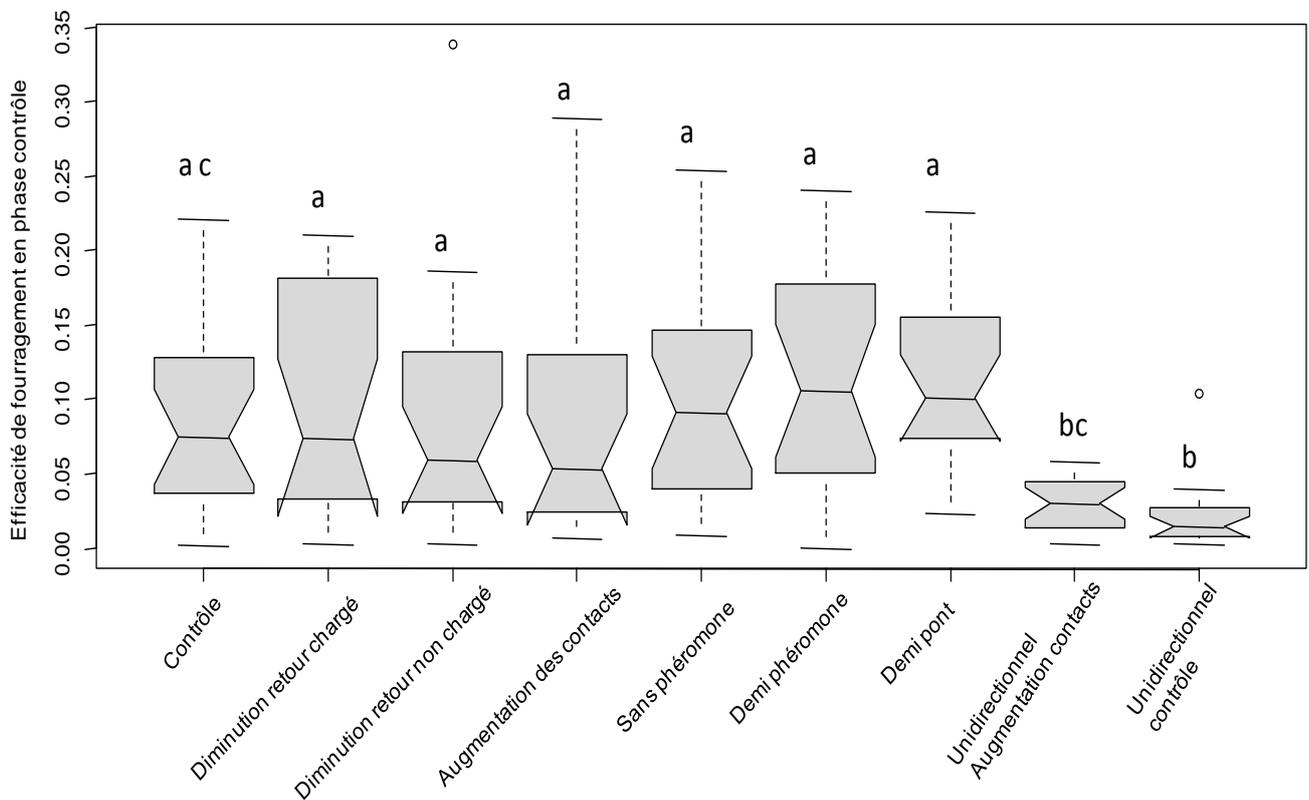


Figure 7. Efficacité du fourragement pour toutes les conditions dans la phase contrôle de l'expérience (sans manipulation). Les différences statistiques entre conditions sont indiquées par des lettres placées au-dessus des boîtes : les conditions partageant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes entre elles (test de Tukey, $P < 0,05$). Les encoches sur les côtés des boîtes correspondent à l'intervalle de confiance à 95% de la médiane.

IV. Discussion

IV. 1. Recrutement

Nos résultats montrent que le recrutement des fourmis coupeuses de feuilles n'est pas modulé par le taux de contacts avec les fourmis retournant au nid (chargées ou non chargées), confirmant ainsi les conclusions de Burd (2000b). La disparition de la phéromone de piste par contre diminue fortement le recrutement. Ces résultats ne sont pas surprenants étant donné que les fourmis coupeuses de feuilles pratiquent un recrutement de masse (Jaffé et Howse 1979): la phéromone de piste est donc primordiale pour le recrutement. Il n'y a pas de différence entre le fait de supprimer tous les dépôts de phéromone (condition sans phéromone) et le fait de n'en supprimer que la moitié (condition demi phéromone). Les colonies en conditions de laboratoire étant confinées dans un espace très restreint, il ne serait pas étonnant que ces fourmis empruntent la seule issue possible pour se rendre dans l'aire de fourragement, quelle que soit la quantité de phéromone se trouvant sur le pont. Le taux de recrutement dépend de la quantité de phéromones sur la piste (Jaffé et Howse 1979). En dessous d'une certaine quantité de phéromone, le taux de recrutement resterait bas mais constant pour garantir une activité minimale sur les pistes de fourragement. En conditions naturelles, les pistes sont soumises aux conditions météorologiques, la pluie par exemple pourrait altérer la quantité ou la qualité du signal chimique. En maintenant un taux de recrutement minimal quelle que soit la quantité de phéromone sur la piste les fourmis seraient ainsi capables de rejoindre rapidement les sources de nourriture en cours d'exploitation après que leur activité de récolte ait été interrompue. Le rétrécissement de la piste (condition demi pont) induit également une diminution du recrutement, identique à celle observée lors de la diminution ou de la suppression du signal chimique. En rétrécissant la piste, la quantité de phéromone diminue également, ce qui pourrait expliquer ces résultats. De plus ce rétrécissement pourrait également induire un encombrement au niveau des piliers du pont, ce qui aurait également pour effet de diminuer le nombre de fourmis s'engageant sur le pont.

Lorsque les contacts avec les fragments de feuilles sont artificiellement augmentés le long de la piste, le recrutement diminue également. Les expériences utilisant des leurres réalisées sur *Pogonomyrmex barbatus* ont montré que l'utilisation de leurres mimant uniquement la présence de nourriture ne suffisait pas à induire une augmentation du recrutement, les leurres mimant à la fois la présence de nourriture et d'ouvrières étant les seuls capables de moduler le recrutement (Greene et al. 2013). Or, dans nos expériences, le

recrutement est modulé par la présence de leurres mimant uniquement la nourriture (fragments de feuilles) puisque le nombre de fourmis sortantes diminue lorsque les contacts avec les fragments de feuilles sont artificiellement augmentés. Deux types d'explications peuvent être avancés pour expliquer ces différences de résultats. Suivant la première explication, les fourmis auraient bien perçu les leurres en tant que fragments de feuilles mais le taux de contacts avec ces fragments serait anormalement élevé. En effet, dans la condition « augmentation des contacts » un fragment de feuille se déplaçant à une vitesse de 4 cm/s était suspendu sur le fil tous les 5 cm, ce qui entraîne un taux de contact avec les fragments de feuilles beaucoup plus élevé que celui observé sur les pistes sans manipulation. Ce taux de contact très élevé agirait comme un feedback négatif et les fourmis cesseraient donc de sortir du nid, ou du moins de se rendre dans la zone de récolte (elles pourraient faire plus de demi-tours sur le pont). En effet, à l'intérieur du nid le processus de traitement des fragments récoltés, qui va jusqu'à l'incorporation des fragments dans la meule à champignon, requiert du temps (Burd et Howard 2005a). Si trop de fragments sont rapportés au nid sur un temps très court, la chaîne de traitement pourrait donc saturer, et les fragments s'accumuler inutilement à l'entrée du nid. Pour éviter cela, les fourmis pourraient alors diminuer le taux recrutement. Une autre explication à la diminution du recrutement observé dans la condition « augmentation des contacts » serait que les fragments suspendus au-dessus du pont ne seraient plus perçus comme un leurre, mais comme une perturbation mécanique entravant les déplacements des fourmis sur le pont. Les fourmis cesseraient alors de sortir du nid et de se déplacer sur le pont pour éviter cette perturbation, entraînant ainsi une diminution du taux de recrutement. Toutefois, il est important de souligner qu'en cas de perturbation ou d'agression, les fourmis *Atta* ont un comportement et une posture d'attaque caractéristique (mandibules grande ouvertes et déplacements plus rapides et très sinueux, *observation personnelle*) et que nous n'avons jamais observé ce type de réponses comportementales au cours de nos expériences.

IV. 2. Efficacité du fourragement

Bien que les phéromones aient un rôle prépondérant dans l'efficacité du fourragement, nos résultats montrent que les contacts jouent aussi un rôle important. La diminution du taux de contacts avec les fourmis non chargées revenant au nid réduit significativement l'efficacité du fourragement. La diminution du taux de contacts avec les fourmis chargées, par contre, induit une efficacité du fourragement qui a une valeur intermédiaire entre la condition contrôle et la condition « diminution retour non chargé ». Puisqu'il n'y a pas de différence significative entre les deux conditions expérimentales où le taux de contacts est diminué, nous pouvons en

déduire que les contacts avec les fourmis chargées ont un impact plus important pour la récolte que ceux avec les fourmis non chargées. En effet, lorsqu'on retire du flux retour une fourmi chargée sur deux on ne retire que 3% des fourmis du flux retour, alors qu'en retirant une fourmi non chargée sur deux le flux retour est diminué de 24%. Même si l'effet des contacts avec les fourmis non chargées revenant au nid apparaît moins important que celui lié aux fourmis chargées, cet effet n'est pas négligeable, et les contacts avec les fourmis non chargées ont un impact important dans l'efficacité du fourragement, contrairement à ce qui avait été montré chez la fourmi rouge moissonneuse *Pogonomyrmex barbatus* pour le recrutement (Schafer et al. 2006; Prabhakar et al. 2012; Greene et al. 2013). Les fourmis moissonneuses récoltent des graines, et contrairement à ce que font les fourmis coupeuses de feuilles avec leurs fragments, elles ne découpent pas les graines transportées. De plus, les fourmis coupeuses de feuilles, en plus de transporter des fragments de végétaux, transportent également de la sève dont elles se nourrissent (Moreira et al. 2006; Richard et Errard 2009; Moreira et al. 2010). Ainsi, un contact avec une fourmi moissonneuse non chargée n'apporte *a priori* aucune information sur la ressource récoltée, alors qu'un contact avec une fourmi coupeuse de feuilles non chargée (pouvant avoir de la sève sur ses pièces buccales) peut transmettre des informations sur la ou les ressources se trouvant en bout de piste. Roces et Hölldobler (1994) avaient observé qu'en cas de jeûne de la colonie, les fourmis découpaient des fragments plus petits pour revenir au nid plus vite et ainsi accélérer le transfert d'informations. Mais ils avaient également observé qu'en cas de jeûne de durée plus importante, une plus grande proportion de fourmis revenaient non chargées, ce qui pourrait être expliqué par l'importance des contacts avec les fourmis non chargées qui se déplacent plus vite sur les pistes.

Le rétrécissement de la piste n'induit pas d'augmentation d'efficacité du fourragement, contrairement à ce qui avait été observé chez *A. colombica* (Dussutour et al. 2007). Les dimensions (longueur, largeur) des pistes sont similaires dans les deux études et ne sont donc pas en cause. Cependant, contrairement à ce qui était observé chez *A. colombica* par Dussutour et al. (2007) aucune règle de priorité entre fourmis ou organisation spatiale des flux n'ont été observées dans nos expériences : les ouvrières d'*A. laevigata* chargées ou non chargées se déplacent aussi bien au milieu du pont, que sur ses arrêtes ou sur sa face inférieure, soulignant les différences de capacités de locomotion entre ces deux espèces. Ainsi en rétrécissant la largeur du pont, nos expériences n'induisaient peut être pas forcément une augmentation des contacts, les fourmis pouvant se répartir sur toute la surface du pont.

L'augmentation des contacts avec les fragments de feuilles induit une diminution de l'efficacité du fourragement pour les conditions de flux bidirectionnel, mais cette diminution n'est plus significative pour les conditions en flux unidirectionnel. Dans les conditions en flux unidirectionnel, les fragments se déplaçant au-dessus du pont n'étaient en contact qu'avec les fourmis sortant du nid et se rendant dans l'aire de récolte. Il semblerait donc que notre dispositif ait induit une perturbation et non pas un feedback négatif comme suggéré précédemment, puisque dans les deux conditions flux unidirectionnel les fourmis revenant au nid pouvaient se déplacer sur le pont sans aucune gêne, et l'efficacité du fourragement était la même en condition contrôle ou en condition « augmentation des contacts ». Dans la condition flux bidirectionnel et augmentation des contacts par contre, la densité des fourmis sur le pont étant bien plus élevée qu'en flux unidirectionnel, le déplacement des fourmis se dirigeant vers la ressource pourrait être entravé par les contacts avec les fragments de feuilles se déplaçant sur le fil au-dessus du pont.

Enfin, nos résultats montrent que l'efficacité du fourragement est plus importante lorsque les fourmis se déplacent en flux bidirectionnel que lorsqu'elles se déplacent en flux unidirectionnel, démontrant clairement l'importance des contacts entre les fourmis sortant du nid et les fourmis (chargées ou non) ayant été en contact avec la ressource exploitée.

V. Conclusion

Les fourmis coupeuses de feuilles pratiquent un recrutement de masse et, à la reprise de l'activité de récolte, les ouvrières n'attendent pas le retour des scouts mais sortent spontanément et massivement du nid, contrairement à ce qui est observé chez d'autres espèces. Il n'est donc pas étonnant que le recrutement ne soit modulé que par les phéromones présentes sur les pistes, et non pas par le taux de contacts entre ouvrières. De plus, elles exploitent des ressources relativement stables dans le temps. Or, il a été montré que seules les fourmis exploitant des ressources instables augmentent la fréquence de leurs contacts dans le nid en présence de nourriture, probablement pour initier un recrutement plus rapide vers les nouvelles ressources découvertes (Gordon et al. 1993). Les fourmis exploitant des ressources stables maintiennent peut être un recrutement constant vers celles-ci, et ne modulent leur recrutement qu'en cas de découverte d'une nouvelle ressource. De plus les fourmis coupeuses de feuilles sont des fourmis territoriales (Salzemann et Jaffé 1990). Le fait de maintenir un recrutement constant vers une ressource exploitée pourrait également leur permettre d'assurer la défense de leur territoire. Néanmoins, les contacts entre ouvrières chargées et non chargées améliorent l'efficacité du

fourragement, permettant probablement un échange d'informations sur la ressource en cours d'exploitation. La décision de récolter ou de couper un fragment de feuille dépendrait donc du taux de contacts des fourmis sortant du nid avec celles rentrant au nid. La communication chez les fourmis est multimodale (Jackson et Ratnieks 2006) et les décisions collectives sont généralement prises par une combinaison entre les interactions directes (par exemple les contacts entre individus) et indirectes (la piste de phéromone) (Jeanson et al. 2012). Ainsi, ce transfert d'information lors des contacts sur les pistes chimiques pourrait permettre aux fourmis coupeuses de feuilles en conditions naturelles de concentrer leur flux sur les pistes les menant aux meilleures ressources tout en continuant d'explorer les autres pistes.

Chapitre 5 - Impact de la familiarité sur les préférences alimentaires

I. Introduction

Tous les animaux, qu'ils soient caractérisés par un régime alimentaire généraliste ou spécialiste, expriment des préférences lorsqu'ils ont le choix entre plusieurs sources alimentaires. Ces préférences peuvent être spécifiques à l'espèce et présentes dès la naissance, dépendantes de l'environnement dans lequel l'animal naît (Bell et Sotka 2012), ou encore varier au cours de leur développement (Dethier 1954; Chapman et Boer 1995; Birch 1999; Bell et Sotka 2012; Simpson et Raubenheimer 2012). Dans ce dernier cas, les préférences alimentaires peuvent être induites par des changements physiologiques ou métaboliques des individus, ou être acquises à travers des mécanismes d'apprentissage, par conditionnement appétitif ou aversif (Dethier 1954; Chapman et Boer 1995) ou par observation des congénères (Sclafani 1995; Leadbeater et Chittka 2009; Galef 2012). Les animaux peuvent aussi moduler leurs préférences ou induire des préférences chez leur progéniture en fonction de l'abondance des ressources qu'ils ont l'habitude de consommer dans leur environnement. Ainsi les insectes phytophages sont généralement moins discriminants quand les sources de nourriture se font rares (Mayhew 1997).

La structure et la composition de la nourriture sont généralement les principaux facteurs qui expliquent l'origine des préférences alimentaires chez les animaux (Milton 1979; Villalba et Provenza 1999). Néanmoins, la nourriture préférée n'est pas forcément celle qui est choisie systématiquement : quand ils ont le choix, certains animaux préfèrent un régime alimentaire diversifié plutôt qu'un régime contenant exclusivement leur nourriture préférée (Scott et Provenza 1998; Addessi et al. 2010). De la même façon, la préférence pour un type d'aliment peut changer en fonction du caractère familier ou non familier de celui-ci: les rats qui reçoivent leur nourriture préférée pendant plusieurs jours, préféreront manger une nouvelle nourriture, même si celle-ci n'est pas leur nourriture favorite en temps normal (Galef et Whiskin 2003; Galef et Whiskin 2005). Ce phénomène est également présent chez les invertébrés. Les sauterelles du genre *Taeniopoda* par exemple refusent de toujours s'alimenter sur la même source de nourriture (Chapman et Boer 1995), et le Bernard l'Hermite terrestre du genre *Coenobita* préfère s'alimenter sur une source de nourriture qu'il n'a pas expérimenté au cours des dernières 24 h, indépendamment de ses préférences alimentaires (Thacker 1996).

Les insectes sociaux représentent un cas particulier dans l'étude des préférences alimentaires car les besoins nutritionnels des individus composant une colonie (reproducteurs, larves et ouvrières) peuvent être différents (Judd 2005; Behmer 2009a; Dussutour et Simpson

2009). L'étude des préférences alimentaires atteint un degré de complexité encore plus élevé chez les fourmis coupeuses de feuilles car un quatrième élément, leur champignon symbiotique, intervient également dans le choix des ressources alimentaires récoltées (Ridley et al. 1996; Herz et al. 2008; Saverschek et al. 2010). Ces fourmis peuvent récolter un grand nombre d'espèces de plantes mais concentrent généralement leur activité de fourragement sur quelques espèces, démontrant ainsi de fortes préférences (Cherrett 1968; Rockwood 1976). Plusieurs facteurs déterminant la palatabilité d'une plante peuvent expliquer de telles préférences. Il peut s'agir par exemple des caractéristiques physiques des feuilles, telles que leur fermeté (Cherrett 1972; Nichols-Orians et Schultz 1989), leur contenu en eau, l'absence ou la présence de trichomes sur leur surface (Kitayama et al. 2010), ou encore de leurs caractéristiques chimiques telles que l'absence ou la présence de substances toxiques ou de certains nutriments (Cherrett 1972; Hubbell et al. 1984; Berish 1986; Howard 1987; Howard 1988; Howard 1990; Mundim et al. 2009). Un changement de ces propriétés au cours du temps pourrait expliquer l'abandon soudain d'une plante avant qu'elle ne soit totalement défoliée, comme on peut souvent l'observer en conditions naturelles (Howard 1990; Roces 2002). L'aspect nouveauté/familiarité pourrait également expliquer ce phénomène : si les fourmis expriment une préférence pour le caractère nouveau ou non familier d'une plante, la découverte d'une nouvelle plante pourrait amener les fourmis à cesser leur activité de fourragement sur la plante qu'elles sont en train de récolter. Les études menées sur l'effet de la nouveauté chez les fourmis coupeuses de feuilles présentent cependant des résultats quelque peu contradictoires (Jaffé et Howse 1979; Roces et Hölldobler 1994; Howard et al. 1996). En effet, Howard et al. (1996) ont montré que les ouvrières scouts des fourmis *A. colombica* présentent un recrutement plus rapide lorsqu'elles rencontrent une ressource familière, alors que Jaffé et Howse (1979) et Roces et Hölldobler (1994) ont démontré chez l'espèce *A. cephalotes* que la découverte d'une nouvelle ressource pouvait augmenter le taux de recrutement, mais également le comportement de dépôt de phéromones des fourmis revenant au nid chargées.

Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à l'aspect non familier des ressources alimentaires plutôt qu'à leur aspect nouveauté. Nous avons d'abord déterminé le rang de préférence de deux espèces de plantes par des expériences de choix simultanés (type « cafeteria »), puis nous avons évalué l'impact de l'aspect familier de ces deux plantes par des expériences de choix séquentiels. L'activité de fourragement des ouvrières a été mesurée en comptant le nombre de fourmis par minute se déplaçant entre le nid et le substrat végétal offert et par le nombre de fragments récoltés. Pour déterminer si une modulation individuelle du

comportement de recrutement peut expliquer les préférences exprimées au niveau collectif, nous avons également étudié le comportement de dépôt de phéromone de piste par les ouvrières se déplaçant sur la piste menant à la ressource.

II. Matériels et méthodes

II. 1. Conditions d'élevage

Deux colonies matures d'*Atta laevigata* (récoltées en 2008 près de Botucatu, état de São Paulo, Brésil) ont été utilisées pour ces expériences. Ces deux colonies étaient maintenues au laboratoire en conditions constantes de température (28 ± 2 °C) et d'humidité ($30 \pm 10\%$) sous un cycle jour : nuit de 12 : 12. Le champignon de chacune des deux colonies était maintenu dans des boîtes en PVC (l×L×H: 27×24×27 cm) fermées dans lesquelles étaient pratiqués des orifices pour l'aération. Les boîtes étaient reliées entre elles par des tuyaux en PVC. Deux boîtes ouvertes (l×L×H: 21×47×20 cm) dont les parois étaient enduites de Fluon® pour empêcher les fourmis de s'échapper étaient également reliées à chacune des deux colonies. La première boîte était utilisée pour l'évacuation des déchets. Un pont (longueur : 70 cm, largeur : 15 mm) reliait la seconde boîte à l'aire de fourragement (boîte en PVC également enduite de Fluon®, l×L×H: 30×46×12 cm) dans laquelle était placé le substrat végétal récolté par les fourmis. Pendant la durée des expériences les fourmis avaient accès en permanence à une réserve d'eau et étaient nourries *ad libitum* avec du pyracantha (*Pyracantha coccinea*, Rosaceae) ou des ronces (*Rubus fruticosus*, Rosaceae) récoltés sur le campus de l'Université Paul Sabatier. Ces deux espèces de plantes ne sont pas natives du Nouveau Monde. Il est donc peu probable qu'une préférence pour l'une des deux plantes ait été sélectionnée au cours de l'évolution. Les jours d'expériences les plantes étaient récoltées le matin et conservées au réfrigérateur au cours de la journée.

II. 2. Expériences de choix simultanés

Deux fois par jour pendant cinq jours successifs, 3 g de fragments de feuilles de ronces mélangés à 3g de feuilles de pyracantha étaient déposés dans l'aire de fourragement de chacune des deux colonies. Ces fragments étaient découpés au préalable en disques de 10 mm de diamètre pour éviter tout biais dans la dynamique de récolte qui pourrait être lié à une différence dans le temps de découpe des feuilles des deux plantes offertes. Le poids frais (moyenne \pm e.s.) d'un disque de végétation, mesuré sur un échantillon de 50 fragments pour chaque espèce de plantes, était de 9,15 mg \pm 1,51 et 12,99 mg \pm 1,57, pour les ronces et le pyracantha respectivement. Le tas de feuilles contenait en moyenne 328 disques de ronces et 231 disques

de pyracantha. Pour chaque expérience réalisée le nombre de fragments récoltés par les fourrageuses pour chaque espèce de plantes était noté pendant une heure. En dehors des expériences, les colonies étaient nourries *ad libitum* avec des feuilles de troène (*Ligustrum vulgare*, Ligustrum).

II. 3. Expériences de choix séquentiels (Fig. 1)

La semaine précédant un jour d'expérimentation, les colonies étaient nourries *ad libitum* avec un seul type de substrat végétal (ronces ou pyracantha). Ce substrat est donc considéré comme le substrat familier pour les fourmis, l'autre substrat étant considéré comme non familier. Les substrats correspondant au substrat familier et non familier étaient alternés d'une semaine à l'autre entre les deux types de plantes testées, les ronces et le pyracantha. Le jour d'une expérience (comportant deux tests successifs) les deux types de substrats, familier et non familier, étaient présentés à chacune des deux colonies, à une heure d'intervalle. Les deux colonies étaient testées le même jour avec les mêmes types de substrat, en alternant à chaque nouvelle expérience la période de test (matin ou après-midi). L'ordre de présentation des deux substrats était alterné d'une semaine à l'autre. Ainsi, le substrat familier (non familier) pouvait être présenté le jour d'une expérience soit en premier (deuxième), soit en deuxième (premier). Au total, huit conditions différentes ont été testées sur les deux colonies (2 substrats familiers \times 2 ordres de présentation \times 2 substrats testés). Cinq répliques des tests réalisés pour chacune de ces huit conditions ont été effectuées pour chaque colonie, soit un total de 40 tests par colonie.

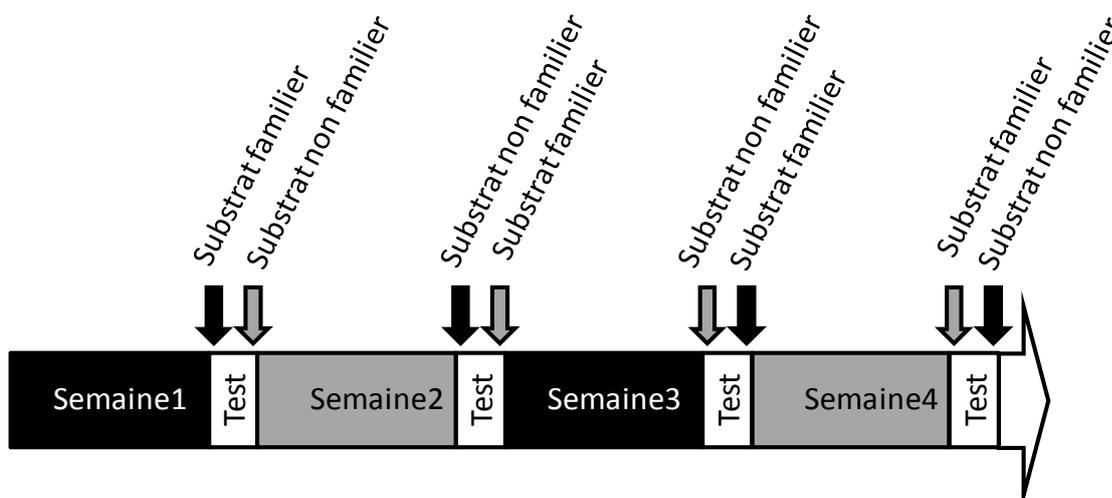


Figure 1 : Protocole expérimental. Le noir représente le substrat ronces, le gris le pyracantha. Ce protocole a été répliqué 5 fois pour chaque colonie.

Une heure avant le début d'une expérience, le substrat végétal restant dans l'aire de fourragement était retiré. Juste avant que l'expérience ne commence, le pont entre le nid et l'aire de récolte était retiré, nettoyé au savon et à l'alcool, puis replacé. L'enregistrement vidéo, effectué grâce à une caméra (JVC HDD everio) placée sur le côté du pont et filmant une section de 6 cm au milieu de celui-ci, débutait dès qu'une première fourmi passait dans le champ de la caméra et continuait pendant 75 min. Le substrat végétal (6 g de fragments de feuilles) était placé dans l'aire de fourragement 15 min après le début de l'enregistrement. L'enregistrement comprend ainsi deux parties distinctes: les 15 premières minutes correspondent à la phase d'exploration du dispositif et les 60 minutes suivantes à la phase d'exploitation du substrat. Pour permettre aux ouvrières de petites tailles de récolter la végétation, les fragments de feuilles étaient découpés au préalable en disques de 10 mm (voir plus haut expérience de choix simultané pour le poids frais) et de 5 mm de diamètre (poids moyen de ces disques \pm e.s., mesuré sur un échantillon de 50 disques : 2,33 mg \pm 0,98 pour les ronces et 2,56 mg \pm 0,35 pour le pyracantha). Quatre grammes de disques de 10 mm de diamètre et deux grammes de disques de 5 mm de diamètre étaient déposés dans l'aire de fourragement lors de chaque test.

Le nombre des fourmis se dirigeant vers l'aire de fourragement et retournant au nid avec et sans charge a été relevé sur les enregistrements pendant une minute toutes les 5 minutes. Le comportement de dépôt de phéromone de piste des fourmis a été observé image par image et échantillonné pendant une minute à la 10^{ème}, 20^{ème}, 25^{ème}, 30^{ème}, 45^{ème}, 60^{ème}, et 75^{ème} minute de l'expérience, sur un total 32 tests (16 tests analysés par colonie). L'échantillonnage a été réalisé de la manière suivante : à chaque nouvelle minute d'échantillonnage, la première fourmi, quel que soit son sens de déplacement (vers le nid ou vers l'aire de fourragement), entrant dans le champ de la camera était suivie jusqu'à ce qu'elle sorte du champ de la caméra; la première fourmi suivante se présentant dans le champ de la camera était ensuite suivie (de même que pour la fourmi précédente, quel que soit son sens de déplacement), et ainsi de suite pendant une minute. Nous avons considéré que les fourmis déposaient de la phéromone de piste à chaque fois que l'extrémité de leur abdomen rentrait en contact avec la surface du pont (Jaffé et Howse 1979; Roces et Nuñez 1993). Pour chaque fourmi observée, nous avons noté sa classe de taille (subminor, minor, submedia, media, et soldat ; identification des classes à l'œil nu), son sens de déplacement, si elle portait ou non une charge, si elle marquait ou non, ainsi que l'intensité du marquage (temps cumulé de contact entre l'abdomen de la fourmi et la surface du pont lors de son passage dans le champ de la caméra) (Beckers et al. 1993). Au total 2973 fourmis ont

été suivies, 1540 fourmis ayant reçu des ronces comme substrat familial, et 1433 ayant reçu du pyracantha en substrat familial.

II. 4. Analyses statistiques

Pour les expériences de choix simultané on a calculé pour chaque colonie la somme du nombre de fragments de chaque espèce de plante récoltés pendant les deux expériences réalisées le même jour. Pour tester la préférence entre les deux espèces de plantes, nous avons comparé pour chaque jour d'expérience le nombre de fragments récoltés au nombre théorique attendu en l'absence de choix (en fonction des proportions de fragments des deux espèces de plantes dans le tas de feuilles offert) avec un test de χ^2 et appliqué une correction de Bonferroni pour corriger les biais dues aux comparaisons multiples.

Pour les expériences de choix séquentiels, nous avons d'abord examiné l'effet du type de substrat familial sur le flux de fourmis sortant, pendant la phase d'exploration uniquement (0-15 min), à l'aide d'une ANOVA à mesures répétées. Pour la phase d'exploitation du substrat (15-75 min), nous avons examiné avec une ANOVA à mesures répétées les effets du substrat familial, du substrat présenté au cours de l'expérience, de l'ordre de présentation du substrat offert, ainsi que toutes les interactions entre ces facteurs, sur deux variables : le nombre de fourmis sortant du nid et le nombre de fourmis rentrant au nid chargées. Le facteur colonie a été considéré comme variable aléatoire. Puisque nous n'avons pas trouvé d'effet de l'ordre de présentation sur le flux de fourmis sortant et le flux de fourmis chargées, nous avons ensuite examiné uniquement les effets du substrat familial et du substrat présenté au cours de l'expérience sur l'intensité de marquage, toujours avec une ANOVA à mesures répétées. Les proportions de fourmis présentant un comportement de dépôt de phéromone de piste ou non ont été comparées entre les différentes classes de taille des ouvrières avec un test de χ^2 pour comparaison de distributions observées. Les proportions de fourmis de différentes classes de tailles présentant ou non un comportement de marquage à la 10^{ème} minute (phase d'exploration), la 25^{ème} minute (phase d'exploitation) et la 75^{ème} minute (fin de la phase d'exploitation) ont été également comparées avec un test de χ^2 pour comparaison de distributions observées.

III. Résultats

III. 1. Choix simultanés

Les deux premiers jours de l'expérience, les fourmis des deux colonies récoltent significativement plus de ronces que de pyracantha le premier jour (Fig. 2). Ce comportement se maintient le 2^{ème} jour uniquement pour une des deux colonies. Après les deux premiers jours cependant, les fourmis commencent à récolter significativement plus de pyracantha que de ronces.

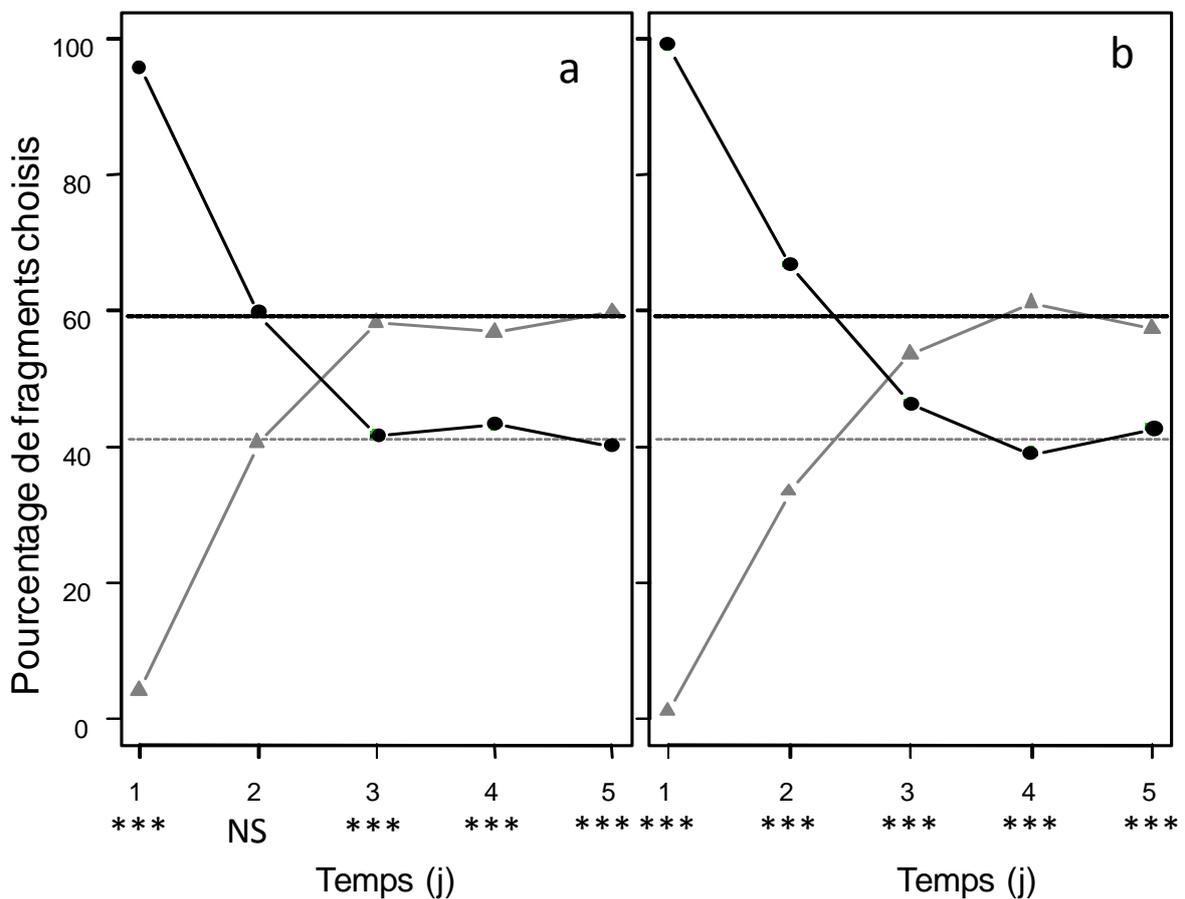


Figure 2 : Pourcentage de fragments récoltés de chacune des deux plantes présentées en choix simultané pour a) la colonie I et b) la colonie II. Les points noirs représentent le substrat ronces, les triangles gris le pyracantha. Les lignes en pointillées correspondent aux pourcentages de fragments de chaque type de plantes dans le tas de feuilles offert à chaque expérience. *** : $P < 0,001$; NS : non significatif.

III. 2. Choix séquentiels – flux de fourmis

En phase d'exploration, il n'y a pas d'effet significatif du substrat familial sur le nombre de fourmis sortant du nid ($F_{1,77} = 0,328$; $P = 0,569$).

L'analyse statistique montre que pour les deux variables étudiées (nombre de fourmis sortant du nid et nombre de fourmis rentrant chargées) il y a une interaction significative entre l'effet du substrat familial et l'effet du substrat offert au cours des expériences (Table 1) : quel que soit le substrat familial offert la semaine précédente (ronces ou pyracantha), le nombre de fourmis sortant du nid et le nombre de fourmis revenant au nid chargées ne diffèrent pas quand le substrat offert au cours de l'expérience est du pyracantha (Fig. 3). Par contre, quand le substrat offert pendant l'expérience est le substrat ronce, les fourmis sortent plus et récoltent plus de fragments lorsqu'elles ont reçu du pyracantha en substrat familial (Fig. 3). Enfin l'ordre de présentation du substrat pendant l'expérience, n'a aucun effet sur ces deux variables (Table 1).

Table 1: Résultat des tests ANOVA à mesures répétées réalisés pour tester les effets du substrat familial, du substrat offert au cours de l'expérience, de l'ordre de présentation des substrats, et des interactions entre ces différents effets pour les fourmis sortant du nid et celles rentrant chargées.

Effets	Fourmis sortantes		Fourmis rentrantes chargées	
	$F_{1,71}$	P	$F_{1,71}$	P
Substrat familial	0,615	0,435	2,908	0,092
Substrat offert	17,352	<0,001	48,948	<0,001
Ordre de présentation	1,082	0,302	0,936	0,336
Substrat familial × Substrat offert	7,147	0,009	5,422	0,023
Substrat familial × Ordre de présentation	0,171	0,680	0,395	0,532
Substrat offert × Ordre de présentation	0,026	0,871	0,001	0,978
Substrat familial × Substrat offert × Ordre de présentation	1,147	0,287	1,407	0,239

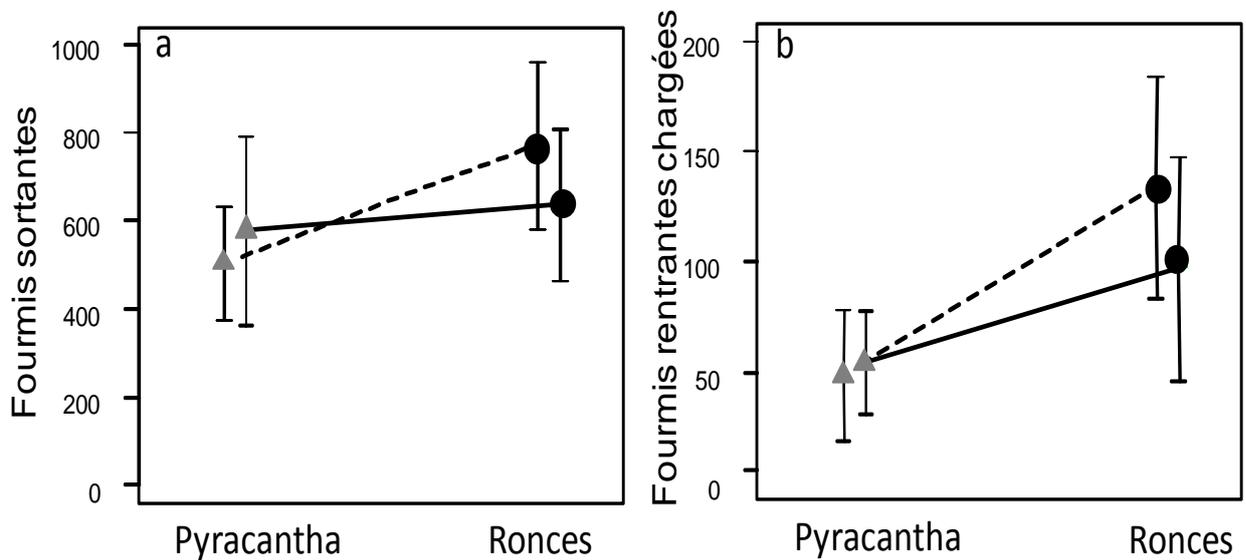


Figure 3: Nombre moyen de fourmis comptées pour la phase d'exploitation du substrat lorsque les fourmis ont été familiarisées avec du pyracantha (lignes en pointillées) et des ronces (lignes en traits plein) et lorsqu'elles ont reçu du pyracantha (triangles gris, N= 20) et des ronces (point noirs, N=20) pendant l'expérience. Les barres d'erreurs représentent l'écart type. (a) fourmis sortant du nid et (b) fourmis revenant au nid chargées.

III. 3. Choix séquentiels – comportement de dépôt de phéromone de piste

La répartition des ouvrières (présentant ou non un comportement de dépôt de phéromone) dans les différentes classes de taille distinguées reste inchangée au cours des expériences : phase d'exploration, d'exploitation, et fin d'exploitation ($\chi^2= 5,54$; $dl = 10$; $P= 0,85$).

La proportion d'ouvrières qui présentent un comportement de dépôt de phéromone diffère significativement en fonction de la taille des ouvrières (Fig. 4 ; $\chi^2= 361,92$; $dl= 4$; $P < 0,001$) : les ouvrières de plus petites tailles (subminor, minor, et submedia) pistent plus que les autres. Ces proportions ne diffèrent pas significativement entre les 3 phases de la récolte (Fig. 5 ; $\chi^2= 5,09$; $dl = 6$; $P= 0,53$; les ouvrières soldats et majors n'ont pas été pris en compte pour cette analyse car présents en trop petit nombre).

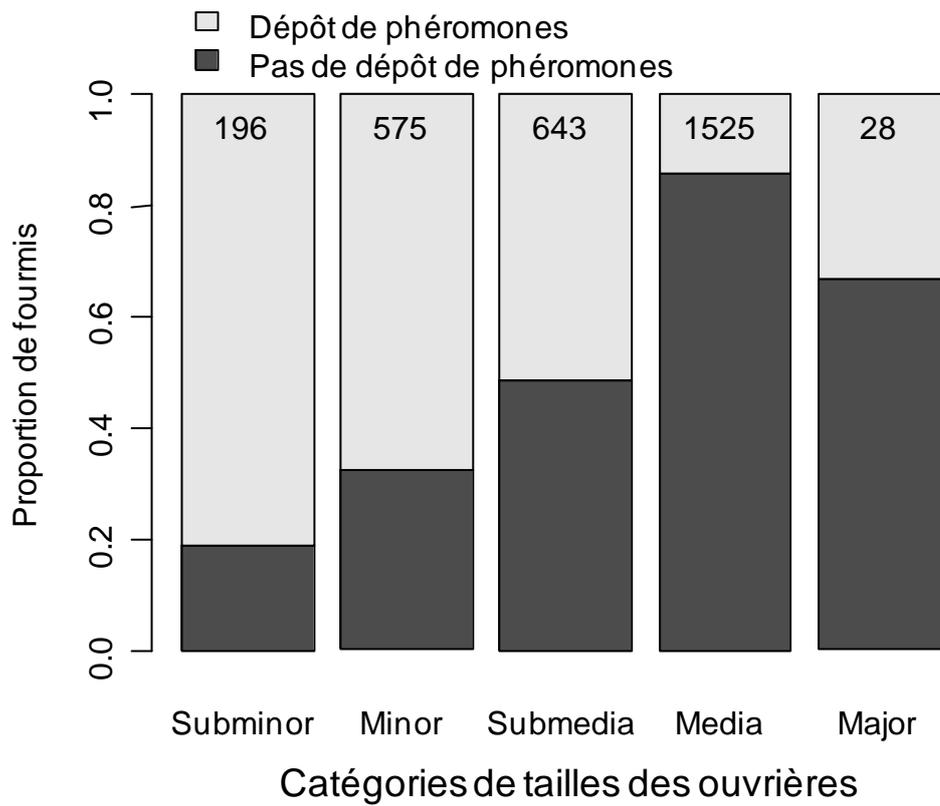


Figure 4. Proportion de fourmis présentant ou non un comportement de dépôt de phéromone de piste en fonction de la catégorie de taille à laquelle elles appartiennent (les soldats ne sont pas représentés). Les zones en gris clair représentent les fourmis ayant été observées en train de déposer de la phéromone de piste, celles en gris foncé représentent les fourmis n'ayant pas été observées en train de déposer de la phéromone de piste. Le nombre inscrit dans chaque barre correspond au nombre total de fourmis observées pour chaque catégorie de taille.

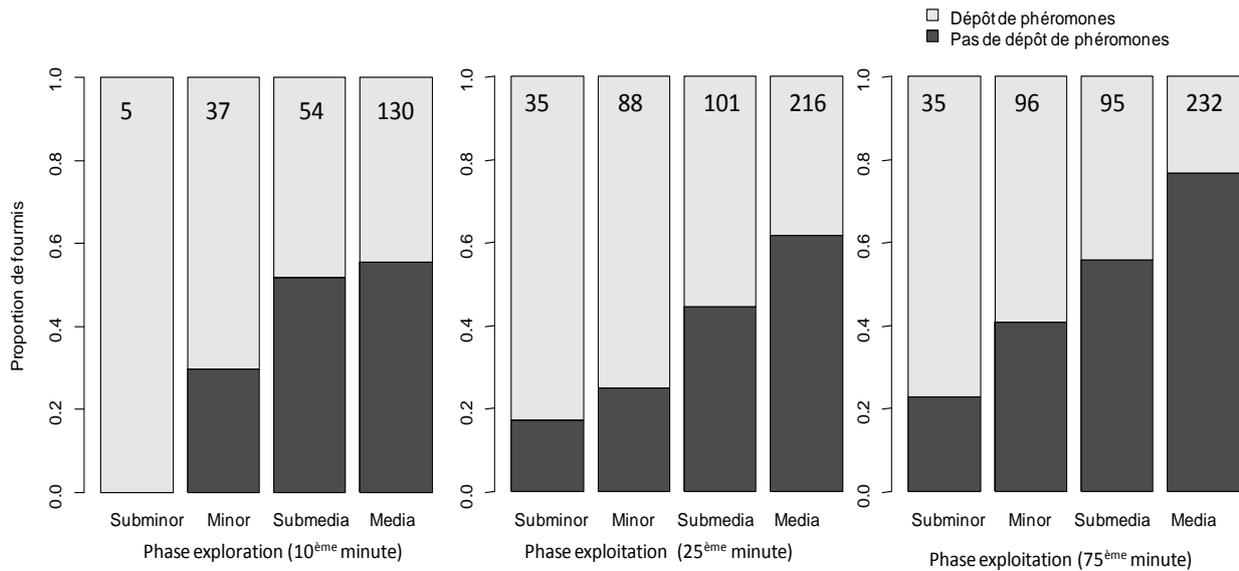


Figure 5. Proportion de fourmis présentant ou non un comportement de dépôt de phéromone de piste en fonction de la catégorie de taille à laquelle elles appartiennent (les soldats et majors ne sont pas représentés) pour les 3 phases de l'expérience. Les zones en gris clair représentent les fourmis ayant été observées en train de déposer de la phéromone de piste, celles en gris foncé représentent les fourmis n'ayant pas été observées en train de déposer de la phéromone de piste. Le nombre inscrit dans chaque barre correspond au nombre total de fourmis observées pour chaque catégorie de taille.

L'intensité du marquage n'est pas significativement différente entre les fourmis qui sortent du nid et celles qui y rentrent (chargées et non chargées) (ANOVA, $F_{1,1240} = 1,253$; $P = 0,263$; fourmis sortantes, moyenne \pm E. S. : 18.70 ± 1.163 ms, fourmis rentrantes: 17.70 ± 1.283 ms). Il n'y a pas non plus de différence significative entre les fourmis chargées et non chargées rentrant au nid (ANOVA ; $F_{1,495} = 0,525$; $P = 0,469$; fourmis chargées : $18,50 \pm 1,595$ ms, fourmis non chargées: $17,40 \pm 2,579$ ms). Le substrat familier ainsi que le substrat offert durant l'expérience ont un impact significatif sur l'intensité du marquage (ANOVA ; substrat familier : $F_{1,1238} = 11,460$; $P < 0,001$; substrat offert : $F_{1,1238} = 9,373$; $P = 0,002$), mais il n'y a pas d'interaction significative entre ces deux effets ($F_{1,1238} = 1,930$; $P = 0,165$). Les ronces, qu'elles soient offertes en substrat familier durant la semaine précédant l'expérience ou pendant l'expérience, induisent toujours une intensité de marquage plus importante que le pyracantha (effet du substrat familier: $16,9 \pm 1,14$ ms et $19,6 \pm 1,29$ ms; effet du substrat donné au cours de l'expérience: $16,8 \pm 1,59$ ms et $19,7 \pm 2,56$ ms, pour le pyracantha et les ronces,

respectivement). L'intensité de marquage des fourmis sortant du nid est influencée de manière significative par le substrat familial (ANOVA ; $F_{1,741} = 6,957$; $P = 0,008$) mais pas par le substrat offert au cours de l'expérience ($F_{1,741} = 2,198$; $P = 0,138$), alors qu'à l'inverse, les fourmis qui rentrent au nid sont influencées significativement par le substrat donné pendant l'expérience (ANOVA ; $F_{1,493} = 13,862$; $P < 0,001$) mais pas par le substrat familial (ANOVA ; $F_{1,493} = 2,372$; $P = 0,124$).

IV. Discussion

Lorsque les ronces et le pyracantha sont présentés simultanément pendant cinq jours successifs, les fourmis récoltent significativement plus de ronces les deux premiers jours, puis plus de pyracantha les jours suivants. Le fait que le premier jour d'expérience les fourmis récoltent pratiquement 100% de ronces indique que les fourmis coupeuses de feuilles ont une forte préférence pour les ronces, mais que cette préférence s'estompe les jours suivants pour disparaître au profit d'une préférence pour le pyracantha. Ce changement de préférence au cours du temps pourrait être dû à un conflit intrinsèque entre les préférences des ouvrières, qui se nourrissent pratiquement exclusivement de la sève des plantes (Quinlan et Cherrett 1979), et celles du champignon (Hölldobler et Wilson 2010). En effet, les fourmis ne choisissent pas toujours le substrat qui assure la meilleure croissance du champignon (Seal et Tschinkel 2007; Camargo et al. 2008). Elles pourraient même récolter un substrat nocif pour le champignon au cours des premières 24 h (Ridley et al. 1996; Saverschek et al. 2010). Toutefois, les ronces ne semblent pas être nocives pour les colonies puisque nous n'avons pas observé de réduction du volume du champignon lorsque des ronces leur étaient offertes pendant une semaine dans l'expérience de choix séquentiels. La préférence pour les ronces exprimée par les ouvrières le premier jour pourrait être due aux caractéristiques chimiques ou physiques de cette plante. Cependant, il est peu probable que les caractéristiques physiques des plantes, telles que l'épaisseur ou encore la dureté des feuilles, qui les rendent plus difficiles à couper, influencent les préférences des ouvrières dans notre expérience puisque le substrat végétal était présenté sous forme de fragments prédécoupés. Les composés chimiques présents dans les feuilles et connus pour influencer la palatabilité des plantes (Howard 1988), expliquent probablement mieux la préférence exprimée par les ouvrières. Suivant ce raisonnement, les ouvrières récolteraient plus de ronces que de pyracantha durant les premiers jours de l'expérience, en se basant sur leur propre préférence. Elles récolteraient ensuite plus de pyracantha car ce dernier favoriserait la croissance du champignon. Ainsi, de la même façon que les ouvrières sont

capables de répondre à un feed-back négatif du champignon en arrêtant de récolter après 24h un substrat contenant un fongicide (Ridley et al. 1996; Herz et al. 2008; Saverschek et al. 2010; Saverschek et Roces 2011), elles pourraient aussi être capables de répondre en moins de 48 h à un feedback positif (*via* les ouvrières jardinières : North et al. 1999) en choisissant de récolter un substrat qui favorise la croissance du champignon. Le pyracantha pourrait contenir des composés spécifiques qui favoriseraient la croissance du champignon (Silva et al. 2003; Richard et al. 2005; Silva et al. 2006). L'azote par exemple, est connu pour favoriser la croissance du champignon (Martin et Martin 1970; Abril et Bucher 2004), et les fourmis en milieu naturel montrent des préférences pour des espèces de plantes contenant des concentrations d'azote importantes (Berish 1986). Les fourmis pourraient alors récolter plus de pyracantha les jours suivants car celui-ci possède un contenu en azote plus important que les ronces (ronces : 20,7 mg/g (Jackson et al. 1999), pyracantha : 30,5 mg/g (Funk et al. 2013)). Il est important de noter cependant que les fourmis continuent de récolter environ 40% de ronces, même lorsque la préférence pour le pyracantha est significative. Ceci montrerait que les fourmis coupeuses de feuilles, comme beaucoup d'autres animaux (Scott et Provenza 1998; Addessi et al. 2010), préfèrent un régime alimentaire diversifié. Le pyracantha pourrait être plus nutritif pour le champignon (à cause de sa concentration en azote par exemple) et donc récolté en plus grosse quantité, mais les ronces pourraient également contenir un élément nutritif absent chez le pyracantha, élément nécessaire à la croissance du champignon ou strictement nécessaire aux besoins nutritifs des ouvrières. Ainsi, en diversifiant leur régime alimentaire les fourmis équilibreraient leurs besoins nutritionnels et/ou ceux du champignon en se rapprochant de leur cible nutritionnelle (Simpson et Raubenheimer 2012).

Concernant les expériences de choix séquentiels, les fourmis ont un plus fort taux de recrutement (nombre de fourmis sortant du nid) et récoltent plus de végétation, quel que soit le substrat familier, quand les ronces leurs sont offertes pendant l'expérience, indépendamment de l'ordre dans lequel elles sont présentées. De plus, cette préférence pour les ronces est accentuée lorsque les fourmis en ont été privées pendant la semaine précédant les tests, c'est-à-dire lorsque le pyracantha est le substrat familier. Ainsi, nous n'avons pas trouvé d'effet systématique de la familiarité du substrat sur la récolte : si le substrat préféré est non familier sa récolte va augmenter, alors que s'il est familier cela n'aura aucun effet sur l'activité de fourrage des fourmis. Dans les expériences de choix simultanés, les fourmis récoltent plus de pyracantha après deux jours. Or, nous aurions pu nous attendre à un résultat similaire en choix séquentiel : les fourmis après avoir été nourries pendant une semaine avec des ronces, devraient récolter plus de pyracantha lorsque celui est offert lors des tests. Si notre hypothèse

sur l'existence d'un feedback positif liée à la croissance du champignon est correcte, il est probable que ce feedback ne puisse être perçu qu'après un certain délai (24 h dans les expériences de rejet de substance toxique pour le champignon (Ridley et al. 1996; Herz et al. 2008; Saverschek et al. 2010; Saverschek et Roces 2011), car l'incorporation du matériel végétal dans la meule à champignon est un procédé qui requiert du temps (Burd et Howard 2005a; Hölldobler et Wilson 2010). Or, dans nos expériences de choix séquentiels, les fourmis n'avaient accès aux fragments végétaux que pendant 60 min. Il est donc impossible qu'un feedback puisse être perçu sur une période de temps aussi courte.

Comme pour d'autres espèces de fourmis (fourmis légionnaires : Topoff et al. 1980, fourmis d'Argentine : Aron et al. 1989, et fourmis du Pharaon : Fourcassié et Deneubourg 1994 ; Jackson et Châline 2007), nos résultats montrent que les fourmis coupeuses de feuilles déposent des phéromones de piste durant l'exploitation d'une source de nourriture, aussi bien sur leur trajet vers la source de nourriture que sur leur trajet de retour vers le nid, mais également durant l'exploration, c'est-à-dire en absence de sources de nourriture. Les fourmis du Pharaon, les fourmis d'Argentine, les fourmis légionnaires, et les fourmis coupeuses de feuilles sont toutes des espèces qui forment de très grosses colonies et qui utilisent un recrutement de masse vers les sources de nourriture (Beckers 1989). Le dépôt de phéromone pendant l'exploration pourrait donc être une stratégie qui dépend de la taille moyenne des colonies matures formées par les fourmis. Dans une colonie de petite taille, la perte d'une ouvrière a un coût plus important que dans une colonie de grande taille. Les fourrageuses ne sortent donc du nid qu'après la découverte par un scout d'une ressource de nourriture fiable. Alors qu'une colonie de grande taille peut se permettre d'envoyer un nombre très important de fourrageuses à l'extérieur du nid, même en l'absence de nourriture, et ainsi exploiter toute nouvelle ressource découverte très rapidement du fait que les ouvrières sont recrutées directement depuis les pistes existantes et non pas depuis l'intérieure du nid.

Nos résultats confirment ceux obtenus par (Evison et al. 2008a), en indiquant également que les ouvrières de plus petites tailles déposent de la phéromone de piste avec une fréquence plus importante que les ouvrières les plus grosses. La proportion de fourmis pisteuses et la répartition des ouvrières en fonction de leurs tailles restent la même pendant toute la durée de l'expérience (exploration et exploitation). Par contre, comme précédemment démontré chez les fourmis coupeuses de feuilles (Jaffé et Howse 1979; Roces 1993; Roces et Nuñez 1993), les fourmis modulent leur comportement de dépôt en fonction du substrat récolté. En effet, l'intensité de marquage dans nos expériences est plus importante lorsque les fourmis récoltent des ronces que lorsqu'elles récoltent du pyracantha, ce qui a pour conséquence d'augmenter

l'activité de fourragement (recrutement et nombre de fragments récoltés). Mais l'intensité de marquage augmente aussi systématiquement lorsque les fourmis ont reçu des ronces en substrat familier, ce qui ne se traduit pas forcément par un nombre de fourmis sortant du nid plus important (Table 1). Ce résultat suggère donc que d'autres signaux, tels les contacts entre ouvrières (voir chapitre 4), pourraient également être impliqués dans la modulation de l'activité de récolte. De façon intéressante, les fourmis sortant du nid modulent leur comportement de dépôt de phéromone en fonction du substrat familier, alors que les fourmis rentrant au nid modulent ce comportement en fonction du substrat récolté. Or, si les individus font plusieurs trajets entre le nid et les fragments de feuilles, nous pourrions nous attendre à ce que la modulation du comportement de dépôt de phéromones par les fourmis sortantes s'estompe au cours du temps, une fois que ces fourmis ont contacté le substrat offert. Et c'est en effet ce que nos données montrent : l'effet du substrat familier sur l'intensité de dépôt de phéromones est significatif pour les fourmis suivies à la 20^{ème} minute (début de phase d'exploitation) ($F_{1,121} = 6,017$; $P = 0,016$) mais non significatif pour les fourmis suivies à la 75^{ème} minute (fin de phase d'exploitation) ($F_{1,79} = 0,019$; $P = 0,889$). A la 75^{ème} minute par contre, le substrat récolté a un effet proche du seuil de signification sur l'intensité du marquage des fourmis sortant du nid ($F_{1,79} = 3,700$; $P = 0,058$), ce qui n'était pas du tout le cas à la 20^{ème} minute ($F_{1,121} = 1,326$; $P = 0,252$). Les fourmis modulent donc leur comportement de dépôt de phéromones avant d'avoir été en contact avec le substrat présent dans l'aire de fourragement, en fonction du type de substrat avec lequel elles ont été familiarisées (dont certains fragments, et donc odeur, doivent probablement être encore présents dans le nid puisque le substrat était retiré de l'aire de fourragement seulement une heure avant le début des expériences). Ce résultat concorde avec les observations de (Roces et Hölldobler 1994), qui montrent que les fourmis scouts n'ont pas besoin de contacter la source de nourriture pour moduler leur comportement de dépôt de phéromones.

V. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons montré que les préférences alimentaires des fourmis coupeuses de feuilles pouvaient être modulées de façon complexe par le caractère familier ou non familier des substrats offerts. Les besoins nutritionnels du champignon et des ouvrières sont très certainement responsables de ce pattern de préférences. La modulation individuelle du comportement de dépôt de phéromones n'est pas suffisante pour expliquer à elle seule les choix

observés collectivement, suggérant ainsi que d'autres signaux sont également utilisés par les fourmis coupeuses de feuilles lors de leur activité de fourragement.

Chapitre 6 - Rôle des ouvrières et du champignon symbiote sur les préférences alimentaires

I. Introduction

La plupart des animaux ont besoin d'environ une trentaine de nutriments différents (sucres, protéines, vitamines, etc.) dans leurs régimes alimentaires pour survivre, bien que les quantités et les proportions de ces nutriments varient en fonction des espèces et du stade de développement des individus (Behmer 2009a). Les ressources alimentaires se trouvant dans la nature se présentent le plus souvent sous forme complexe et sont composées d'une mixture de plusieurs nutriments. Selon la théorie du « *Geometric Framework* » de Raubenheimer et Simpson (1999), les animaux régulent leur alimentation en alternant entre plusieurs sources de nourriture différentes pour atteindre les proportions optimales nécessaires à leurs besoins nutritionnels (« *intake target* ») (Simpson et Raubenheimer 1996). Cette régulation s'opère grâce à des mécanismes de pré- et post- ingestion, ainsi que par des mécanismes d'apprentissage (Behmer 2009b). Chez les insectes sociaux la nutrition atteint un niveau de complexité plus élevé que chez les animaux solitaires, car seuls certains individus récoltent la nourriture pour toute la colonie. Chez les fourmis par exemple les individus présents dans une colonie peuvent avoir des besoins nutritionnels différents : les ouvrières et les individus reproducteurs ont des besoins importants en glucides pour assurer leur maintien alors que les larves ont des besoins plus importants en protéines pour leur développement (Hölldobler et Wilson 1990). Les fourrageuses régulent la quantité et le type de nourriture récolté en fonction des besoins nutritionnels de chaque type d'individus (Sorensen et al. 1985). Cette régulation se fait par acceptation ou refus d'échanges trophallactiques (Behmer 2009a). Ainsi les fourrageuses récoltent plus de glucides en présence d'individus reproducteurs dans la colonie (Judd 2005), et sont capables de parfaitement réguler la consommation de glucides selon différentes concentrations proposées en fonction de la présence et de la quantité de larves dans le nid (Dussutour et Simpson 2008; Dussutour et Simpson 2009). Les fourrageuses sont également capables de réguler de façon très précise leur balance nutritionnelle quand elles ont le choix entre plusieurs ratios de différents types de nutriments (Dussutour et Simpson 2009; Arganda et al. In press). Lorsque les fourmis n'ont pas la possibilité de réguler leurs besoins nutritionnels, la fitness de la colonie est affectée. Un régime hyper protéiné induit une mortalité plus importante (Dussutour et Simpson 2012) et un déficit en glucides, ainsi qu'une plus grande mortalité et des ouvrières de plus petites tailles (Kay et al. 2006).

L'équilibre nutritionnel chez les fourmis coupeuses de feuilles atteint un niveau de complexité encore plus élevé car un quatrième acteur, le champignon symbiotique, entre en jeu. Les ouvrières cultivent ce champignon en récoltant des fragments de végétation dans leur

environnement. Cependant, seules les larves se nourrissent exclusivement de ce champignon, les ouvrières se nourrissent en effet également de la sève des plantes qu'elles récoltent (Hölldobler et Wilson 2010). La sève a un rôle primordial dans l'alimentation des ouvrières coupeuses de feuilles puisqu'il a été démontré que le champignon ingéré ne couvrirait qu'un faible pourcentage des besoins énergétiques des ouvrières : moins de 10% pour certains auteurs (Quinlan et Cherrett 1979; Bass et Cherrett 1995), contre environ 50% pour d'autres (Silva et al. 2003). Les fourmis coupeuses de feuilles peuvent exploiter un grand nombre d'espèces de plantes différentes (Cherrett 1972), mais elles montrent également de fortes préférences pour certaines espèces, préférences qui peuvent être corrélées aux nutriments et/ou aux substances nocives présentes dans les feuilles (Cherrett 1972; Hubbell et al. 1984; Berish 1986; Howard 1987; Howard 1988; Howard 1990; Mundim et al. 2009).

Les fourmis coupeuses de feuilles montrent un pattern de fourragement peu commun : elles peuvent exploiter une ressource à plusieurs dizaines de mètres de leur nid alors qu'une ressource de même qualité apparente peut parfois se trouver à quelques mètres de celui-ci (Roces 2002). De plus, il est fréquemment observé que ces fourmis cessent d'exploiter une plante alors même que celle-ci n'est pas totalement défoliée (Roces 2002). Plusieurs théories ont été avancées pour expliquer ce pattern de fourragement complexe, dont celle de la balance nutritionnelle : les fourrageuses exploiteraient plusieurs espèces de plantes et changeraient de ressources régulièrement dans le but de réguler les besoins nutritionnels du champignon et éviter des concentrations trop élevées de composés toxiques (Roces 2002). Toutefois, puisque les ouvrières ont également besoin de sève pour survivre, ce pattern complexe de fourragement pourrait aussi être expliqué par un compromis ou une régulation de l'apport de nourriture au sein de la colonie afin de répondre à la fois aux besoins nutritionnels des ouvrières et à ceux du champignon. La symbiose entre ce champignon et les fourmis résultant d'une coévolution vieille de plus de 50 millions d'années (Hölldobler et Wilson 2010; Licht et Boomsma 2010), il serait donc étonnant que des régimes alimentaires complètement différents aient été sélectionnés pour le champignon et les fourmis. Néanmoins, une étude sur les préférences alimentaires réalisée sur des fourmis champignonnistes mais non coupeuses de feuilles de l'espèce *Trachymyrmex septentrionalis* appartenant aux Attines supérieures a révélé que les préférences alimentaires des ouvrières ne correspondaient pas toujours aux substrats induisant la meilleure croissance du champignon (Seal et Tschinkel 2007). Ainsi, les fourrageuses des fourmis Attines sont capables de cesser de récolter un substrat nocif pour le champignon en communiquant avec les fourmis jardinières qui sont en contact permanent avec le champignon

(North et al. 1999), puis en apprenant à associer ce substrat à ses effets nocifs sur le champignon (Ridley et al. 1996; Herz et al. 2008; Saverschek et al. 2010; Saverschek et Roces 2011). En revanche, elles semblent fourrager selon leur propre préférence alimentaire lorsque le champignon n'est pas en situation de stress (Seal et Tschinkel 2007). Pour tester cette hypothèse, nous avons créé des colonies expérimentales dont seules les ouvrières et/ou le champignon étaient stressés par différents régimes alimentaires. Puis nous avons observé le choix des ouvrières lorsque deux types d'aliments (aliments secs, utilisés exclusivement pour nourrir le champignon, et aliments liquides, utilisés exclusivement pour nourrir les ouvrières) étaient proposés. Notre hypothèse était que les fourrageuses devraient choisir préférentiellement des aliments secs pour le champignon lorsque ce dernier est en situation de stress alimentaire, et choisir les aliments liquides pour leurs propres besoins nutritionnels lorsque le champignon n'est pas en situation de stress.

II. Matériels et méthodes

II. 1. Conditions d'élevage

Deux colonies matures d'*Atta laevigata* (récoltées en 2008 près de Botucatu, état de São Paulo, Brésil) ont été utilisées pour cette expérience. Ces deux colonies étaient maintenues en conditions constantes de laboratoire (température : 25 ± 2 °C, humidité : $30 \pm 10\%$,) sous un cycle jour : nuit de 12 :12. Le champignon de chacune des deux colonies était maintenu dans des boîtes en PVC (1×L×H: 27×24×27 cm) fermées dans lesquelles étaient pratiqués des orifices pour l'aération. Les boîtes étaient reliées entre elles par des tuyaux de PVC. Une boîte ouverte servant d'aire de fourragement (1×L×H: 21×47×20 cm) et une autre de même dimension utilisée pour l'évacuation des déchets étaient également reliées à chacune des colonies. Les parois de ces deux dernières boîtes étaient enduites de Fluon® afin d'empêcher les fourmis de s'échapper. A partir de ces deux colonies, 50 colonies expérimentales ont été créées (25 par colonie). Pour chaque colonie expérimentale, 20 g de champignon ont été prélevés sur une des deux colonies, les ouvrières majors et medias étant retirées du champignon à la pince (les minors se trouvant pour la plupart à l'intérieur de la meule à champignon, il était impossible de les retirer sans endommager celle-ci). Le champignon récolté pour chaque colonie a été installé dans une boîte en plastique circulaire (10 cm de diamètre, 8 cm de hauteur), dont le fond contenait du plâtre relié par une mèche de coton à un réservoir d'eau pour maintenir le nid humide (Fig. 1). Cette boîte était reliée à une seconde boîte de fourragement de même dimension par un tuyau en plastique (Fig. 1). Dans cette seconde boîte étaient placées 200 ouvrières de taille media. Les

50 colonies expérimentales ont ensuite été nourries avec des feuilles de ronces et de pyracantha, ainsi qu'avec des morceaux de pommes *ad libitum* pendant une semaine, le temps que les colonies se stabilisent. De l'eau leur a été également fournie *ad libitum* pendant toute la durée des expériences. Les aires de fourragement des colonies expérimentales étaient nettoyées tous les jours: les déchets liés au champignon étaient retirés, et les ouvrières mortes remplacées par de nouvelles ouvrières afin de maintenir un nombre constant d'ouvrières dans chaque colonie.

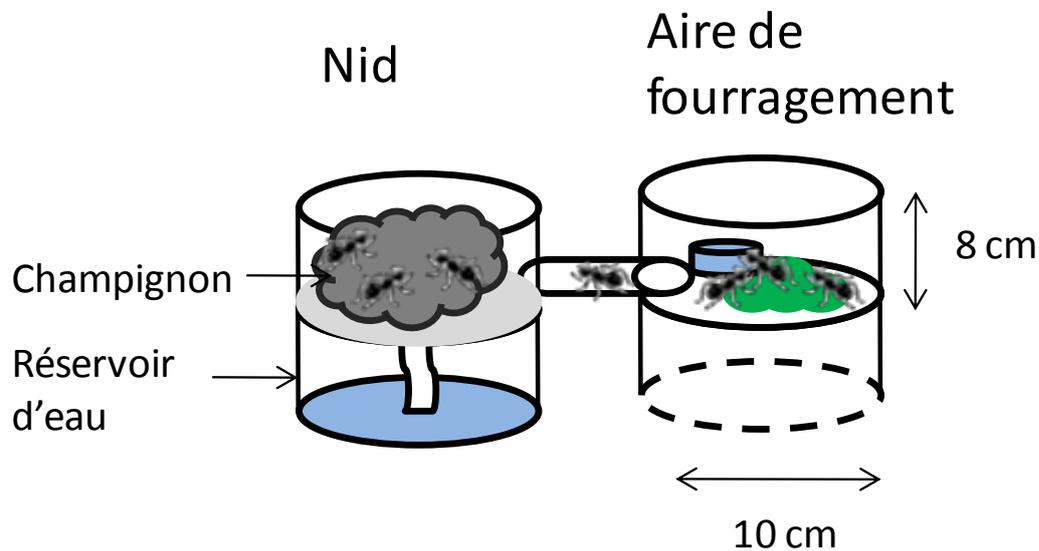


Figure 1 : Schéma du dispositif utilisé pour maintenir les colonies expérimentales

II. 2. Protocole expérimental

Les 50 colonies ont été nourries pendant 6 jours selon trois régimes alimentaires différents donnés quotidiennement : 10 morceaux d'orange séchée (de dimensions environ $l \times L \times H$: $5 \times 5 \times 5$ mm) (régime pour le champignon), 10 disques de Parafilm (diamètre 10 mm) préalablement trempés dans du jus d'orange (régime pour les ouvrières), ou 5 morceaux d'orange séchée et 5 disques de Parafilm trempés dans du jus d'orange (régime pour le champignon et les ouvrières). Le jus d'orange était fabriqué à partir d'oranges fraîches pressées

chaque matin, et les morceaux d'orange séchée étaient préparés avant le début des expériences, en plaçant les morceaux d'orange découpés dans une étuve à 80 °C pendant 4 h.

Les aires de fourragement des colonies expérimentales étaient également nettoyées tous les jours, les items alimentaires non consommés remplacés par de nouveaux items, et le nombre de cadavres de fourmis compté.

La veille du début des tests, les ouvrières medias et le champignon ont été échangés pour créer 5 groupes expérimentaux de 10 colonies chacun correspondant à 5 traitements différents (Fig. 2):

- Groupe contrôle 1 : les échanges ouvrières/champignon sont effectués entre les colonies expérimentales ayant suivi le régime champignon/ouvrières (5 morceaux d'orange séchée et 5 disques de Parafilm imbibés de jus d'orange) durant les 6 jours précédant le test. Ni les ouvrières, ni le champignon, ne devrait être en situation de stress alimentaire dans ce groupe.
- Groupe ouvrières stressées : les échanges ouvrières/champignons sont effectués entre les colonies expérimentales ayant suivi le régime champignon (10 morceaux d'orange séchée). Seules les ouvrières devraient se trouver en situation de stress alimentaire dans ce groupe.
- Groupe champignon stressé : les échanges ouvrières/champignons sont effectués entre les colonies expérimentales ayant suivi le régime ouvrières (10 disques de Parafilm trempés dans du jus d'orange). Seul le champignon devrait se trouver en situation de stress alimentaire dans ce groupe.
- Groupe champignon et ouvrières stressées : Les ouvrières ayant reçu un régime alimentaire champignon (10 morceaux d'orange séchée) ont été placées avec un champignon ayant suivi le régime alimentaire ouvrières (10 disques de Parafilm trempés dans du jus d'orange). Ainsi, les ouvrières et le champignon devraient être en situation de stress alimentaire dans ce groupe.

- Groupe contrôle 2 : Les ouvrières ayant suivi un régime alimentaire ouvrières (10 disques de Parafilm trempés dans du jus d'orange) ont été placées avec un champignon ayant suivi le régime alimentaire champignon (10 morceaux d'orange séchée). Dans ce groupe ni les ouvrières ni le champignon ne devraient être stressés. La seule différence entre le groupe contrôle 2 et le groupe contrôle 1 est que les ouvrières et le champignon n'ont reçu qu'un seul type de nourriture dans la semaine précédant l'échange.

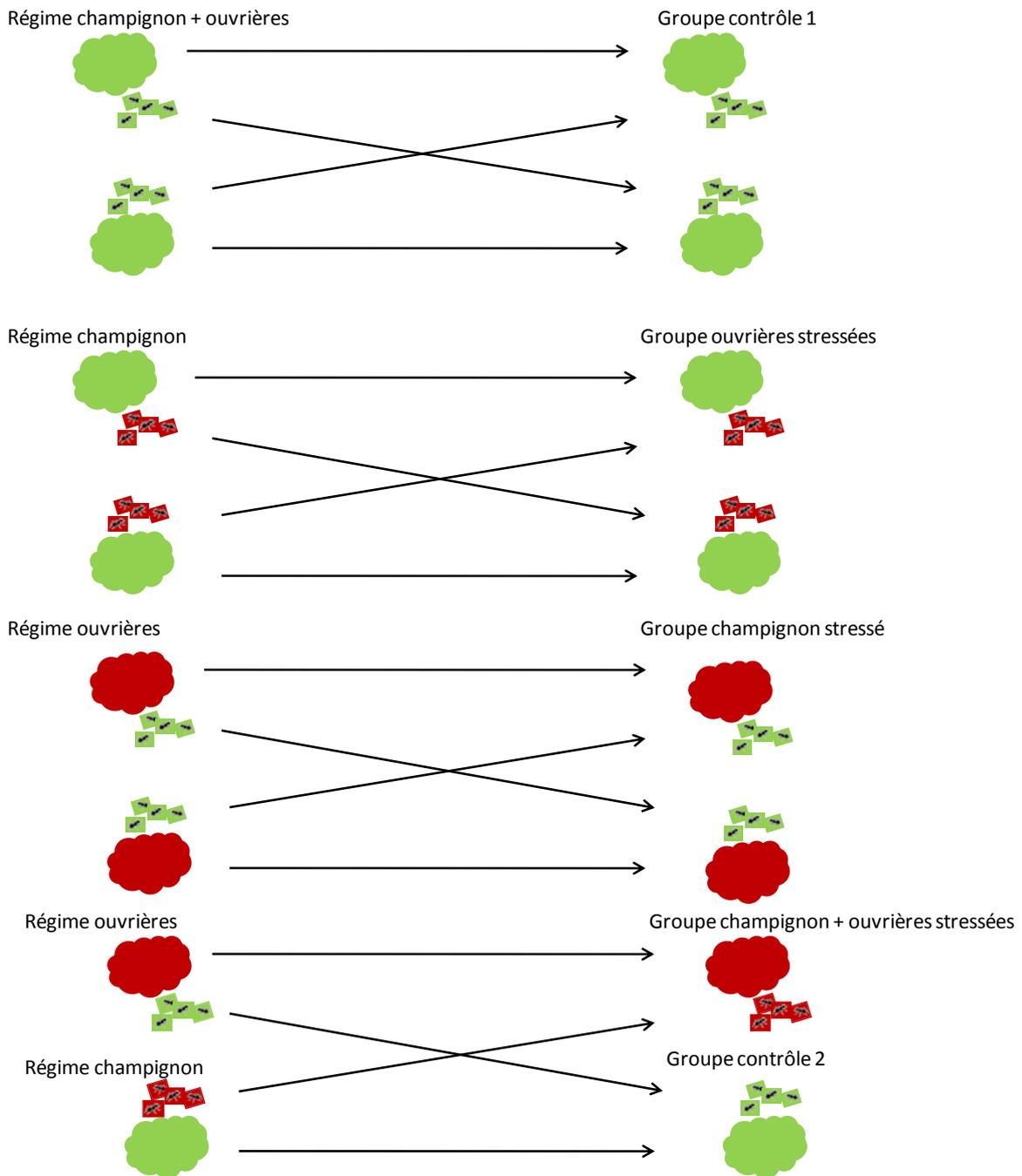


Figure 2 : Schéma du protocole expérimental. Après 6 jours passés à être nourries selon trois régimes alimentaires différents, les ouvrières ont été retirées de leurs colonies et placées dans d'autres colonies, avec un champignon différent. La couleur verte signifie que l'organisme (ouvrières et/ou champignon) n'est pas en situation de stress alimentaire, la couleur rouge signifie que l'organisme est stressé.

Les champignons des colonies expérimentales ont été pesés au moment où on a procédé aux échanges d'ouvrières. Ces échanges ont été réalisés entre colonies expérimentales appartenant à la même colonie mère, et en fonction de poids similaires des champignons entre les colonies expérimentales, en d'autres termes, les ouvrières issues d'une colonie avec un champignon de poids faible étaient échangées avec une autre colonie dont le champignon était aussi de poids faible.

Le jour suivant les échanges, toutes les colonies expérimentales ont reçu 5 morceaux d'orange séchée et 5 disques de Parafilm imbibés de jus d'orange. Le nombre d'items de chaque type de nourriture restant dans les boîtes à fourrage a été relevé après 24 h. Ces items ont été retirés puis remplacés par des nouveaux. Cette procédure a été répétée pendant 3 jours successifs. Trois tests de choix ont donc ainsi été réalisés : 24 h, 48 h et 72 h après les échanges champignons/ouvrières.

II. 3. Analyses statistiques

Sur les 50 colonies expérimentales créées, les champignons de 29 colonies expérimentales seulement ont survécu (5 colonies issues du régime champignon + ouvrières, 7 colonies issues du régime champignon et 9 du régime ouvrières n'ont pas survécu). Vingt-neuf colonies ont donc été utilisées pour les analyses statistiques.

Un indice de préférence entre les deux types d'items alimentaires donnés au cours des tests de choix a été calculé de la manière suivante :

Indice de préférence

$$= \frac{(\text{Nombre de morceaux d'orange séchée} - \text{Nombre de disques de Parafilm})}{(\text{Nombre de morceaux d'orange séchée} + \text{Nombre de disques de Parafilm})}$$

Cet indice varie entre -1 et +1. Un indice positif correspond à une préférence pour les morceaux d'orange séchée (nourriture pour le champignon), et un indice négatif correspond à une préférence pour les disques de Parafilm (nourriture pour les ouvrières). Les indices ont été calculés pour chaque groupe expérimental, pour chacun des 3 jours de test indépendamment, puis sur le total de ces 3 jours. Pour déterminer si les ouvrières expriment une préférence alimentaire, les valeurs de l'indice de préférence ont été comparées pour chaque groupe expérimental à la valeur 0 avec un test de Wilcoxon pour chacun des 3 jours de test puis sur le total de ces 3 jours. Les valeurs de l'indice de préférence pour les différents groupes

expérimentaux ont ensuite été comparées entre elles avec un test de Kruskal Wallis, suivi d'un test *post-hoc* de Nemenyi.

Le poids du champignon restant dans les colonies ayant survécu jusqu'aux tests de choix étant extrêmement variable d'une colonie à l'autre indépendamment des groupes expérimentaux (de 0,6 g à 20,9 g), la consommation totale d'items alimentaires d'une colonie expérimentale pendant les tests de choix pourrait dépendre du volume du champignon. De ce fait, le nombre total d'items consommés sur les 3 jours de tests pour chacune des colonies expérimentales a été divisé par le poids du champignon (g), et les valeurs pour les différents groupes expérimentaux ont été comparées entre elles avec un test de Kruskal-Wallis, suivi d'un test *post-hoc* de Nemenyi.

Le nombre de fourmis mortes pendant la semaine où les différents traitements ont été appliqués (colonies expérimentales nourries exclusivement avec un régime alimentaire ouvrières, champignon, ou les deux) a également été comparé entre groupes expérimentaux avec un test de Kruskal-Wallis, suivi d'un test *post-hoc* de Nemenyi.

Tous les tests statistiques ont été effectués avec le logiciel R 2.13.1 (R Development Core Team, 2011).

III. Résultats

III. 1. Tests de choix

Les ouvrières n'expriment pas de préférence alimentaire en fonction des régimes alimentaires reçus pendant la semaine de traitement (Table 1). Les indices de préférence calculés pour chacun des 5 groupes ne sont pas significativement différents entre eux pour les 3 tests de choix successifs (indice de préférence pour les 3 tests cumulés, fig. 1 : test de Kruskal-Wallis, $K= 3,50$; $dl= 4$; $P= 0,47$; pour le test effectué à 24 h : test de Kruskal-Wallis, $K= 1,52$; $dl= 4$; $P= 0,82$; pour le test effectué à 48 h : test de Kruskal-Wallis, $K= 1,54$; $dl= 4$; $P= 0,81$; pour le test effectué à 72 h : test de Kruskal-Wallis, $K= 1,76$; $dl= 4$; $P= 0,77$).

Table 1 : Résultats des tests de comparaison des indices de préférence avec la valeur 0 pour chaque groupe expérimental. W : statistique du test de Wilcoxon ; P : probabilité associée.

Groupe	Indice de préférence à 24h		Indice de préférence à 48h		Indice de préférence à 72h		Indice de préférence cumulé sur les 3 jours	
	W	P	W	P	W	P	W	P
Contrôle 1	4,5	0,5812	3	1	3,5	1	3,5	1
Ouvrières stressées	3	1	1,5	0,763	2,5	1	2	1
Champignon stressé	4	0,793	2,5	1	4	0,793	2	1
Ouvrières +champignon stressé	4,5	0,814	4	1	5	0,646	5	0,660
Contrôle 2	5	0,646	3	1	3,5	1	3,5	1

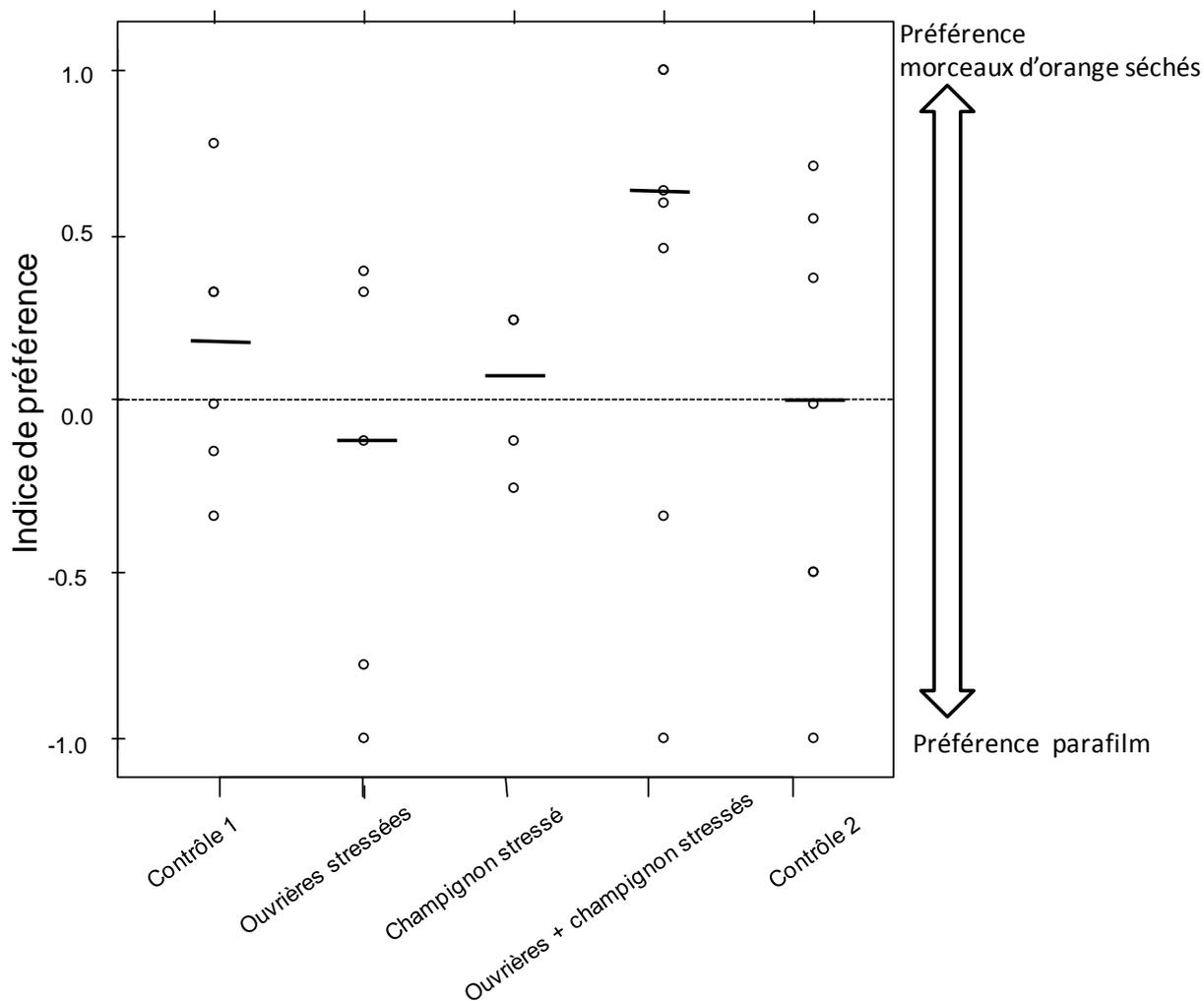


Figure 1 : Valeurs de l'indice de préférence calculé pour les 5 groupes expérimentaux cumulé pour les 3 jours de test. Chaque cercle représente la valeur de l'indice de préférence d'une colonie expérimentale, les barres horizontales représentent la médiane pour chaque groupe. Contrôle 1, N= 6 ; Ouvrières stressées, N= 5 ; Champignon stressé, N= 4 ; Ouvrières + champignon stressés, N= 7 ; Contrôle 2, N= 7.

III. 2. Consommation totale

Lorsque la consommation totale est analysée de façon globale sur les 3 jours de tests cumulés, le nombre d'items alimentaires consommés par les ouvrières ne diffère pas entre les groupes expérimentaux (test de Kruskal-Wallis : $K= 8,31$; $dl= 4$; $P= 0,08$). Cependant lors du premier test réalisé après 24 h, la consommation totale des ouvrières est différente entre les groupes expérimentaux (Fig. 2a, test de Kruskal-Wallis : $K= 10,51$; $dl= 4$; $P<0,05$) : les ouvrières appartenant au groupe champignon stressé consomment significativement plus de

nourriture que celles appartenant au groupe ouvrières + champignon stressés (test *post-hoc* de Nemenyi, groupe champignon stressé vs groupe ouvrières + champignon stressés : $P < 0,05$). Lors du deuxième test de choix (après 48 h), la consommation totale des ouvrières est également différente entre les groupes expérimentaux (Fig.2 b, test de Kruskal-Wallis : $K = 10,14$; $dl = 4$; $P < 0,05$) : les ouvrières appartenant au groupe champignon stressé consomment significativement plus de nourriture que celles appartenant au groupe ouvrières stressées (test *post-hoc* de Nemenyi, groupe champignon stressé vs groupe ouvrières stressées : $P < 0,05$). Lors du dernier jour de test (après 72 h), la consommation totale des ouvrières n'est plus significativement différente entre les groupes expérimentaux (Fig.2 c, test de Kruskal-Wallis : $K = 8,81$; $dl = 4$; $P = 0,06$).

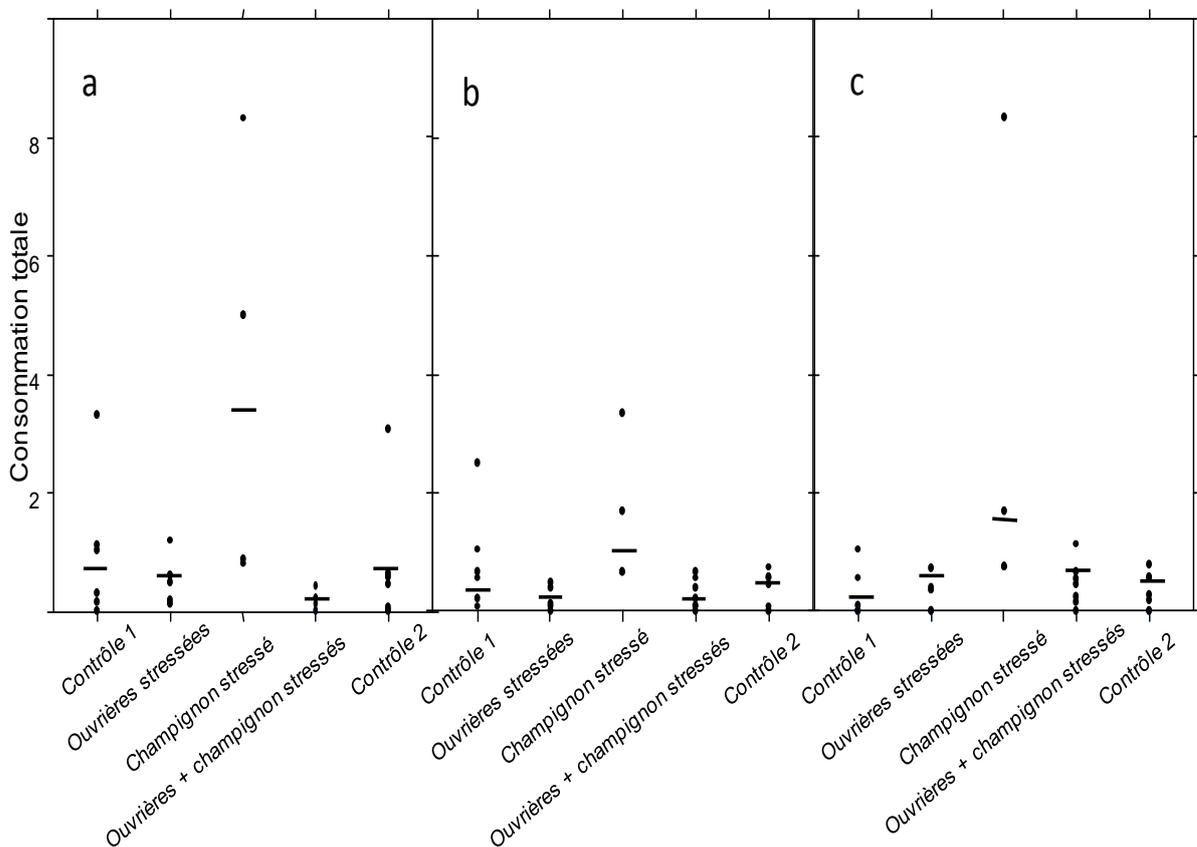


Figure 2 : Nombre total d'items alimentaires consommés (morceaux d'orange séchés et disques de Parafilm) pour les 5 groupes expérimentaux rapporté au poids du champignon au début des tests. Chaque point représente la consommation (nombre d'items consommé/ poids du champignon) d'une colonie expérimentale, les barres horizontales représentent la médiane pour chaque groupe. a = test à 24 h ; b= test à 48 h ; c= test à 72 h. Contrôle 1, N= 6 ; Ouvrières stressées, N= 5 ; Champignon stressé, N= 4 ; Ouvrières + champignon stressés, N= 7 ; Contrôle 2, N= 7.

III. 3. Mortalité

Les trois régimes alimentaires donnés durant la semaine de traitement avant les tests (régime champignon, régime ouvrières, régime champignon + ouvrières) n'induisent pas une mortalité différente des ouvrières (Fig. 3 ; test de Kruskal-Wallis : $K= 0,0075$; $dl= 2$; $P= 0,99$)

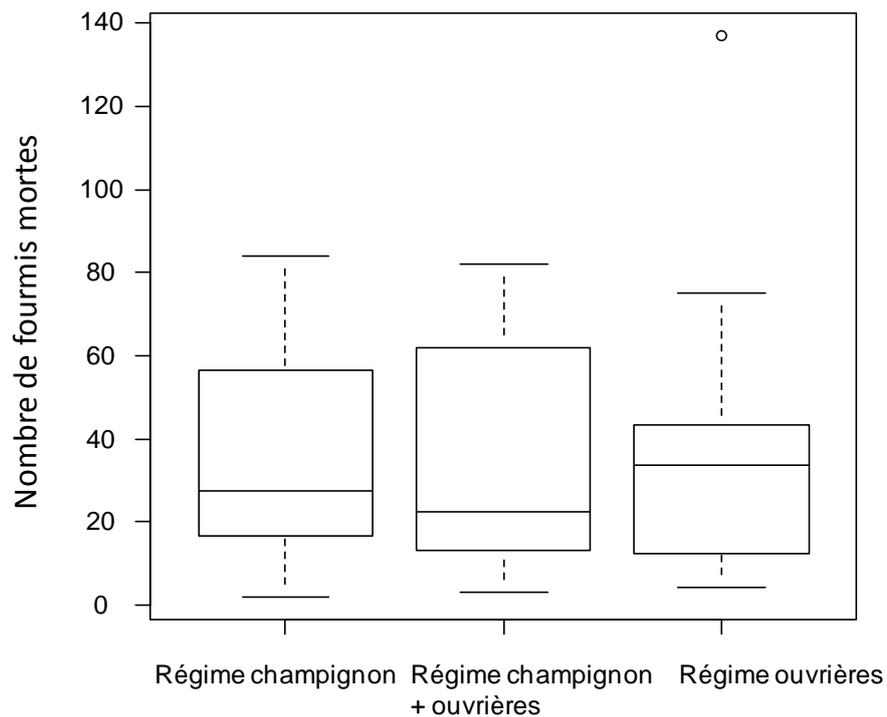


Figure 3. Boîtes à moustaches représentant la distribution du nombre de fourmis mortes selon les 3 régimes alimentaire reçus durant la semaine de traitement précédant les tests. Régime champignon : N= 698 (20 colonies expérimentales) ; Régime champignon+ouvrières : N= 359 (10 colonies expérimentales) ; Régime ouvrières : N= 723 (20 colonies expérimentales).

IV. Discussion

Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence un quelconque choix alimentaire en fonction de l'état de stress alimentaire du champignon et/ou des ouvrières. Cette absence de résultat est probablement due au faible nombre de colonies expérimentales testées (faible puissance du test), liée au taux de mortalité élevé des colonies au cours de la semaine où les différents traitements ont été appliqués.

Les résultats concernant la consommation totale des colonies nous indiquent pourtant que lorsque le champignon est stressé mais que les ouvrières ne le sont pas (groupe champignon stressé), certaines colonies consomment considérablement plus de nourriture que dans les autres groupes, démontrant ainsi que les ouvrières sont capables d'accroître leur volume de récolte en réponse aux besoins du champignon. Cette étude est la première démontrant une modulation du comportement des ouvrières en réponse à un stress du champignon de nature uniquement alimentaire, c'est-à-dire sans l'utilisation de substances fongicides (Ridley et al. 1996; North et al. 1999; Saverschek et al. 2010). De façon surprenante, lorsque le champignon et les ouvrières sont stressés, les fourrageuses ne récoltent pas plus de nourriture. Cette absence de modulation du comportement de récolte est peut-être liée à la faible condition physique des ouvrières causée par l'absence d'ingestion d'aliments liquides lors de la semaine de traitement. Si la sève ingérée lors de la récolte couvre au moins 50% des besoins énergétiques nécessaires au fourragement (Quinlan et Cherrett 1979; Bass et Cherrett 1995; Silva et al. 2003), il serait logique que l'activité de récolte soit perturbée lorsque les fourrageuses en sont privées. Un suivi individuel de l'activité des fourrageuses, couplé à une analyse des réserves lipidiques contenues dans les corps des fourrageuses, nous permettraient de confirmer cette hypothèse.

La mortalité des ouvrières n'est pas significativement différente entre les colonies ayant été traitées avec les trois régimes alimentaires différents (Régime ouvrières, champignon, et ouvrières + champignon). Une étude de la mortalité des ouvrières réalisée chez *Atta sexdens* a montré que les ouvrières ont besoin de glucose pour survivre (Silva et al. 2003). Ce glucose est produit par le champignon suite à la dégradation des polysaccharides contenu dans les plantes. Ainsi, le taux de mortalité des ouvrières est comparable lorsque les ouvrières sont maintenues avec du mycélium de champignon n'ayant pas été en contact avec des feuilles et lorsqu'elles sont maintenues sans aucune source de nourriture, alors que les fourmis maintenues avec de la nourriture artificielle contenant du glucose ont une mortalité extrêmement faible (Silva et al. 2003). Nos trois régimes alimentaires à base d'orange séchée et de jus d'orange doivent donc

fournir aux ouvrières des quantités similaires de glucose, directement consommable par les fourmis (jus d'orange), ou consommable *via* l'action enzymatique du champignon (orange séchée), induisant un taux de mortalité similaire. Ce résultat confirme donc l'usage approprié d'oranges (séchée ou en jus) pour ce type d'expériences, son impact nutritif sur la mortalité étant le même pour ses deux formes.

V. Conclusion

Cette étude, bien que préliminaire, offre d'intéressantes perspectives. Une augmentation du nombre de colonies par groupes expérimentaux pourrait certainement nous permettre d'avoir des résultats plus clairs.

Discussion générale

Les différentes expériences de laboratoire et de terrain réalisées au cours de cette thèse nous ont permis de caractériser certains aspects du comportement d'approvisionnement des fourmis coupeuses de feuilles et des mécanismes qui le sous-tendent. Les résultats obtenus nous permettent de suggérer un pattern global de l'activité de récolte des fourmis coupeuses de feuilles en conditions naturelles.

L'activité d'approvisionnement des fourmis coupeuses de feuilles est sensible aux conditions climatiques (Cherret 1968 ; Lewis et al. 1974 ; Gamboa 1975 ; Wetterer 1990 ; Vasconcelos 2002). La construction et l'utilisation de tunnels de fourrageage par ces fourmis pourraient réduire leur temps de trajet sur les pistes lors de l'activité de récolte et donc le temps d'exposition à des conditions météorologiques défavorables (chaleur excessive, précipitations), ou encore servir de refuges thermiques en cas de changement brusque des conditions météorologiques. Ainsi, l'architecture de ces tunnels pourrait dépendre de la thermotolérance des espèces. En comparant la thermotolérance de deux espèces de fourmis vivant dans le même environnement, nous avons en effet montré que l'espèce *A. capiguara*, qui construit des tunnels de fourrageage plus longs et plus profonds que l'espèce *A. laevigata*, était moins résistante aux hautes températures. Ces résultats suggèrent que les fourmis coupeuses de feuilles pourraient ajuster leur comportement de construction à leur capacité de résistance à la dessiccation. Ils sont à rapprocher de ceux obtenus par da Silva et al. (2012) qui démontrent que les ouvertures/fermetures des tunnels de fourrageage sont corrélées avec la distribution spatio-temporelle des ressources. L'architecture du nid et des infrastructures qui y sont liées pourrait donc améliorer l'activité de récolte.

Nos résultats montrent qu'une fois sorties des tunnels de fourrageage les fourmis déposent de la phéromone de piste continuellement, aussi bien pendant l'exploration que pendant l'exploitation des ressources, et aussi bien sur leur chemin de sortie que de retour au nid. Ce comportement permet un recrutement, et donc une mobilisation des fourrageuses, extrêmement rapide lors de la découverte d'une nouvelle ressource, et ceci est d'autant plus vrai que les fourmis peuvent être recrutées directement depuis les pistes existantes (Shepherd 1982), sans que les fourmis recruteuses aient besoin de revenir jusqu'au nid. De plus, notre étude sur la dynamique de construction des pistes physiques a révélé que l'existence d'une piste chimique était suffisante pour initier la construction d'une piste physique. La construction des pistes physiques commence donc dès la découverte d'une nouvelle ressource. Cependant, le temps de construction de ces pistes est extrêmement variable. Or, pour que les fourmis bénéficient d'une augmentation significative de l'efficacité de transport de la végétation grâce

à ces pistes physiques, il faut que ces dernières soient totalement dégagées de toute végétation et obstacles. Autrement dit, il faut qu'elles soient totalement achevées pour que l'efficacité du fourragement soit maximale. Le coût de construction des pistes physiques est relativement faible à l'échelle d'une colonie (Howard 2001), et nos expériences montrent que le plus gros de l'effort de travail de construction est réalisé dans les premières heures qui suivent la découverte de la nouvelle ressource, suggérant ainsi que la fonction des pistes physiques ne se limite pas à offrir aux fourmis un substrat plus homogène pour faciliter leur déplacement. L'établissement d'une piste physique dès la découverte d'une ressource pourrait par exemple permettre aux colonies d'élargir leur territoire très rapidement, et de réduire la compétition avec d'autres colonies par partitionnement de l'espace (Salzemann et Jaffé 1991). Ces pistes physiques pourraient également servir à l'orientation des fourrageuses lors de l'exploitation des ressources (Shepherd 1982). Les résultats des expériences sur l'orientation individuelle montrent en effet que les fourmis qui transportent un fragment de feuille sont incapables de s'orienter en dehors des pistes. Les pistes physiques, même non achevées, participeraient donc à l'amélioration de l'efficacité du fourragement puisqu'elles permettent aux fourmis chargées de revenir plus vite et plus sûrement à leur nid. Les fourmis non chargées quant à elles, arriveraient à s'orienter en utilisant les repères terrestres présents dans l'environnement. Cependant, nos résultats montrent qu'un certain pourcentage de ces fourmis n'arrive pas à s'orienter à proximité des pistes. Il pourrait s'agir de fourmis naïves ou de fourmis qui n'ont pas encore effectué le trajet entre le nid et la ressource en cours d'exploitation suffisamment de fois pour développer une mémoire de la configuration des repères terrestres se trouvant autour de celui-ci. Les pistes physiques pourraient ainsi constituer des guides physiques et permettre à toutes les fourmis (naïves et expérimentées) d'éviter de se perdre et de naviguer plus facilement entre leur nid et les ressources si la piste chimique venait à disparaître. D'après Howard (2001) ce seraient les fourmis non chargées (ou du moins 5% d'entre elles) qui assureraient la construction des pistes physiques. Or nous avons montré dans nos expériences que la géométrie des pistes physiques au début de leur construction pouvait être déterminée en partie par la mémoire des individus qui la construisent. Ces mêmes expériences ne nous ont pas permis de déterminer qu'il existait une seule géométrie « type » pour ces pistes physiques. La construction simultanée de deux pistes physiques dans 30% de nos expériences corrobore les résultats obtenus lors de l'étude de la dynamique de construction des pistes physiques : les fourmis initient la construction d'une piste physique dès qu'il y a présence d'une piste chimique, peu importe si plusieurs pistes chimiques mènent à la même ressource. Les études portant sur la dynamique des réseaux de pistes physiques sur des longues périodes de temps

(12 mois) décrivent la présence de pistes majeures débouchant sur des embranchements de pistes mineures et ne décrivent en aucun cas l'existence de plusieurs pistes menant au même endroit (Wirth 2003; Kost et al. 2005). Ceci suggère donc qu'une sélection entre les différentes pistes physiques initiées lors de la découverte d'une nouvelle ressource s'opèrerait au cours du temps jusqu'à ce que ne subsiste qu'une seule piste. Elles pourraient ainsi expliquer pourquoi la durée de construction des pistes est aussi variable : les ressources exploitées par les fourmis étant stables dans le temps et l'espace, celles-ci initieraient la construction d'une piste dès la découverte d'une ressource, pour des besoins d'orientation et de territorialité. Mais elles n'achèveraient la construction d'une piste qu'après que celle-ci ait été sélectionnée. Les fourmis coupeuses de feuilles se caractérisant par le même comportement de dépôt/suivi de phéromone de piste que la fourmi d'Argentine (Goss et al. 1989), il ne serait pas surprenant que cette sélection se fasse par des processus identiques, basés sur des mécanismes d'auto-organisation, aboutissant à la sélection de la piste correspondant au temps de trajet le plus court. De plus, même si les pistes ne sont pas coûteuses à construire, nos résultats concernant le rôle des contacts démontrent que le taux de contacts entre ouvrières sur les pistes améliore l'efficacité du fourragement, confirmant ainsi les résultats obtenus par Dussutour et al. (2007). Ainsi, si le flux de fourmis exploitant une seule ressource se trouvait divisé du fait de l'existence de plusieurs pistes menant au même endroit, l'efficacité du fourragement en serait réduite. La sélection d'une seule piste par ressource permettrait donc d'augmenter l'efficacité du fourragement.

Nous avons également démontré que les fourmis modulaient l'intensité du comportement de dépôt de phéromone en fonction de leur préférence pour le substrat récolté. Cette modulation pourrait, comme chez d'autres espèces (Beckers et al. 1993; Portha et al. 2002; Mailleux et al. 2003; Jackson et Châline 2007; Detrain et Deneubourg 2008; Collignon et Detrain 2010), être à la base du choix des ressources à exploiter au niveau collectif. Cependant, nous avons vu au cours d'une autre expérience que le taux de recrutement ne dépendait pas de la quantité de phéromone présente sur les pistes. Le nombre de fourrageuses sortant du nid ne dépend d'ailleurs pas non plus de la modulation d'autres formes de signaux de communication (contact entre ouvrières et fragments de feuilles ramenés au nid). Cette stratégie pourrait permettre aux fourmis de maintenir un taux d'exploration fort et une activité minimale sur toutes les pistes physiques. Cette activité minimale permettrait aux fourmis, d'une part d'assurer la protection de leur territoire, et d'autre part d'exploiter très rapidement une ressource dynamique, dont la « configuration » changerait (présence de fruits par exemple, ou encore repousse de feuilles

suite à une défoliation complète). La modulation du comportement de dépôt de phéromone et les transferts d'information ayant lieu lors des contacts permettraient ensuite de concentrer les flux de fourmis sur les pistes menant aux ressources les plus profitables, puisque nos résultats indiquent que cette communication multimodale a un impact sur l'efficacité du fourragement.

Les fourmis peuvent cesser leur activité de récolte lorsque le substrat exploité est nocif pour le champignon (Ridley et al. 1996; North et al. 1999; Saverschek et al. 2010). Mais nos résultats montrent qu'elles peuvent également accroître la quantité de ressources récoltées lorsque le champignon est en état de stress alimentaire. Le choix de la ressource à exploiter pourrait ainsi résulter d'un compromis entre les besoins nutritionnels du champignon et des ouvrières, comme nous le suggère fortement le changement de préférence observé au cours du temps lors de notre expérience sur l'impact de la familiarité sur les préférences alimentaires.

Au vu des résultats de l'ensemble de ce travail de thèse il serait maintenant intéressant d'étudier le choix collectif des fourmis lorsqu'elles sont confrontées à un choix simultané entre deux substrats, l'un étant plus préféré que l'autre, lorsque ceux-ci sont disposés à deux emplacements distincts sur leur aire de fourragement. On pourrait par exemple procéder à des expériences au laboratoire où ces substrats seraient disposés à l'extrémité de chaque branche d'un pont en Y. Ceci permettrait d'étudier si la modulation des signaux de communications (dépôt de phéromone, contacts antennaires, mais également stridulations) permettent aux fourmis de sélectionner collectivement une seule ressource et d'en changer ou non au cours du temps. Mais il serait également intéressant de faire cette même expérience sur le terrain, afin d'examiner si la vitesse de construction des pistes et les modifications de leur géométrie au cours du temps, et pourquoi pas également la longueur des tunnels de fourragement qui conduisent à ces pistes, varient en fonction de la ressource exploitée. Selon le pattern global du comportement d'approvisionnement des fourmis coupeuses de feuilles mis en évidence dans cette thèse, il ne serait pas surprenant que les fourmis maintiennent une activité à peu près constante sur les deux branches du pont au laboratoire et construisent de la même façon les pistes physiques menant aux deux types de ressources sur le terrain, et que seule l'efficacité du fourragement varie au cours du temps en fonction de la ressource exploitée.

Les fourmis coupeuses de feuilles peuvent exploiter des ressources se trouvant à plusieurs centaines de mètres de leur nid (grâce aux tunnels de fourragement couplés aux pistes physiques) et leurs aires de récolte peuvent s'étendre sur plus d'un hectare (Hölldobler et Wilson 2010). La distance des ressources à exploiter ne semble donc pas constituer un obstacle

majeur pour ces fourmis. Les coûts énergétiques liés à la construction des pistes physiques restent négligeables, et la construction systématique de ces pistes lors de la découverte d'une nouvelle ressource permet aux fourmis de s'affranchir des hétérogénéités du terrain sur lequel elles se déplacent. De plus, le risque de prédation est quasi nul pour ces espèces, et le risque de parasitisme mettant en danger la colonie est également très faible, puisque ces fourmis ont développé un comportement spécifique au cours de l'évolution (*hitchiking behavior*) pour le réduire sans perturber grandement l'efficacité du fourragement (Hölldobler et Wilson 2010). Seule la compétition pour l'accès aux ressources entre différentes colonies de fourmis coupeuses de feuilles semble donc être capable de limiter l'activité d'approvisionnement. Pour faire face à cette compétition, les fourmis coupeuses de feuilles établissent leur territoire à partir du réseau de pistes physiques qu'elles construisent et du dépôt d'une phéromone dite territoriale. La découverte d'une nouvelle ressource est donc immédiatement suivie par la construction d'une piste physique et ceci est possible grâce au recrutement de masse et au dépôt de phéromone de piste pendant l'exploration du milieu. Le nombre considérable d'ouvrières au sein des colonies matures permet sans doute l'utilisation de telles stratégies de recherche et d'exploitation des ressources avec un coût énergétique négligeable pour l'ensemble de la colonie. Ces stratégies sont similaires à celles employées par les espèces de fourmis invasives, et le fait d'exploiter des ressources stables dans le temps et l'espace (végétation) pourrait permettre aux fourmis coupeuses de feuilles de s'affranchir des contraintes de temps ou d'énergie auxquelles sont confrontées d'autres espèces de fourmis dans le cadre de leurs approvisionnements ; ce qui pourrait ainsi expliquer leur statut de principal ravageur de culture en Amérique du Sud.

Références bibliographiques

- Abril, A. B. & Bucher, E. H. 2002: Evidence that the fungus cultured by leaf-cutting ants does not metabolize cellulose. *Ecology Letters* 5, 325-328.
- Abril, A. B. & Bucher, E. H. 2004: Nutritional sources of the fungus cultured by leaf-cutting ants. *Applied Soil Ecology* 26, 243-247.
- Acosta, F. J., Lopez, F. & Serrano, J. M. 1993: Branching angles of ant trunk trails as an optimization cue. *Journal of Theoretical Biology* 160, 297-310.
- Addressi, E., Mancini, A., Crescimbene, L., Ariely, D. & Visalberghi, E. 2010: How to spend a token? Trade-offs between food variety and food preference in tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Behavioural Processes* 83, 267-275.
- Anderson, C., Boomsma, J. J. & Bartholdi, J. J. 2002: Task partitioning in insect societies: bucket brigades. *Insectes Sociaux* 49, 171-180.
- Anderson, C. & McShea, D. W. 2001: Intermediate-level parts in insect societies: adaptive structures that ants build away from the nest. *Insectes Sociaux* 48, 291-301.
- Anderson, C. & Ratnieks, F. L. W. 1999: Task partitioning in insect societies. I. Effect of colony size on queueing delay and colony ergonomic efficiency. *American Naturalist* 154, 521-535.
- Angilletta, M. J., Niewiarowski, P. H. & Navas, C. A. 2002: The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* 27, 249-268.
- Angilletta, M. J., Wilson, R. S., Niehaus, A. C., Sears, M. W., Navas, C. A. & Ribeiro, P. L. 2007: Urban Physiology: City Ants Possess High Heat Tolerance. *PloS ONE* 2.
- Arganda, S., Nicolis, S. C., Perochain, A., Péchabadens, C., Latil, G. & Dussutour, A. In press: Collective choice in ants: The role of protein and carbohydrates ratios. *Journal of Insect Physiology*.
- Aron, S., Beckers, R., Deneubourg, J. L. & Pasteels, J. M. 1993: Memory and chemical communication in the orientation of 2 mass-recruiting ant species. *Insectes Sociaux* 40, 369-380.

- Aron, S., Pasteels, J. M. & Deneubourg, J. L. 1989: Trail-laying behavior during exploratory recruitment in the argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Biology of Behaviour* 14, 207-217.
- Baader, A. P. 1996: The significance of visual landmarks for navigation of the giant tropical ant, *Paraponera clavata* (Formicidae, Ponerinae). *Insectes Sociaux* 43, 435-450.
- Bacci, M., Bueno, O. C., Rodrigues, A., Pagnocca, F. C., Somera, A. F. & Silva, A. 2013: A metabolic pathway assembled by enzyme selection may support herbivory of leaf-cutter ants on plant starch. *Journal of Insect Physiology* 59, 525-531.
- Banks, A. N. & Srygley, R. B. 2003: Orientation by magnetic field in leaf-cutter ants, *Atta colombica* (Hymenoptera : Formicidae). *Ethology* 109, 835-846.
- Bass, M. & Cherrett, J. M. 1995: Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. *Physiological Entomology* 20, 1-6.
- Bates, G. H. 1950: Track making by man and domestic animals. *Journal of Animal Ecology* 19, 21-28.
- Batschelet, E. 1981: *Circular statistics in biology*. London New York Toronto Sydney San Francisco: Academic Press.
- Beckers, R., Deneubourg, J. L. & Goss, S. 1992: Trails and u-turns in the selection of a path by the ant *Lasius niger*. *Journal of Theoretical Biology* 159, 397-415.
- Beckers, R., Deneubourg, J. L. & Goss, S. 1993: Modulation of trail laying in the ant *Lasius niger* (hymenoptera, formicidae) and its role in the collective selection of a food source. *Journal of Insect Behavior* 6, 751-759.
- Beckers, R., Goss, S., Deneubourg, J. L. & Pasteels, J. M. 1989: Colony size, communication and ant foraging strategy. *Psyche* 96, 239-256.
- Behmer, S. T. 2009a: Animal Behaviour: Feeding the Superorganism. *Current Biology* 19, R366-R368.
- Behmer, S. T. 2009b: Insect herbivore nutrient regulation. *Annual Review of Entomology* 54, 165-187.

- Bell, T. M. & Sotka, E. E. 2012: Local adaptation in adult feeding preference and juvenile performance in the generalist herbivore *Idotea balthica*. *Oecologia* 170, 383-393.
- Berish, C. W. 1986: Leaf-cutting ants (*Atta cephalotes*) select nitrogen-rich forage. *American Midland Naturalist* 115, 268-276.
- Bernadou, A. & Fourcassié, V. 2008: Does substrate coarseness matter for foraging ants? An experiment with *Lasius niger* (Hymenoptera; Formicidae). *Journal of Insect Physiology* 54, 534-542.
- Beverly, B. D., McLendon, H., Nacu, S., Holmes, S. & Gordon, D. M. 2009: How site fidelity leads to individual differences in the foraging activity of harvester ants. *Behavioral Ecology* 20, 633-638.
- Bingman, V. P. & Cheng, K. 2005: Mechanisms of animal global navigation: comparative perspectives and enduring challenges. *Ethology Ecology & Evolution* 17, 295-318.
- Birch, L. L. 1999: Development of food preferences. *Annual Review of Nutrition* 19, 41-62.
- Blake, S. & Inkamba-Nkulu, C. 2004: Fruit, minerals, and forest elephant trails: do all roads lead to Rome? *Biotropica* 36, 392-401.
- Bolek, S., Wittlinger, M. & Wolf, H. 2012: What counts for ants? How return behaviour and food search of *Cataglyphis* ants are modified by variations in food quantity and experience. *Journal of Experimental Biology* 215, 3218-3222.
- Bollazzi, M., Forti, L. C. & Roces, F. 2012: Ventilation of the giant nests of *Atta* leaf-cutting ants: does underground circulating air enter the fungus chambers? *Insectes Sociaux* 59, 487-498.
- Bollazzi, M. & Roces, F. 2010a: Control of nest water losses through building behavior in leaf-cutting ants (*Acromyrmex heyeri*). *Insectes Sociaux* 57, 267-273.
- Bollazzi, M. & Roces, F. 2010b: Leaf-cutting ant workers (*Acromyrmex heyeri*) trade off nest thermoregulation for humidity control. *Journal of Ethology* 28, 399-403.
- Bollazzi, M. & Roces, F. 2011: Information needs at the beginning of foraging: grass-cutting ants trade off load size for a faster return to the nest. *PLoS ONE* 6.

- Bowers, M. A. & Porter, S. D. 1981: Effect of foraging distance on water-content of substrates harvested by *Atta columbica* (guerin). *Ecology* 62, 273-275.
- Bragança, M. A. L., Tonhasca, A. & Della Lucia, T. M. C. 1998: Reduction in the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* caused by the phorid *Neodohrniphora* sp. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89, 305-311.
- Breed, M. D., Bowden, R. M., Garry, M. F. & Weicker, A. L. 1996: Giving-up time variation in response to differences in nectar volume and concentration in the giant tropical ant, *Paraponera clavata* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior* 9, 659-672.
- Bruce, A. I. & Burd, M. 2012: Allometric scaling of foraging rate with trail dimensions in leaf-cutting ants. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 279, 2442-2447.
- Buhl, J., Hicks, K., Miller, E., Persey, S., Alinvi, O. & Sumpter, D. 2009: Shape and efficiency of wood ant foraging networks. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63, 451-460.
- Burd, M. 1995: Variable load size ant size matching in leaf-cutting ants, *Atta colombica* (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Insect Behavior* 8, 715-722.
- Burd, M. 1996a: Foraging performance by *Atta colombica*, a leaf-cutting ant. *American Naturalist* 148, 597-612.
- Burd, M. 1996b: Server system and queuing models of leaf harvesting by leaf-cutting ants. *American Naturalist* 148, 613-629.
- Burd, M. 2000a: Body size effects on locomotion and load carriage in the highly polymorphic leaf-cutting ants *Atta colombica* and *Atta cephalotes*. *Behavioral Ecology* 11, 125-131.
- Burd, M. 2000b: Foraging behaviour of *Atta cephalotes* (leaf-cutting ants): an examination of two predictions for load selection. *Animal Behaviour* 60, 781-788.
- Burd, M. 2006: Ecological consequences of traffic organisation in ant societies. *Physica a-Statistical Mechanics and Its Applications* 372, 124-131.

- Burd, M. & Aranwela, N. 2003: Head-on encounter rates and walking speed of foragers in leaf-cutting ant traffic. *Insectes Sociaux* 50, 3-8.
- Burd, M., Archer, D., Aranwela, N. & Stradling, D. J. 2002: Traffic dynamics of the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes*. *American Naturalist* 159, 283-293.
- Burd, M. & Howard, J. J. 2005a: Central-place foraging continues beyond the nest entrance: the underground performance of leaf-cutting ants. *Animal Behaviour* 70, 737-744.
- Burd, M. & Howard, J. J. 2005b: Global optimization from suboptimal parts: foraging *sensu lato* by leaf-cutting ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59, 234-242.
- Burd, M. & Howard, J. J. 2008: Optimality in a partitioned task performed by social insects. *Biology Letters* 4, 627-629.
- Camargo, R. S., Forti, L. C., de Matos, C. A. O., Lopes, J. F. & Andrade, A. P. P. 2004: Physical resistance as a criterion in the selection of foraging material by *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel, 1911 (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology* 128, 329-331.
- Camargo, R. S., Forti, L. C., Lopes, J. F. S. & de Matos, C. A. O. 2008: Growth of populations and the fungus garden of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae) response to foraged substrates. *Sociobiology* 52, 633-643.
- Cammaerts, M. C. & Cammaerts, R. 1996: Area marking in the ant *Pheidole pallidula* (Myrmicinae). *Behavioural Processes* 37, 21-30.
- Cammaerts, R. & Cammaerts, M. C. 1987: Nest topology, nestmate recognition, territorial marking and homing in the ant *Manica rubida* (hymenoptera, formicidae). *Biology of Behaviour* 12, 65-81.
- Cassill, D. 2003: Rules of supply and demand regulate recruitment to food in an ant society. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 54, 441-450.
- Cerdá, X. 2001: Behavioural and physiological traits to thermal stress tolerance in two Spanish desert ants. *Etologia* 9, 15-57.

- Cerdá, X. & Retana, J. 1997: Links between worker polymorphism and thermal biology in a thermophilic ant species. *Oikos* 78, 467-474.
- Cerdá, X. & Retana, J. 2000: Alternative strategies by thermophilic ants to cope with extreme heat: individual versus colony level traits. *Oikos* 89, 155-163.
- Chapman, R. F. & Boer, G. D. 1995: *Regulatory mechanisms in insect feeding*, Springer ed.
- Cherrett, J. M. 1968: Foraging behaviour of *Atta cephalotes* (L) (Hymenoptera Formicidae). I. Foraging pattern and plant species attacked in tropical rain forest. *Journal of Animal Ecology* 37, 387-&.
- Cherrett, J. M. 1972: Some factors involved in selection of vegetable substrate by *Atta cephalotes* (L) (Hymenoptera Formicidae) in tropical rainforest. *Journal of Animal Ecology* 41, 647-&.
- Chown, S. L., Addo-Bediako, A. & Gaston, K. J. 2002: Physiological variation in insects: large-scale patterns and their implications. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 131, 587-602.
- Chown, S. L. & Nicolson, S. W. 2004: *Insect Physiological Ecology: Mechanisms and Patterns*. OUP Oxford.
- Chown, S. L., Sorensen, J. G. & Terblanche, J. S. 2011: Water loss in insects: an environmental change perspective. *Journal of Insect Physiology* 57, 1070-1084.
- Clark, E. 2006: Dynamic matching of forager size to resources in the continuously polymorphic leaf-cutter ant, *Atta colombica* (Hymenoptera, Formicidae). *Ecological Entomology* 31, 629-635.
- Clay, N. A., Bauer, M., Solis, M. & Yanoviak, S. P. 2010: Arboreal substrates influence foraging in tropical ants. *Ecological Entomology* 35, 417-423.
- Clemencet, J., Cournault, L., Odent, A. & Doums, C. 2010: Worker thermal tolerance in the thermophilic ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux* 57, 11-15.

- Collett, T. S., Graham, P. & Durier, V. 2003: Route learning by insects. *Current Opinion in Neurobiology* 13, 718-725.
- Collignon, B. & Detrain, C. 2010: Distributed leadership and adaptive decision-making in the ant *Tetramorium caespitum*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 277, 1267-1273.
- Constant, N., Santorelli, L. A., Lopes, J. F. S. & Hughes, W. O. H. 2012: The effects of genotype, caste, and age on foraging performance in leaf-cutting ants. *Behavioral Ecology* 23, 1284-1288.
- Correa, M. M., Silva, P. S. D., Wirth, R., Tabarelli, M. & Leal, I. R. 2010: How leaf-cutting ants impact forests: drastic nest effects on light environment and plant assemblages. *Oecologia* 162, 103-115.
- Couzin, I. D. 2009: Collective cognition in animal groups. *Trends in Cognitive Sciences* 13, 36-43.
- Couzin, I. D. & Franks, N. R. 2003: Self-organized lane formation and optimized traffic flow in army ants. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 270, 139-146.
- Czaczkes, T. J., Grüter, C., Ellis, L., Wood, E. & Ratnieks, F. L. W. 2013a: Ant foraging on complex trails: route learning and the role of trail pheromones in *Lasius niger*. *Journal of Experimental Biology* 216, 188-197.
- Czaczkes, T. J., Grüter, C., Jones, S. M. & Ratnieks, F. L. W. 2011: Synergy between social and private information increases foraging efficiency in ants. *Biology Letters* 7, 521-524.
- Czaczkes, T. J., Grüter, C. & Ratnieks, F. L. W. 2013b: Negative feedback in ants: crowding results in less trail pheromone deposition. *Journal of the Royal Society Interface* 10.
- Czarnoleski, M., Cooper, B. S., Kierat, J. & Angilletta, M. J. 2013: Flies developed small bodies and small cells in warm and in thermally fluctuating environments. *Journal of Experimental Biology* 216, 2896-2901.

- da Silva, P. S. D., Leal, I. R., Wirth, R. & Tabarelli, M. 2012: Spatial distribution and fruiting phenology of *Protium heptaphyllum* (Burseraceae) determine the design of the underground foraging system of *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology* 41, 257-262.
- Della Lucia, T. M. C., Gandra, L. C. & Guedes, R. N. C. 2014: Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Management Science* 70, 14-23.
- Deneubourg, J. L. & Goss, S. 1989: Collective patterns and decision-making. *Ethology Ecology & Evolution* 1, 295-311.
- Dethier, V. G. 1954: Evolution of feeding preferences in phytophagous insects. *Evolution* 8, 33-54.
- Detrain, C. & Deneubourg, J. L. 1997: Scavenging by *Pheidole pallidula*: A key for understanding decision-making systems in ants. *Animal Behaviour* 53, 537-547.
- Detrain, C. & Deneubourg, J. L. 2008: Collective decision-making and foraging patterns in ants and honeybees. In: *Advances in Insect Physiology*, Vol 35. (Simpson, S. J., ed). Academic Press Ltd-Elsevier Science Ltd, London. pp. 123-173.
- Detrain, C., Natan, C. & Deneubourg, J. L. 2001: The influence of the physical environment on the self-organised foraging patterns of ants. *Naturwissenschaften* 88, 171-174.
- Devigne, C. & Detrain, C. 2002: Collective exploration and area marking in the ant *Lasius niger*. *Insectes Sociaux* 49, 357-362.
- Devigne, C. & Detrain, C. 2006: How does food distance influence foraging in the ant *Lasius niger*: the importance of home-range marking. *Insectes Sociaux* 53, 46-55.
- Dillon, M. E., Wang, G., Garrity, P. A. & Huey, R. B. 2009: Thermal preference in *Drosophila*. *Journal of Thermal Biology* 34, 109-119.
- Dussutour, A., Beshers, S., Deneubourg, J. L. & Fourcassié, V. 2007: Crowding increases foraging efficiency in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Insectes Sociaux* 54, 158-165.

- Dussutour, A., Beshers, S., Deneubourg, J. L. & Fourcassié, V. 2009a: Priority rules govern the organization of traffic on foraging trails under crowding conditions in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Journal of Experimental Biology* 212, 499-505.
- Dussutour, A., Deneubourg, J. L., Beshers, S. & Fourcassié, V. 2009b: Individual and collective problem-solving in a foraging context in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Animal Cognition* 12, 21-30.
- Dussutour, A., Deneubourg, J. L. & Fourcassié, V. 2005: Temporal organization of bi-directional traffic in the ant *Lasius niger* (L.). *Journal of Experimental Biology* 208, 2903-2912.
- Dussutour, A., Fourcassié, V., Helbing, D. & Deneubourg, J. L. 2004: Optimal traffic organization in ants under crowded conditions. *Nature* 428, 70-73.
- Dussutour, A. & Simpson, S. J. 2008: Carbohydrate regulation in relation to colony growth in ants. *Journal of Experimental Biology* 211, 2224-2232.
- Dussutour, A. & Simpson, S. J. 2009: Communal nutrition in ants. *Current Biology* 19, 740-744.
- Dussutour, A. & Simpson, S. J. 2012: Ant workers die young and colonies collapse when fed a high-protein diet. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 279, 2402-2408.
- Elizalde, L. & Farji-Berner, A. 2012: To be or not to be faithful: flexible fidelity to foraging trails in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis*. *Ecological Entomology* 37, 370-376.
- Erthal, M. & Tonhasca, A. 2000: Biology and oviposition behavior of the phorid *Apocephalus attophilus* and the response of its host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 95, 71-75.
- Estrada, C., Wcislo, W. T. & Van Bael, S. A. 2013: Symbiotic fungi alter plant chemistry that discourages leaf-cutting ants. *New Phytologist* 198, 241-251.
- Evison, S. E. F., Hart, A. G. & Jackson, D. E. 2008a: Minor workers have a major role in the maintenance of leafcutter ant pheromone trails. *Animal Behaviour* 75, 963-969.

- Evison, S. E. F., Petchey, O. L., Beckerman, A. P. & Ratnieks, F. L. W. 2008b: Combined use of pheromone trails and visual landmarks by the common garden ant *Lasius niger*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63, 261-267.
- Evison, S. E. F. & Ratnieks, F. L. W. 2007: New role for majors in *Atta* leafcutter ants. *Ecological Entomology* 32, 451-454.
- Farji-Brener, A. G. 1993: Influence of seasonality on the foraging rhythms of *Atta laevigata* (hymenoptera, formicidae) in a tropical savanna. *Revista de Biologia Tropical* 41, 897-899.
- Farji-Brener, A. G. & Silva, J. F. 1995: Leaf-cutting ant nests and soil fertility in a well-drained savanna in western Venezuela. *Biotropica* 27, 250-254.
- Farji-Brener, A. G. & Silva, J. F. 1996: Leaf-cutter ants' (*Atta laevigata*) aid to the establishment success of *Tapirira velutinifolia* (Anacardiaceae) seedlings in a parkland savanna. *Journal of Tropical Ecology* 12, 163-168.
- Farji-Brener, A. G., Barrantes, G., Laverde, O., Fierro-Calderon, K., Bascope, F. & Lopez, A. 2007: Fallen branches as part of leaf-cutting ant trails: their role in resource discovery and leaf transport rates in *Atta cephalotes*. *Biotropica* 39, 211-215.
- Farji-Brener, A. G., Amador-Vargas, S., Chinchilla, F., Escobar, S., Cabrera, S., Herrera, M. I. & Sandoval, C. 2010: Information transfer in head-on encounters between leaf-cutting ant workers: food, trail condition or orientation cues? *Animal Behaviour* 79, 343-349.
- Farji-Brener, A. G., Chinchilla, F. A., Rifkin, S., Cuervo, A. M. S., Triana, E., Quiroga, V. & Giraldo, P. 2011: The 'truck-driver' effect in leaf-cutting ants: how individual load influences the walking speed of nest-mates. *Physiological Entomology* 36, 128-134.
- Farji-Brener, A. G. & Sierra, C. 1998: The role of trunk trails in the scouting activity of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Ecoscience* 5, 271-274.
- Fewell, J. 1988a: Variation in foraging patterns of the western harvester ant, *Pogonomyrmex occidentalis*, in relation to variation in habitat structure. In: *Interindividual Behavioral Variability in Social Insects*. (Jeanne, R., ed). pp. 257-282, Boulder, Colorado.

- Fewell, J. H. 1988b: Energetic and time costs of foraging in harvester ants, *Pogonomyrmex occidentalis*. Behavioral Ecology and Sociobiology 22, 401-408.
- Fourcassié, V., Dahbi, A. & Cerda, X. 2000: Orientation and navigation during adult transport between nests in the ant *Cataglyphis iberica*. Naturwissenschaften 87, 355-359.
- Fourcassié, V. & Deneubourg, J. L. 1994: The dynamics of collective exploration and trail-formation in *Monomorium pharaonis* - experiments and model. Physiological Entomology 19, 291-300.
- Fourcassié, V., Dussutour, A. & Deneubourg, J. L. 2010: Ant traffic rules. Journal of Experimental Biology 213, 2357-2363.
- Fowler, H. G. 1978: Foraging trails of leaf-cutting ants. Journal of the New York Entomological Society 86, 132-136.
- Fowler, H. G. & Stiles, E. 1980: Conservative resource management by leaf-cutting ants? The role of foraging territories and trails, and environmental patchiness. Sociobiology 5, 25-41.
- Funk, J. L., Glenwinkel, L. A. & Sack, L. 2013: Differential allocation to photosynthetic and non-photosynthetic nitrogen fractions among native and invasive species. PloS ONE 8.
- Galef, B. G. 2012: A case study in behavioral analysis, synthesis and attention to detail: social learning of food preferences. Behavioural Brain Research 231, 266-271.
- Galef, B. G. & Whiskin, E. E. 2003: Preference for novel flavors in adult Norway rats (*Rattus norvegicus*). Journal of Comparative Psychology 117, 96-100.
- Galef, B. G. & Whiskin, E. E. 2005: Differences between golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) and Norway rats (*Rattus norvegicus*) in preference for the sole diet that they are eating. Journal of Comparative Psychology 119, 8-13.
- Gamboa, G. J. 1975: Foraging and leaf-cutting of desert gardening ant *Acromyrmex versicolor versicolor* (pergande) (hymenoptera-formicidae). Oecologia 20, 103-110.

- Gehring, W. J. & Wehner, R. 1995: Heat shock protein synthesis and thermotolerance in *Cataglyphis*, an ant from the Sahara desert. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, 2994-2998.
- Gil, M. & De Marco, R. J. 2010: Decoding information in the honeybee dance: revisiting the tactile hypothesis. *Animal Behaviour* 80, 887-894.
- Gordon, D. M., Holmes, S. & Nacu, S. 2008: The short-term regulation of foraging in harvester ants. *Behavioral Ecology* 19, 217-222.
- Gordon, D. M., Paul, R. E. & Thorpe, K. 1993: What is the function of encounter patterns in ant colonies. *Animal Behaviour* 45, 1083-1100.
- Goss, S., Aron, S., Deneubourg, J. L. & Pasteels, J. M. 1989: Self-organized shortcuts in the argentine ant. *Naturwissenschaften* 76, 579-581.
- Goyret, J. & Farina, W. M. 2003: Descriptive study of antennation during trophallactic unloading contacts in honeybees *Apis mellifera carnica*. *Insectes Sociaux* 50, 274-276.
- Grasso, D. A., Mori, A. & Le Moli, F. 1999: Recruitment and trail communication in two species of *Messor* ants (Hymenoptera, Formicidae). *Italian Journal of Zoology* 66, 373-378.
- Grasso, D. A., Ugolini, A., Visicchio, R. & Le Moli, F. 1997: Orientation of *Polyergus rufescens* (Hymenoptera, Formicidae) during slave-making raids. *Animal Behaviour* 54, 1425-1438.
- Greene, M. J. & Gordon, D. M. 2007a: How patrollers set foraging direction in harvester ants. *American Naturalist* 170, 943-948.
- Greene, M. J. & Gordon, D. M. 2007b: Interaction rate informs harvester ant task decisions. *Behavioral Ecology* 18, 451-455.
- Greene, M. J., Pinter-Wollman, N. & Gordon, D. M. 2013: Interactions with combined chemical cues inform harvester ant foragers' decisions to leave the nest in search of food. *PLoS ONE* 8.

- Griffiths, H. M. & Hughes, W. O. H. 2010: Hitchhiking and the removal of microbial contaminants by the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Ecological Entomology* 35, 529-537.
- Grüter, C., Czaczkes, T. J. & Ratnieks, F. L. W. 2011: Decision making in ant foragers (*Lasius niger*) facing conflicting private and social information. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65, 141-148.
- Hart, A. G., Anderson, C. & Ratnieks, F. L. W. 2002: Task partitioning in leafcutting ants. *Acta Ethologica* 5, 1-11.
- Hart, A. G. & Ratnieks, F. L. W. 2001: Leaf caching in the leafcutting ant *Atta colombica*: organizational shift, task partitioning and making the best of a bad job. *Animal Behaviour* 62, 227-234.
- Herz, H., Hölldobler, B. & Roces, F. 2008: Delayed rejection in a leaf-cutting ant after foraging on plants unsuitable for the symbiotic fungus. *Behavioral Ecology* 19, 575-582.
- Hölldobler, B. 1976: Recruitment behavior, home range orientation and territoriality in harvester ants, *Pogonomyrmex*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 1, 3-44.
- Hölldobler, B. 1999: Multimodal signals in ant communication. *Journal of Comparative Physiology A-Sensory Neural and Behavioral Physiology* 184, 129-141.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. 1990: *The Ants*. Belknap Press of Harvard University Press.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. 2010: *The Leafcutter Ants: Civilization by Instinct*. W. W. Norton.
- Holt, N. C. & Askew, G. N. 2012: Locomotion on a slope in leaf-cutter ants: metabolic energy use, behavioural adaptations and the implications for route selection on hilly terrain. *Journal of Experimental Biology* 215, 2545-2550.
- Hood, W. G. & Tschinkel, W. R. 1990: Desiccation resistance in arboreal and terrestrial ants. *Physiological Entomology* 15, 23-35.

- Hothorn, T. B., F and Westfall, P. 2008: Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal* 50, 346-363.
- Howard, J. J. 1987: Leaf cutting ant diet selection - The role of nutrients, water, and secondary chemistry. *Ecology* 68, 503-515.
- Howard, J. J. 1988: Leaf cutting ant diet selection - relative influence of leaf chemistry and physical features. *Ecology* 69, 250-260.
- Howard, J. J. 1990: Infidelity of leaf cutting ants to host plants - Ressource heterogeneity or defense induction. *Oecologia* 82, 394-401.
- Howard, J. J. 2001: Costs of trail construction and maintenance in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 49, 348-356.
- Howard, J. J., Cazin, J. & Wiemer, D. F. 1988: Toxicity of terpenoid deterrents to the leafcutting ant *Atta cephalotes* and its mutualistic fungus. *Journal of Chemical Ecology* 14, 59-69.
- Howard, J. J., Henneman, M. L., Cronin, G., Fox, J. A. & Hormiga, G. 1996: Conditioning of scouts and recruits during foraging by a leaf-cutting ant, *Atta colombica*. *Animal Behaviour* 52, 299-306.
- Hubbell, S. P., Howard, J. J. & Wiemer, D. F. 1984: Chemical leaf repellency to an Attine ant - Seasonal distribution among potential host plant species. *Ecology* 65, 1067-1076.
- Hubbell, S. P., Johnson, L. K., Stanislav, E., Wilson, B. & Fowler, H. 1980: Foraging by bucket-brigade in leaf-cutter ants. *Biotropica* 12, 210-213.
- Hubbell, S. P., Wiemer, D. F. & Adejare, A. 1983: An anti-fungal terpenoid defends a neotropical tree (*Hymenaea*) against attack by fungus-growing ants (*Atta*). *Oecologia* 60, 321-327.
- Hughes, W. O. H. & Boomsma, J. J. 2007: Genetic polymorphism in leaf-cutting ants is phenotypically plastic. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 274, 1625-1630.

- Hughes, W. O. H. & Goulson, D. 2001: Polyethism and the importance of context in the alarm reaction of the grass-cutting ant, *Atta capiguara*. Behavioral Ecology and Sociobiology 49, 503-508.
- Hughes, W. O. H., Sumner, S., Van Borm, S. & Boomsma, J. J. 2003: Worker caste polymorphism has a genetic basis in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 100, 9394-9397.
- Hurlbert, A. H., Ballantyne, F. & Powell, S. 2008: Shaking a leg and hot to trot: the effects of body size and temperature on running speed in ants. Ecological Entomology 33, 144-154.
- Jackson, D. E. & Châline, N. 2007: Modulation of pheromone trail strength with food quality in Pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis*. Animal Behaviour 74, 463-470.
- Jackson, D. E., Holcombe, M. & Ratnieks, F. L. W. 2004: Trail geometry gives polarity to ant foraging networks. Nature 432, 907-909.
- Jackson, D. E. & Ratnieks, F. L. W. 2006: Communication in ants. Current Biology 16, R570-R574.
- Jackson, R. V., Kollmann, J., Grubb, P. J. & Bee, J. N. 1999: Insect herbivory on European tall-shrub species: the need to distinguish leaves before and after unfolding or unrolling, and the advantage of longitudinal sampling. Oikos 87, 561-570.
- Jaffé, K. & Howse, P. E. 1979: Mass recruitment system of the leaf cutting ant *Atta cephalotes* (L). Animal Behaviour 27, 930-939.
- Jaffé, K. & Puche, H. 1984: Colony-specific territorial marking with the metapleural gland secretion in the ant *Solenopsis geminata* (fabr). Journal of Insect Physiology 30, 265-270.
- Jayatilaka, P., Narendra, A., Reid, S. F., Cooper, P. & Zeil, J. 2011: Different effects of temperature on foraging activity schedules in sympatric *Myrmecia* ants. Journal of Experimental Biology 214, 2730-2738.
- Jeanne, R. L. 1986: The evolution of the organisation of work in social insects. Monitore Zoologico Italiano-Italian Journal of Zoology 20, 119-133.

- Jeanson, R., Dussutour, A. & Fourcassié, V. 2012: Key factors for the emergence of collective decision in invertebrates. *Frontiers in neuroscience* 6, 121.
- Jeanson, R., Ratnieks, F. L. W. & Deneubourg, J. L. 2003: Pheromone trail decay rates on different substrates in the Pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis*. *Physiological Entomology* 28, 192-198.
- Jones, J. C. & Oldroyd, B. P. 2007: Nest thermoregulation in social insects. In: *Advances in Insect Physiology*, Vol 33. (Simpson, S. J., ed). Academic Press Ltd-Elsevier Science Ltd, London. pp. 153-191.
- Judd, T. M. 2005: The effects of water, season, and colony composition on foraging preferences of *Pheidole ceres* Hymenoptera : Formicidae. *Journal of Insect Behavior* 18, 781-803.
- Kaspari, M. 1993: Body size and microclimate use in neotropical granivorous ants. *Oecologia* 96, 500-507.
- Kaspari, M. & Weiser, M. D. 2000: Ant activity along moisture gradients in a neotropical forest. *Biotropica* 32, 703-711.
- Kay, A. D., Rostampour, S. & Sterner, R. W. 2006: Ant stoichiometry: elemental homeostasis in stage-structured colonies. *Functional Ecology* 20, 1037-1044.
- Kay, C. A. R. & Whitford, W. G. 1978: Critical thermal limits of desert honey ants - Possible ecological implications. *Physiological Zoology* 51, 206-213.
- Kitayama, K., Hay, J. D., Sousa-Souto, L., Ottoni, R. J. V. & de Aquino, P. D. U. 2010: Trichomes and *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae): a study of foraging behavior in the laboratory. *Sociobiology* 55, 107-116.
- Kleineidam, C. J., Ruchty, M., Casero-Montes, Z. A. & Roces, F. 2007: Thermal radiation as a learned orientation cue in leaf-cutting ants (*Atta vollenweideri*). *Journal of Insect Physiology* 53, 478-487.
- Knaden, M. & Wehner, R. 2005: Nest mark orientation in desert ants *Cataglyphis*: what does it do to the path integrator? *Animal Behaviour* 70, 1349-1354.

- Kost, C., de Oliveira, E. G., Knoch, T. A. & Wirth, R. 2005: Spatio-temporal permanence and plasticity of foraging trails in young and mature leaf-cutting ant colonies (*Atta* spp.). *Journal of Tropical Ecology* 21, 677-688.
- Kost, C., Tremmel, M. & Wirth, R. 2011: Do leaf cutting ants cut undetected? Testing the effect of ant-induced plant defences on foraging decisions in *Atta colombica*. *PloS ONE* 6.
- Le Breton, J. & Fourcassié, V. 2004: Information transfer during recruitment in the ant *Lasius niger* L. (Hymenoptera : Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 55, 242-250.
- Leadbeater, E. & Chittka, L. 2009: Social information use in foraging insects. In: *Food exploitation by social insects - Ecological, behavioral and theoretical approaches*, pp. 135-146, CRC press, Taylor & Francis.
- Lenoir, L. 2002: Can wood ants distinguish between good and bad food patches on the forest floor? *European Journal of Soil Biology* 38, 97-102.
- Lewis, O. T., Martin, M. & Czaczkes, T. J. 2008: Effects of trail gradient on leaf tissue transport and load size selection in leaf-cutter ants. *Behavioral Ecology* 19, 805-809.
- Lewis, T., Pollard, G. V. & Dibley, G. C. 1974: Rhythmic foraging in leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L) (Formicidae-Attini). *Journal of Animal Ecology* 43, 129-141.
- Licht, H., Schiott, M., Rogowska-Wrzesinska, A., Nygaard, S., Roepstorff, P. & Boomsma, J. J. 2013: Laccase detoxification mediates the nutritional alliance between leaf-cutting ants and fungus-garden symbionts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 583-587.
- Licht, H. H. D. & Boomsma, J. J. 2010: Forage collection, substrate preparation, and diet composition in fungus-growing ants. *Ecological Entomology* 35, 259-269.
- Lighton, J. R. B., Quinlan, M. C. & Feener, D. H. 1994: Is bigger better - water balance in the polymorphic desert harvester ant *Messor pergandei*. *Physiological Entomology* 19, 325-334.

- Loeck, A. E., Pierobom, C. R., Gusmao, L. G. & Afonso, A. P. 2004: Growth of symbiont fungi of some higher attine ants in mineral medium. *Ciencia Rural* 34, 79-82.
- Lopes, J. F. S., Orti, L. C. F. & Camargo, R. S. 2004: The influence of the scout upon the decision-making process of recruited workers in three *Acromyrmex* species (Formicidae : Attini). *Behavioural Processes* 67, 471-476.
- Lopez, F., Acosta, F. J. & Serrano, J. M. 1993: Responses of the trunk routes of a harvester ant to plant-density *Oecologia* 93, 109-113.
- Loreto, R. G., Hart, A. G., Pereira, T., Freitas, M. L. R., Hughes, D. P. & Elliot, S. L. 2013: Foraging ants trade off further for faster: use of natural bridges and trunk trail permanency in carpenter ants. *Naturwissenschaften* 100, 957-963.
- Lugo, A. E., Farnwort, .E.G., Pool, D., Jerez, P. & Kaufman, G. 1973: Impact of leaf cutter ant *Atta colombica* on energy flow of a tropical wet forest. *Ecology* 54, 1292-1301.
- MacArthur, R. H. & Pianka E. R. 1966: On optimal use of a patchy environment. *American Naturalist* 100, 603-609.
- Mailleux, A. C., Buffin, A., Detrain, C. & Deneubourg, J. L. 2011: Recruitment in starved nests: the role of direct and indirect interactions between scouts and nestmates in the ant *Lasius niger*. *Insectes Sociaux* 58, 559-567.
- Mailleux, A. C., Deneubourg, J. L. & Detrain, C. 2000: How do ants assess food volume? *Animal Behaviour* 59, 1061-1069.
- Mailleux, A. C., Deneubourg, J. L. & Detrain, C. 2003: Regulation of ants' foraging to resource productivity. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 270, 1609-1616.
- Mailleux, A. C., Devigne, C., Deneubourg, J. L. & Detrain, C. 2010: Impact of starvation on *Lasius niger*' exploration. *Ethology* 116, 248-256.
- Martin, M. M. & Martin, J. S. 1970: Biochemical basis for symbiosis between ant, *Atta colombica tonsipes*, and its food fungus. *Journal of Insect Physiology* 16, 109-119.

- Mayhew, P. J. 1997: Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79, 417-428.
- Mc Cabe, S., Farina, W. M. & Josens, R. B. 2006: Antennation of nectar-receivers encodes colony needs and food-source profitability in the ant *Camponotus mus*. *Insectes Sociaux* 53, 356-361.
- Meyer, S. T., Roces, F. & Wirth, R. 2006: Selecting the drought stressed: effects of plant stress on intraspecific and within-plant herbivory patterns of the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Functional Ecology* 20, 973-981.
- Milton, K. 1979: Factors influencing leaf choice by Howler monkeys - Test of some hypotheses of food selection by generalist herbivores. *American Naturalist* 114, 362-378.
- Mintzer, A. 1980: Simultaneous use of a foraging trail by 2 leafcutter ant species in the sonoran desert. *Journal of the New York Entomological Society* 88, 102-105.
- Miura, T. & Matsumoto, T. 1998: Open-air litter foraging in the nasute termite *Longipeditermes longipes* (Isoptera : Termitidae). *Journal of Insect Behavior* 11, 179-189.
- Moller, I. E., Licht, H., Harholt, J., Willats, W. G. T. & Boomsma, J. J. 2011: The dynamics of plant cell-wall polysaccharide decomposition in leaf-cutting ant fungus gardens. *PloS ONE* 6.
- Moreira, A. A., Forti, L. C., Andrade, A. P. P., Boaretto, M. A. C. & Lopes, J. F. S. 2004a: Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera : Formicidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 39, 109-116.
- Moreira, A. A., Forti, L. C., Boaretto, M. A. C., Andrade, A. P. P., Lopes, J. F. S. & Ramos, V. M. 2004b: External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera : Formicidae) nests. *Journal of Applied Entomology* 128, 204-211.

- Moreira, D. D. O., Bailez, A. M. V., Erthal, M., Bailez, O., Carrera, M. P. & Samuels, R. I. 2010: Resource allocation among worker castes of the leaf-cutting ants *Acromyrmex subterraneus subterraneus* through trophallaxis. *Journal of Insect Physiology* 56, 1665-1670.
- Moreira, D. D. O., Erthal, M., Carrera, M. P., Silva, C. P. & Samuels, R. I. 2006: Oral trophallaxis in adult leaf-cutting ants *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux* 53, 345-348.
- Morgan, E. D. 2009: Trail pheromones of ants. *Physiological Entomology* 34, 1-17.
- Moser, J. C. & Silverstein, R. M. 1967: Volatility of trail marking substance of town ant. *Nature* 215, 206-&.
- Moussaid, M., Helbing, D. & Theraulaz, G. 2011: How simple rules determine pedestrian behavior and crowd disasters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 6884-6888.
- Mundim, F. M., Costa, A. N. & Vasconcelos, H. L. 2009: Leaf nutrient content and host plant selection by leaf-cutter ants, *Atta laevigata*, in a Neotropical savanna. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 130, 47-54.
- Muscedere, M. L., Berglund, J. L. & Traniello, J. F. A. 2011: Polymorphism and division of labor during foraging cycles in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Formicidae; Attini). *Journal of Insect Behavior* 24, 94-105.
- Neto, J. D. R., Pinho, B. X., Meyer, S. T., Wirth, R. & Leal, I. R. 2012: Drought stress drives intraspecific choice of food plants by *Atta* leaf-cutting ants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144, 209-215.
- Nichols-Orians, C. 1991a: Condensed tannins, Attine ants, and the performance of a symbiotic fungus. *Journal of Chemical Ecology* 17, 1177-1195.
- Nichols-Orians, C. 1991b: Differential-effects of condensed and hydrolyzable tannin on polyphenol oxidase activity of Attine symbiotic fungus. *Journal of Chemical Ecology* 17, 1811-1819.

- Nichols-Orians, C. 1992: The acceptability of young and mature leaves to leaf-cutter ants varies with light environment. *Biotropica* 24, 211-214.
- Nichols-Orians, C. M. & Schultz, J. C. 1989: Leaf toughness affects leaf harvesting by the leaf cutter ant, *Atta cephalotes* (L)(Hymenoptera, Formicidae). *Biotropica* 21, 80-83.
- North, R. D., Jackson, C. W. & Howse, P. E. 1999: Communication between the fungus garden and workers of the leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa*, regarding choice of substrate for the fungus. *Physiological Entomology* 24, 127-133.
- Norton, V., Stevens-Wood, B. & Harris, W. E. 2014: Flexibility of individual load-mass selection in relation to foraging trail gradient in the leaf-cutter ant *Acromyrmex octospinosus*. *Journal of Insect Behavior* 27, 370-384.
- O'Donnell, S., Garcia-C, J. M., Beard, J., Chiwocha, T., Lewis, D., Liu, C., Phillips, H. & Williams, T. 2010: Leaf cutter ants (*Atta cephalotes*) harvest baits offering sodium chloride rewards. *Insectes Sociaux* 57, 205-208.
- Offord, C., Reda, K. & Mateevitsi, V. 2013: Context-dependent navigation in a collectively foraging species of ant, *Messor cephalotes*. *Insectes Sociaux* 60, 361-368.
- Orians, G. H. & Pearson, N. E. 1979: On the theory of central place foraging. In; *Analysis of Ecological Systems* (J. Horn, G. R. Stairs, and R. D. Mitchell, Eds.), pp. 155-177, Ohio State Press, Columbus.
- Orr, M. R. 1992: Parasitic flies (diptera, phoridae) influence foraging rhythms and caste division-of-labor in the leaf-cutter ant, *Atta cephalotes* (hymenoptera, formicidae) *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30, 395-402.
- Pinheiro J, B. D., DebRoy S, Sarkar D and R Core Team 2014: nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-117.
- Plowes, N. J. R., Johnson, R. A. & Hölldobler, B. 2013: Foraging behavior in the ant genus *Messor* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). *Myrmecological News* 18, 33-49.
- 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.

- Powell, S. & Clark, E. 2004: Combat between large derived societies: A subterranean army ant established as a predator of mature leaf-cutting ant colonies. *Insectes Sociaux* 51, 342-351.
- Prabhakar, B., Dektar, K. N. & Gordon, D. M. 2012: The regulation of ant colony foraging activity without spatial information. *PloS Computational Biology* 8.
- Quinet, Y., deBiseau, J. C. & Pasteels, J. M. 1997: Food recruitment as a component of the trunk-trail foraging behaviour of *Lasius fuliginosus* (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioural Processes* 40, 75-83.
- Quinet, Y. & Pasteels, J. M. 1996: Spatial specialization of the foragers and foraging strategy in *Lasius fuliginosus* (Latreille) (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux* 43, 333-346.
- Quinlan, R. J. & Cherrett, J. M. 1979: Role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L). *Ecological Entomology* 4, 151-160.
- R Development Core Team 2011: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org/>.
- Ratnieks, F. L. W. & Anderson, C. 1999: Task partitioning in insect societies. II. Use of queueing delay information in recruitment. *American Naturalist* 154, 536-548.
- Raubenheimer, D. & Simpson, S. J. 1999: Integrating nutrition: a geometrical approach. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 91, 67-82.
- Retana, J. & Cerdá, X. 1994: Worker size polymorphism conditioning size matching in 2 sympatric seed harvesting ants. *Oikos* 71, 261-266.
- Ribeiro, P. L. & Navas, C. A. 2008: Colony dehydration and water collection by specialized caste in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Journal of Insect Behavior* 21, 549-558.
- Ribeiro, P. L., Helene, A. F., Xavier, G., Navas, C. & Ribeiro, F. L. 2009: Ants can learn to forage on one-way trails. *PloS ONE* 4.

- Richard, F. J. & Errard, C. 2009: Hygienic behavior, liquid-foraging, and trophallaxis in the leaf-cutting ants, *Acromyrmex subterraneus* and *Acromyrmex octospinosus*. *Journal of Insect Science* 9.
- Richard, F. J., Mora, P., Errard, C. & Rouland, C. 2005: Digestive capacities of leaf-cutting ants and the contribution of their fungal cultivar to the degradation of plant material. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology* 175, 297-303.
- Ridley, P., Howse, P. E. & Jackson, C. W. 1996: Control of the behaviour of leaf-cutting ants by their 'symbiotic' fungus. *Experientia* 52, 631-635.
- Riveros, A. J., Esquivel, D. M. S., Wajnberg, E. & Srygley, R. B. 2014: Do leaf-cutter ants *Atta colombica* obtain their magnetic sensors from soil? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 68, 55-62.
- Riveros, A. J. & Srygley, R. B. 2008: Do leafcutter ants, *Atta colombica*, orient their path-integrated home vector with a magnetic compass? *Animal Behaviour* 75, 1273-1281.
- Robinson, G. E. & Page, R. E. 1988: Genetic determination of guarding and undertaking in honeybee colonies. *Nature* 333, 356-358.
- Roces, F. 1990: Leaf-cutting ants cut fragment sizes in relation to the distance from the nest. *Animal Behaviour* 40, 1181-1183.
- Roces, F. 1993: Both evaluation of resource quality and speed of recruited leaf-cutting ants (*Acromyrmex lundii*) depend on their motivational state. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 33, 183-189.
- Roces, F. 1994: Odor learning and decision-making during food collection in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lundii*. *Insectes Sociaux* 41, 235-239.
- Roces, F. 2002: Individual complexity and self-organization in foraging by leaf-cutting ants. *Biological Bulletin* 202, 306-313.
- Roces, F. & Hölldobler, B. 1994: Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta cephalotes*. *Oecologia* 97, 1-8.

- Roces, F. & Hölldobler, B. 1996: Use of stridulation in foraging leaf cutting ants: mechanical support during cutting or short range recruitment signal? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 39, 293-299.
- Roces, F. & Nuñez, J. A. 1993: Information about food quality influences load-size selection in recruited leaf-cutting ants. *Animal Behaviour* 45, 135-143.
- Roces, F., Tautz, J. & Hölldobler, B. 1993: Stridulation in leaf-cutting ants - short-range recruitment through plant-borne vibrations. *Naturwissenschaften* 80, 521-524.
- Rockwood, L. L. 1975: The effects of seasonality on foraging in two species of leaf-cutting ants (*Atta*) in Guanacaste province, Costa Rica. *Biotropica* 7, 176-193.
- Rockwood, L. L. 1976: Plant selection and foraging patterns in two species of leaf-cutting ants (*Atta*). *Ecology* 57, 48-61.
- Rockwood, L. L. 1977: Foraging patterns and plant selection in costarican leaf cutting ants. *Journal of the New York Entomological Society* 85, 222-233.
- Rockwood, L. L. & Hubbell, S. P. 1987: Host-plant selection, diet diversity, and optimal foraging in a tropical leafcutting ant. *Oecologia* 74, 55-61.
- Röschard, J. & Roces, F. 2002: The effect of load length, width and mass on transport rate in the grass-cutting ant *Atta vollenweideri*. *Oecologia* 131, 319-324.
- Röschard, J. & Roces, F. 2003: Cutters, carriers and transport chains: Distance-dependent foraging strategies in the grass-cutting ant *Atta vollenweideri*. *Insectes Sociaux* 50, 237-244.
- Röschard, J. & Roces, F. 2011: Sequential load transport in grass-cutting ants (*Atta vollenweideri*): maximization of plant delivery rate or improved information transfer? *Psyche*.
- Rosengren, R. 1971: Route fidelity, visual memory and recruitment behavior in foraging wood ants of the genus *Formica*. *Acta Zoologica Fennica* 133, 1-106.
- Rudolph, S. G. & Loudon, C. 1986: Load size selection by foraging leaf-cutter ants (*Atta cephalotes*). *Ecological Entomology* 11, 401-410.

- Salatino, A., Sugayama, R. L., Negri, G. & Vilegas, W. 1998: Effect of constituents of the foliar wax of *Didymopanax vinosum* on the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86, 261-266.
- Salo, O. & Rosengren, R. 2001: Memory of location and site recognition in the ant *Formica uralensis* (Hymenoptera : Formicidae). *Ethology* 107, 737-752.
- Salzemann, A. & Jaffé, K. 1990: On the territorial behavior of field colonies of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (hymenoptera, myrmicinae) *Journal of Insect Physiology* 36, 133-138.
- Salzemann, A. & Jaffé, K. 1991: Polyethism and nest-defense in the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (smith,f.). *Insectes Sociaux* 38, 149-159.
- Saverschek, N., Herz, H., Wagner, M. & Roces, F. 2010: Avoiding plants unsuitable for the symbiotic fungus: learning and long-term memory in leaf-cutting ants. *Animal Behaviour* 79, 689-698.
- Saverschek, N. & Roces, F. 2011: Foraging leafcutter ants: olfactory memory underlies delayed avoidance of plants unsuitable for the symbiotic fungus. *Animal Behaviour* 82, 453-458.
- Schafer, R. J., Holmes, S. & Gordon, D. M. 2006: Forager activation and food availability in harvester ants. *Animal Behaviour* 71, 815-822.
- Schatz, B., Lachaud, J. P. & Beugnon, G. 1997: Graded recruitment and hunting strategies linked to prey weight and size in the ponerine ant *Ectatomma ruidum*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 40, 337-349.
- Schofield, R. M. S., Emmett, K. D., Niedbala, J. C. & Nesson, M. H. 2011: Leaf-cutter ants with worn mandibles cut half as fast, spend twice the energy, and tend to carry instead of cut. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65, 969-982.
- Sclafani, A. 1995: How food preferences are learned - Laboratory-animal models. *Proceedings of the Nutrition Society* 54, 419-427.
- Scott, L. L. & Provenza, F. D. 1998: Variety of foods and flavors affects selection of foraging location by sheep. *Applied Animal Behaviour Science* 61, 113-122.

- Seal, J. N. & Tschinkel, W. R. 2007: Complexity in an obligate mutualism: do fungus-gardening ants know what makes their garden grow? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61, 1151-1160.
- Seidl, T. & Wehner, R. 2006: Visual and tactile learning of ground structures in desert ants. *Journal of Experimental Biology* 209, 3336-3344.
- Shepherd, J. D. 1982: Trunk trails and the searching strategy of a leaf-cutter ant, *Atta colombica*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 11, 77-84.
- Silva, A., Bacci, M., de Siqueira, C. G., Bueno, O. C., Pagnocca, F. C. & Hebling, M. J. A. 2003: Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. *Journal of Insect Physiology* 49, 307-313.
- Silva, A., Bacci, M., Pagnocca, F. C., Bueno, O. C. & Hebling, M. J. A. 2006: Production of polysaccharidases in different carbon sources by *Leucoagaricus gongylophorus* Moller (Singer), the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta sexdens linnaeus*. *Current Microbiology* 53, 68-71.
- Silva, P. S. D., Bieber, A. G. D., Knoch, T. A., Tabarelli, M., Leal, I. R. & Wirth, R. 2013: Foraging in highly dynamic environments: leaf-cutting ants adjust foraging trail networks to pioneer plant availability. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 147, 110-119.
- Simpson, S. J. & Raubenheimer, D. 1996: Feeding behaviour, sensory physiology and nutrient feedback: A unifying model. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80, 55-64.
- Simpson, S. J. & Raubenheimer, D. 2012: *The Nature of Nutrition: A Unifying Framework from Animal Adaptation to Human Obesity*. Princeton University Press.
- Sorensen, A. A., Busch, T. M. & Vinson, S. B. 1985: Control of food influx by temporal subcastes in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 17, 191-198.
- Sousa-Souto, L., Schoereder, J. H. & Schaefer, C. 2007: Leaf-cutting ants, seasonal burning and nutrient distribution in Cerrado vegetation. *Austral Ecology* 32, 758-765.

- Steck, K. 2012: Just follow your nose: homing by olfactory cues in ants. *Current Opinion in Neurobiology* 22, 231-235.
- Steck, K., Hansson, B. S. & Knaden, M. 2009: Smells like home: desert ants, *Cataglyphis fortis*, use olfactory landmarks to pinpoint the nest. *Frontiers in Zoology* 6.
- Stephens, D. W., Brown, J. S. & Ydenberg, R. C. 2007: *Foraging: Behavior and Ecology*. University of Chicago Press.
- Sternberg, L. D., Pinzon, M. C., Moreira, M. Z., Moutinho, P., Rojas, E. I. & Herre, E. A. 2007: Plants use macronutrients accumulated in leaf-cutting ant nests. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 274, 315-321.
- Stradling, D. J. 1978: Influence of size on foraging in ant, *Atta cephalotes*, and effect of some plant defence mechanisms. *Journal of Animal Ecology* 47, 173-188.
- Sunday, J. M., Bates, A. E. & Dulvy, N. K. 2011: Global analysis of thermal tolerance and latitude in ectotherms. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 278, 1823-1830.
- Thacker, R. W. 1996: Food choices of land hermit crabs (*Coenobita compressus* H. Milne Edwards) depend on past experience. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 199, 179-191.
- Therneau, T. 2012: coxme: Mixed Effects Cox Models. R package version 2.2-3. . <http://CRAN.R-project.org/package=coxme>.
- Tonhasca, A. & Bragança, M. A. L. 2000: Effect of leaf toughness on the susceptibility of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* to attacks of a phorid parasitoid. *Insectes Sociaux* 47, 220-222.
- Tonhasca, A., Bragança, M. A. L. & Erthal, M. 2001: Parasitism and biology of *Myrmosicarius grandicornis* (Diptera, Phoridae) in relationship to its host, the leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux* 48, 154-158.
- Topoff, H., Miranda, J., Droual, R. & Herrick, S. 1980: Behavioral ecology of mass recruitment in the army ant *Neivamyrmex nigrescens*. *Animal Behaviour* 28, 779-789.

- Torres-Contreras, H. & Vasquez, R. A. 2007: Spatial heterogeneity and nestmate encounters affect locomotion and foraging success in the ant *Dorymyrmex goetschi*. *Ethology* 113, 76-86.
- Traniello, J. F. A. 1989a: Chemical trail systems, orientation, and territorial interactions in the ant *Lasius neoniger*. *Journal of Insect Behavior* 2, 339-354.
- Traniello, J. F. A. 1989b: Foraging strategies of ants. *Annual Review of Entomology* 34, 191-210.
- Traniello, J. F. A. & Beshers, S. N. 1991: Maximization of foraging efficiency and resource defense by group retrieval in the ant *Formica schaufussi*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 29, 283-289.
- Tumlinson, J. H., Silverstein, R. M., Moser, J. C., Brownlee, R. G. & Ruth, J. M. . 1971: Identification of the trail pheromone of a leaf-cutting ant, *Atta texana*. *Nature* 234, 348-349.
- Vasconcelos, H. L. 1990: Foraging activity of two species of leaf-cutting ants (*Atta*) in a primary forest of the Central Amazon. *Insectes Sociaux* 37, 131-145.
- Vasconcelos, H. L. 2002: Variação espaço-temporal na atividade forrageira da saúva (*Atta laevigata*). *Acta Amazonica* 32, 141-154.
- Vasconcelos, H. L. & Casimiro, A. B. 1997: Influence of *Azteca alfari* ants on the exploitation of *Cecropia* trees by a leaf-cutting ant. *Biotropica* 29, 84-92.
- Vasconcelos, H. L. & Cherrett, J. M. 1996: The effect of wilting on the selection of leaves by the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78, 215-220.
- Verheggen, F. J., Diez, L., Sablon, L., Fischer, C., Bartram, S., Haubruge, E. & Detrain, C. 2012: Aphid alarm pheromone as a cue for ants to locate aphid partners. *PloS ONE* 7.
- Verza, S. S., Forti, L. C., Lopes, J. F. S., Camarg, R. S. & de Matos, C. A. O. 2007: Influence of physical and chemical factors during foraging and culture of the symbiont fungus in *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : Formicidae). *Insect Science* 14, 295-300.

- Vieira-Neto, E. H. M., Mundim, F. M. & Vasconcelos, H. L. 2006: Hitchhiking behaviour in leaf-cutter ants: an experimental evaluation of three hypotheses. *Insectes Sociaux* 53, 326-332.
- Vieira-Neto, E. H. M. & Vasconcelos, H. L. 2010: Developmental changes in factors limiting colony survival and growth of the leaf-cutter ant *Atta laevigata*. *Ecography* 33, 538-544.
- Vilela, E. F., Jaffé, K. & Howse, P. E. 1987: Orientation in leaf-cutting ants (Formicidae, Attini). *Animal Behaviour* 35, 1443-1453.
- Villalba, J. J. & Provenza, F. D. 1999: Effects of food structure and nutritional quality and animal nutritional state on intake behaviour and food preferences of sheep. *Applied Animal Behaviour Science* 63, 145-163.
- Waddington, S. J., Santorelli, L. A., Ryan, F. R. & Hughes, W. O. H. 2010: Genetic polyethism in leaf-cutting ants. *Behavioral Ecology* 21, 1165-1169.
- Waldbauer, G. 2001: *Millions of Monarchs, Bunches of Beetles - How Bugs Find Strength in Numbers*. Harvard University press, Cambridge.
- Weber, N. A. 1972: *Gardening Ants, the Attines*. American Philosophical Society.
- Wehner, R. 2003: Desert ant navigation: how miniature brains solve complex tasks. *Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology* 189, 579-588.
- Wehner, R., Marsh, A. C. & Wehner, S. 1992: Desert ants on a thermal tightrope. *Nature* 357, 586-587.
- Wehner, R. & Wehner, S. 1990: Insect navigation - use of maps or ariadnes thread? *Ethology Ecology & Evolution* 2, 27-48.
- Wetterer, J., Shafir, S., Morrison, L., Lips, K., Gilbert, G., Cipollini, M. & Blaney, C. 1992: On-trail and off-trail orientation in the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes* (l) (hymenoptera, formicidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 65, 96-98.

- Wetterer, J. K. 1990: Diel changes in forager size, activity, and load selectivity in a tropical leaf-cutting ant, *Atta cephalotes*. *Ecological Entomology* 15, 97-104.
- Wetterer, J. K. 1991: Allometry and the geometry of leaf-cutting in *Atta cephalotes*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 29, 347-351.
- Wetterer, J. K. 1994: Forager polymorphism, size-matching, and load delivery in the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes*. *Ecological Entomology* 19, 57-64.
- Wetterer, J. K. 1995: Forager size and ecology of *Acromyrmex coronatus* and other leaf-cutting ants in Costa Rica. *Oecologia* 104, 409-415.
- Whitehouse, M. E. A. & Jaffé, K. 1996: Ant wars: combat strategies, territory and nest defence in the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Animal Behaviour* 51, 1207-1217.
- Wilson, E. O. 1980a: Caste and division of labor in leaf-cutter ants (hymenoptera, formicidae, *Atta*) .1. The overall pattern in *Atta sexdens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 7, 143-156.
- Wilson, E. O. 1980b: Caste and division of labor in leaf-cutter ants (hymenoptera, formicidae, *Atta*) .2. The ergonomic optimization of leaf cutting. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 7, 157-165.
- Winston, M. L. 1991: *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press.
- Wirth, R. 2003: *Herbivory of Leaf-Cutting Ants: A Case Study on Atta Colombica in the Tropical Rainforest of Panama*. Springer.
- Wolf, H. & Wehner, R. 2005: Desert ants compensate for navigation uncertainty. *Journal of Experimental Biology* 208, 4223-4230.
- Wright, G. A., Lillvis, J. L., Bray, H. J. & Mustard, J. A. 2012: Physiological state influences the social interactions of two honeybee Nest Mates. *PloS ONE* 7.
- Wystrach, A. 2011: *Visual navigation in ants*, Thèse de doctorat Université Toulouse III
- Yackulic, C. B. & Lewis, O. T. 2007: Temporal variation in foraging activity and efficiency and the role of hitchhiking behaviour in the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 125, 125-134.

**Annexe - Comparative study of
resistance to heat in two species of
leaf-cutting ants**

Comparative study of resistance to heat in two species of leaf-cutting ants

S. Bouchebti · C. Jost · N. Caldato ·
L. C. Forti · V. Fourcassié

Received: 18 August 2014 / Revised: 8 October 2014 / Accepted: 7 November 2014 / Published online: 17 December 2014
© International Union for the Study of Social Insects (IUSSI) 2014

Abstract *Atta laevigata* and *Atta capiguara* are two species of leaf-cutting ants that are found in the pastures of Central Brazil and build huge underground nests linked to the outdoor environment by underground tunnels, which can reach several tens of meters and further extend through foraging trails to distant foraging grounds. The tunnels built by mature colonies of *A. capiguara* are usually longer and deeper than those built by mature colonies of *A. laevigata*. The physical trails are also shorter on average. We hypothesized that these differences could be related to differences in thermotolerance between the two species. To test this we collected ants on foraging trails and placed them individually in waterproof test tubes plunged in a thermostatic bath at 25 °C (control), 37 and 39 °C (test temperatures). The results showed that at both 37 and 39 °C, the survival time of *A. laevigata* was much more extended than that of *A. capiguara*. A possible explanation for the longer and deeper underground foraging tunnels, as well as the shorter foraging trails, built by *A. capiguara* may thus be their lower resistance to heat stress. The longer tunnels built by *A. capiguara* colonies may reduce the exposure to heat of

the foraging workers that commute between their nest and the foraging grounds or act as a thermal refuge in which the workers can find temporary protection against high outdoor temperatures.

Keywords Leaf-cutting ants · *Atta laevigata* · *Atta capiguara* · Longevity · Thermotolerance

Atta capiguara and *Atta laevigata* are two species of leaf-cutting ants that are found in the pastures of Central Brazil and build huge underground nests which consist for mature colonies of more than thousand chambers containing brood and fungus (Moreira et al., 2004; Bollazzi et al., 2012). These chambers are linked to the outdoor environment by underground tunnels that radiate from the nest and further extend through physical trails to distant foraging grounds (Moreira et al., 2004). Cement cast and subsequent excavation of these tunnels show that the tunnels built by mature colonies of *A. capiguara* are usually longer and deeper under the soil surface than those built by mature colonies of *A. laevigata* (Moreira et al., 2004; Bollazzi et al., 2012). The physical trails built by *A. capiguara* are also on average shorter than those built by *A. laevigata*. We hypothesized that the differences in tunnel architecture and physical trail length could be related to differences in thermotolerance between the two species. Long foraging tunnels and short foraging trails may reduce the duration of exposure of foraging workers to stressful outdoor temperatures when collecting vegetation far away from their nests, especially for workers that travel all the way from their nest to distant foraging grounds. The tunnels may also act as a thermal refuge in which foraging workers can retreat regularly to reduce exposure to high outdoor temperatures. To test this hypo-

S. Bouchebti · C. Jost · V. Fourcassié
Centre de Recherches sur la Cognition Animale, Université de
Toulouse, UPS, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 9,
France

S. Bouchebti · C. Jost · V. Fourcassié (✉)
CNRS, Centre de Recherches sur la Cognition Animale, 118 route
de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 9, France
e-mail: vincent.fourcassie@univ-tlse3.fr

N. Caldato · L. C. Forti
Laboratório de Insetos Sociais Pragas, Departamento de Produção
Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu,
Fazenda Experimental Lageado, UNESP, 18603 Botucatu,
SP, Brazil

thesis, we compared the resistance to heat of *A. capiguara* and *A. laevigata* workers by examining their mortality rate when exposed to high temperatures in a hot water bath.

We worked on three colonies of each species located in a pasture near Botucatu, state of São Paulo, Brazil (22°50'46"S, 48°26'02"W). Ants were collected from the main trails of the nests on the same day between 7 am and 9 am, between October 2012 and March 2013. Back in the laboratory, their fresh weight was determined to the nearest 0.01 mg and each ant was immediately placed individually in an Eppendorf tube which had a piece of wet cotton plugged into its lid to saturate the air with humidity. After an acclimation period of 30 min at room temperature (25 °C), the tubes were placed in a hot water bath that was set at three different temperatures: 25 °C (control temperature), 37 or 39 °C (test temperatures), which were just above the maximal temperature recorded in Botucatu in 2012 (36 °C). The state of the ants was noted every 5 min during a maximum time of 5 h. Dead ants were immediately removed from the bath and placed for 3 days in a dry oven at 50 °C. After this period, they were removed from the tube and their dry weight was measured. Ants of the two species were tested at the same time and in the same hot water bath as groups of 20 individuals of each species. In total, 120 ants were tested for each temperature and each species, 40 for each colony.

To study the effect of worker size on longevity, ants were categorized into four size classes: <3, 3–6, 6–12 and >12 mg. We used the R package *coxme* (Therneau, 2012) to fit the longevity data for 37 and 39 °C with two separate

mixed effects Cox proportional hazards models. Ants that did not die at the end of the 5-h heat exposure were considered as censored. The effects of species, ant size class, as well as the interaction between these two variables were tested in the models. The variable colony was entered as a random factor. Each explanatory variable was tested by comparing the change in likelihood between the models with and without this variable with a likelihood ratio test based on the χ^2 statistic. All statistical tests were conducted with R 2.13.1 (R Development Core Team, 2011).

When placed in the hot bath at the control temperature (25 °C), only one *A. laevigata* and two *A. capiguara* workers died before the end of the experiment (at the 285th min, and at the 15th and 210th min, for *A. laevigata* and *A. capiguara*, respectively). This shows that ants were not affected by the manipulation to which they were subjected for the test. Whatever their size and the temperature to which they were exposed, *A. laevigata* workers were generally much more resistant to high temperatures than *A. capiguara* (Fig. 1) (species effect: $\chi^2 = 53.26$, $p < 0.001$ and $\chi^2 = 124.76$, $p < 0.001$, for 37 and 39 °C, respectively). Moreover, at both temperatures big ants survived significantly longer than small ants (worker size effect: $\chi^2 = 64.68$, $p < 0.001$ and $\chi^2 = 133.87$, $p < 0.001$, for 37 and 39 °C, respectively). This confirms the results obtained in many other ant species showing that the rate of water loss in big ants is smaller than in small ants (Clemencet et al., 2010), even after adjusting for cuticular surface area (Lighton et al., 1994). Finally, the change in survivorship with worker size did not differ significantly between the two

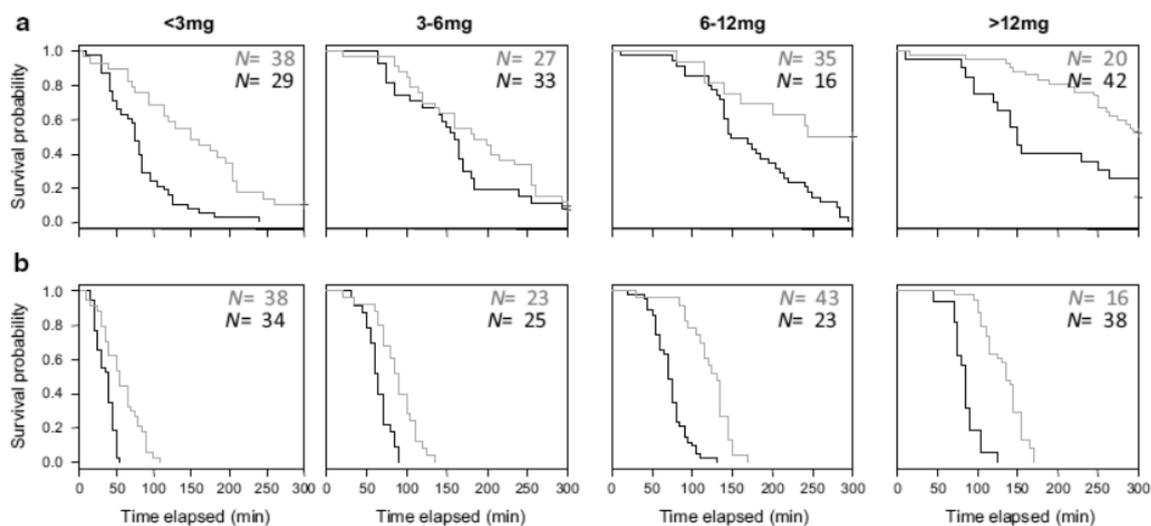


Fig. 1 Survival curves of the two studied species at **a** 37 °C and **b** 39 °C for each size class. Gray lines and characters *A. laevigata*; black lines and characters *A. capiguara*. *N* sample size

species (interaction between species and worker size: $\chi^2 = 6.81$, $p = 0.078$ and $\chi^2 = 5.55$, $p = 0.536$, for 37 and 39 °C, respectively).

Except for the largest individuals, i.e., those weighing more than 12 mg, workers of *A. capiguara* had generally a lower proportion of water [calculated using the formula: $(1 - \text{dry weight/fresh weight}) * 100$] in their bodies than those of *A. laevigata* (mean \pm SE, for *A. capiguara* and *A. laevigata*, respectively, and results of Wilcoxon test: <3 mg: 60.44 ± 0.96 and 65.64 ± 0.72 , $W = 3296.0$, $p < 0.001$; 3–6 mg: 61.80 ± 0.76 and 65.45 ± 0.51 , $W = 1908.0$, $P < 0.001$; 6–12 mg: 63.14 ± 0.30 and 64.32 ± 0.29 , $W = 1545.0$, $p < 0.001$; >12 mg: 60.95 ± 1.26 and 60.19 ± 1.32 , $W = 1094.5$, $p = 0.258$). The most likely explanation for the higher resistance of *A. laevigata* workers is therefore their higher body water content compared to *A. capiguara* workers. However, other factors that are known to increase resistance to dehydration stress, such as the thickness of the cuticle and the amount and composition of cuticular hydrocarbons (Hood and Tschinkel, 1990), or the presence of particular metabolic compounds such as heat shock proteins (Gehring and Wehner, 1995; Chown et al., 2011) cannot be excluded.

Our results show therefore that the longer and deeper underground foraging tunnels and the shorter foraging trails built by *A. capiguara* may allow reducing the exposure of its foraging workers to high outdoor temperatures. Note also that *A. laevigata* is characterized by a more extended size polymorphism than *A. capiguara* (range of body dry mass in our samples: 0.50–41.70 and 0.70–92.30 mg, for *A. capiguara* and *A. laevigata*, respectively). Given the fact that bigger workers are more resistant to heat stress than smaller

workers, this should also allow *A. laevigata* to forage at higher temperatures than *A. capiguara*.

Acknowledgments This work was supported by a French–Brazilian CAPES-COFECUB grant (No. 633/09). S. B was financed by a doctoral grant from the French Ministry of Education. We thank J. B. Ferdy for statistical advice.

References

- Bollazzi M., Forti L.C. and Roces F. 2012. Ventilation of the giant nests of *Atta* leaf-cutting ants: does underground circulating air enter the fungus chambers? *Insect. Soc.* **59**: 487–498
- Chown S.L., Sorensen J.G. and Terblanche J.S. 2011. Water loss in insects: An environmental change perspective. *J. Insect Physiol.* **57**: 1070–1084
- Clemencet J., Cournault L., Odent A. and Doums C. 2010. Worker thermal tolerance in the thermophilic ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera, Formicidae). *Insect. Soc.* **57**: 11–15
- Gehring W.J. and Wehner R. 1995. Heat shock protein synthesis and thermotolerance in *Cataglyphis*, an ant from the Sahara desert. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.*, **92**: 2994–2998
- Hood W.G. and Tschinkel W.R. 1990. Desiccation resistance in arboreal and terrestrial ants. *Physiol. Entomol.* **15**: 23–35
- Lighton J.R.B., Quinlan M.C. and Feener D.H. 1994. Is bigger better—water balance in the polymorphic desert harvester ant *Messor pergandei*. *Physiol. Entomol.* **19**: 325–334
- Moreira A.A., Forti L.C., Andrade A.P.P., Boaretto M.A.C. and Lopes J.F.S. 2004. Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). *St. Neotrop. Fauna Env.* **39**: 109–116
- R Development Core Team. 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- Therneau T. 2012. coxme: Mixed Effects Cox Models. R package version 2.2-3. <http://CRAN.R-project.org/package=coxme>

Abstract

Leaf cutting ants, with their symbiotic fungus, exhibit certainly the most complex organization of all ant species. The aim of this thesis was to study the foraging behavior of these ants, by a combination of laboratory and field experiments. We investigated the role of the structures built by ants outside the nest (trunk trails and foraging tunnels), the modulation of different types of communication involved in the recruitment to the resource exploited (chemical trail and contacts between workers), and finally the mechanisms underlying the choice of the harvested substrate, to suggest a general pattern of the foraging strategy used by these ants in natural conditions.

Key words: Leaf-cutting ants, *Atta laevigata*, foraging behavior, recruitment, communication, trail, spatial orientation, heat resistance

Auteur : Sofia Bouchebti

Titre : Comportement d’approvisionnement des fourmis coupeuses de feuilles : de la piste chimique à la piste physique

Directeur de thèse : Vincent Fourcassié

Lieu et date de soutenance : Toulouse, le 20 janvier 2015

Résumé :

Les fourmis coupeuses de feuilles, du fait de la relation symbiotique qu’elles entretiennent avec leur champignon, possèdent certainement l’organisation la plus complexe de toutes les espèces de fourmis. Ce travail de thèse a eu pour but d’étudier le comportement d’approvisionnement de ces fourmis, en appréhendant les multiples aspects de ce comportement par une combinaison d’expériences réalisées au laboratoire et sur le terrain. Nous nous sommes intéressés aux infrastructures mises en place par les fourmis et qui sont impliquées dans l’activité de récolte (pistes physiques et tunnels de fourragement), à la modulation des différents signaux impliqués dans le recrutement (piste chimique et contacts entre ouvrières), et enfin aux choix des substrats récoltés, pour proposer un pattern global de l’activité de récolte des fourmis coupeuses de feuilles en conditions naturelles.

Mots clés : Fourmis coupeuses de feuilles, *Atta laevigata*, comportement d’approvisionnement, recrutement, communication, piste, processus d’orientation, thermotolérance

Discipline : Ethologie

Laboratoire : Centre de Recherches sur la Cognition Animale – UMR 5169 – Université de Toulouse