



HAL
open science

Biomécanique et énergétique de la locomotion et du transport de charge chez la fourmi

Hugo Merienne

► **To cite this version:**

Hugo Merienne. Biomécanique et énergétique de la locomotion et du transport de charge chez la fourmi. Biologie animale. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2019. Français. NNT : 2019TOU30257 . tel-02966081

HAL Id: tel-02966081

<https://theses.hal.science/tel-02966081>

Submitted on 13 Oct 2020

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

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



THÈSE

En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par

Hugo MERIENNE

Le 4 novembre 2019

Biomécanique et énergétique de la locomotion et du transport de charge chez la fourmi

Ecole doctorale : **SEVAB - Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingenieries**

Spécialité : **Ecologie, biodiversité et évolution**

Unité de recherche :

CRCA - Centre de Recherches sur la Cognition Animale

Thèse dirigée par

Vincent FOURCASSIE et Pierre MORETTO

Jury

M. Christian PEETERS, Rapporteur

M. Stéphane VIOLLET, Rapporteur

M. Vincent BELS, Rapporteur

Mme Laurence CHEZE, Examinatrice

Mme Claire DETRAIN, Examinatrice

M. Vincent FOURCASSIÉ, Directeur de thèse

M. Pierre MORETTO, Co-directeur de thèse

« La seule certitude, c'est que rien n'est certain »

Pline l'ancien

Remerciements

Je tiens à prendre un moment afin de remercier toutes les personnes qui ont aidé de près ou de loin à la réalisation de cette thèse. Je tiens également à remercier toutes les personnes qui m'ont fait passé trois années formidables. Beaucoup seront donc remerciés deux fois.

En premier lieu, je tiens remercier très chaleureusement **Stéphane Viollet**, **Christian Peeters** et **Vincent Bels** pour avoir accepté de rapporter ma thèse. Je suis très touché et presque honoré que vous ayez accepter de vous pencher sur ce travail et de m'en faire un retour.

Je remercie également **Laurence Chèze** et **Claire Detrain** d'avoir accepté d'être examinatrices de ma thèse. C'est avec impatience que j'attends vos critiques.

Je remercie aussi **Anthony Herrel** et **Bruno Watier**, membres de mon comité de thèse, pour leurs conseils avisés lors de nos réunions.

Je remercie l'ensemble de mon laboratoire pour l'ambiance très agréable et stimulante qu'il insuffle.

En particulier j'aimerais remercier très chaleureusement mon directeur de thèse, **Vincent**, pour son écoute, sa pertinence systématique, son souci de l'autre et sa bienveillance. Mes discussions avec toi ont été les moments les plus intéressants et stimulants de ma thèse. C'est également toi qui a su me calmer et me rassurer lorsque certains aspects de ce travail me déprimaient. Pour ton calme, ta sérénité et ton pragmatisme bienveillant, merci.

Je remercie également mon co-directeur de thèse, **Pierre**, pour sa disponibilité et sa bonne humeur.

Je remercie chaleureusement **Gérard**, véritable MacGyver du laboratoire, qui m'a dépanné et conseillé plus de fois que je ne peux compter. Et qui partage ma passion des chouquettes.

Merci à **Mathieu** pour ses conseils en programmation et ses discussions passionnante sur la société et la vie de la cité.

Merci à **Maud** pour avoir adapté Tosia à mes fourmis, pour sa bonne humeur et sa disponibilité, merci d'avoir ri avec moi de mes questions bêtes.

Un grand merci à **Jean-Louis** pour m'avoir expliqué comment fonctionnait un sarcomère.

Merci à **tous les doctorants et doctorantes** du laboratoire avec qui j'ai partagé du temps, des soirées, des galères, des discussions, des amitiés. Je ne vais pas tous vous nommer parce que j'ai peur d'en oublier un ou une, mais du fond du cœur, merci. Vous gérez.

Merci aux stagiaires qui ont eu à travailler avec moi. **Guillaume**, **Mélanie**, **Ewen**, **Loreen**, merci pour votre investissement et votre bonne humeur. Je n'ai pu vous rémunérer qu'en chocolaines mais ce fut un plaisir de passer ces moments avec vous.

Je tiens également à remercier particulièrement **Claudes Maranges** et **Hervé Remignon**, pour m'avoir prêté une oreille attentive à la fin de ma première année, lorsque cette thèse ne se passait pas si bien pour moi. Votre écoute et votre aide a beaucoup compté pour moi, merci.

Un grand merci à **Dominique Pantalacci** pour sa gentillesse, sa sérénité communicative et l'aide qu'elle m'a apporté.

J'aimerai également remercier **Rémi Delille**, avec qui nous avons essayé d'imager les fourmis par micro tomographie à Valenciennes. Bien que nous n'ayons pas du tout réussi, travailler avec toi sur ce sujet a été une des activités les plus stimulantes lors de ma première année de thèse.

Je remercie tout particulièrement **Jonathan Shik**, qui m'a accueilli à Copenhague dans le cadre des expériences de respirométrie. Ton enthousiasme, ton énergie et ta rigueur ont rendu mon séjour dans ton laboratoire très intéressant et agréable, malgré les difficultés techniques rencontrées.

Merci à **Manuel Paredes**, **Jean-Pierre Dall'acqua**, **Serge Ippolito** et **Jérôme Fauré** pour m'avoir chaleureusement accueilli à l'INSA de Toulouse. Je m'estime très chanceux d'avoir pu donner cours à l'INSA pendant ces trois ans, j'ai absolument adoré enseigner et je sais maintenant que je vais me diriger davantage dans cette voie. Un grand merci pour cela.

Je tiens également à remercier **Cedric-Olivier Turrin**, pour m'avoir offert l'opportunité de participer à « ma thèse en 18 minutes à la radio ». C'est très étrange de s'écouter parler, mais ce fut une expérience très enrichissante et j'ai maintenant un bon outil pour présenter ma thèse.

Un énorme merci à **Hélène Pierre**, **Gwenaël Kaminski**, **Catherine Gadon**, **Pierre-Etienne Bertrand**, **Elodie Cheyrou** et à tous les participant.e.s de « Sciences en bulles ». Réaliser cette BD de médiation scientifique avec vous ça a été absolument génial : extrêmement exigeant et terriblement fun. Assurément un des meilleurs souvenirs de cette thèse.

Enfin je remercie mes **colocataires**, **voisin.ne.s**, **camarades improvisateurs** et **ami.e.s de tous bords** pour avoir éclairé et animé mon chemin durant ces trois ans. Ici juste quelques lignes pour vous, mais dans mon cœur, des romans. #tropchoupi

Pour finir, merci à mes parents, **Isabelle** et **Arnaud**, pour leur amour et leur soutien. Et enfin merci à mes meilleur.e.s ami.e.s et camarades, à ceux et à celle que je vois devenir jour après jour de si belles personnes. Merci à mes frères et sœur : **Simon**, **Théophile** et **Julia**.

Résumé

Le comportement de transport de charges est très peu répandu dans le monde animal. Les fourmis détiennent probablement un record dans ce domaine puisqu'elles peuvent transporter seules et sur plusieurs dizaines de mètres jusqu'à plus de dix fois leur propre masse. Lors de cette thèse, nous avons étudié la locomotion chez la fourmi et la manière dont celle-ci est affectée par la charge transportée. Ce travail recouvre trois aspects de la locomotion : la cinématique des pattes, la dynamique du centre de masse de la fourmi et la dépense énergétique associée à la locomotion. Nous avons porté une attention particulière à l'effet de la taille de la fourmi sur la locomotion. En effet le polymorphisme de la caste ouvrière chez l'espèce de fourmi étudié, *Messor barbarus*, est régi par des relations allométriques, ce qui implique que la locomotion lors du transport de charge pourrait être affectée de façon différente en fonction de la taille de la fourmi. Nous avons également étudié l'effet de la masse relative de la charge transportée sur la locomotion. Ce travail a montré que, lors de la locomotion non chargée, les petites et grosses fourmis n'ont pas le même patron locomoteur, les grosses fourmis s'ajustant au déséquilibre induit par leur tête proportionnellement plus grosse. Pour les fourmis chargées, le patron locomoteur varie peu avec la taille de la fourmi et celles-ci doivent régulièrement s'agripper au substrat avec leurs pattes arrières afin de ne pas basculer vers l'avant. Pour les fourmis non chargées, ou chargées avec de petites charges, la trajectoire du centre de masse lors de la locomotion correspond aux démarches observées chez d'autres insectes. Cependant, une charge de masse relative trop importante rend la locomotion erratique et le centre de masse ne suit alors plus une trajectoire périodique sur les différentes foulées. Enfin, nous avons mesuré le taux métabolique pour différentes fourmis non chargées et chargées avec des charges de masses variables. Les variations du taux métabolique en fonction de la masse de la fourmi, de la température, de l'activité et de la masse de la charge transportée le cas échéant sont cohérentes avec les résultats de la littérature sur d'autres espèces de fourmis. Grâce à ces expériences, nous avons pu calculer le taux auquel les fourmis ramènent de l'énergie à la colonie en fonction de leur masse et de la masse de la graine transportée. Afin de maximiser ce taux, les petites fourmis ont intérêt à récolter de petites graines, alors que les plus grosses fourmis devraient transporter des graines plus lourdes. Les résultats obtenus durant cette thèse permettront autant de

contribuer à une meilleure compréhension de la division du travail, de l'écologie et du comportement d'approvisionnement chez l'espèce *Messor barbarus* qu'à fournir davantage d'informations pour la conception bio-inspirée de robots hexapodes porteurs de charges.

Mot-clés : fourmis, locomotion, transport de charge, biomécanique, énergétique

Abstract

Load transport is rarely observed in animals. In this respect, ants probably display the most outstanding performances: they are indeed able to carry loads weighing up to ten times their own mass over dozens of meters. During this thesis, we studied ant locomotion and how it was affected by load transport. We investigated three aspects of locomotion: leg kinematics, center of mass dynamics and energetic expenditure associated with locomotion. We especially looked into the effect of ant mass on load transport. Indeed, the polymorphism of the worker caste of the ant species we studied, *Messor barbarus*, is characterized by allometric relationships, which implies that locomotion and/or load transport could be different for workers of different sizes. We also examined the effect of different relative mass of the loads carried. We found that big ants have a different locomotor pattern than small ants, probably because they have to compensate for the imbalance caused by their relatively bigger head. During load transport, the locomotor pattern does not change much for ants of different sizes and loaded ants often have to cling to the substrate in order to avoid falling off. For unloaded ants, the dynamics of the ant center of mass is similar to what has already been reported for other insects in the literature: the ant locomotion is well described by a bouncing gait with no aerial phases. This gait is hardly altered for small items. For bigger items however, the locomotion becomes erratic and does not follow a periodic pattern across consecutive strides. Finally, we measured the metabolic rates of ants of different sizes when unloaded and when loaded with loads of varying mass. The changes of the metabolic rate with temperature, ant mass, activity and load transport is coherent with previous experiments on other ant species. From these experiments, we computed the rate of food intake for which ants increase the energetic content of the colony. The function maximizing this rate predicts that optimal foraging would occur if small ants carry small seeds and big ants, big seeds. The results of this work will help to better understand the division of labor and the foraging ecology of *Messor barbarus* and could give new insights for the design of biomimetic hexapodal robots.

Key-words: ants, locomotion, load transport, biomechanics, energetics

Table des matières

1	Introduction générale	1
1.1	La locomotion chez les animaux.....	2
1.1.1	La locomotion, l’apanage des animaux.....	2
1.1.2	Approches de l’étude de la locomotion	6
1.2	Les cas de l’insecte et de la fourmi.....	17
1.2.1	Les insectes, un type de locomotion unique.....	17
1.2.2	...modifié en fonction de la situation	18
1.2.3	La locomotion chez la fourmi	19
1.2.4	Le transport de charge chez la fourmi	21
1.3	Présentation du modèle, annonce des objectifs et du plan de thèse.....	25
1.3.1	Présentation du modèle.....	25
1.3.2	Objectifs	29
1.3.3	Plan de thèse	29
2	Cinématique de la locomotion et du transport de charge chez la fourmi <i>M. barbarus</i> ...	33
2.1	Introduction.....	34
2.2	Materials and methods	36
2.2.1	Studied species and rearing conditions	36
2.2.2	Experimental setup	36
2.2.3	Experimental protocol.....	37
2.2.4	Data extraction and analysis	39
2.3	Results.....	45
2.3.1	Unloaded ants: influence of body mass (Tableau 2.3).....	45
2.3.2	Loaded ants: influence of ant body mass and load ratio (Tableau 2.4).....	52
2.4	Discussion	54
2.4.1	Unloaded ants	54
2.4.2	Carrying capacity	54
2.4.3	Influence of load ratio on locomotion	57
2.4.4	Conclusion	60
3	Dynamique du centre de masse lors de la locomotion et du transport de charge	63
3.1	Introduction.....	64
3.2	Material and methods	66
3.2.1	Studied species.....	66

3.2.2	Experimental setup	67
3.2.3	Experimental protocol.....	67
3.2.4	Data extraction and analysis	68
3.3	Results.....	71
3.3.1	Unloaded ants: influence of body mass (Table 3.1).....	71
3.3.2	Loaded ants: influence of ant body mass and load ratio (Table 3.2).....	76
3.4	Discussion	77
3.4.1	Unloaded ants	78
3.4.2	Loaded ants	79
4	Energétique de la locomotion et du transport de charge	81
4.1	Introduction.....	82
4.2	Matériel et méthodes.....	84
4.2.1	Espèce étudiée	84
4.2.2	Principe de la respirométrie à volume constant.....	85
4.2.3	Système expérimental (Figure 4.1)	85
4.2.4	Protocole expérimental.....	87
4.2.5	Calibration des boîtiers détecteurs d'activité	88
4.2.6	Analyse statistique	89
4.2.7	Calcul du taux énergétique net	90
4.3	Résultats	94
4.3.1	Calibration des boîtiers d'activités.....	94
4.3.2	Dessiccation des fourmis.....	95
4.3.3	Fourmis non chargées	96
4.3.4	Fourmis chargées	97
4.3.5	Taux énergétique net	100
4.4	Discussion	102
4.4.1	Dessiccation des fourmis.....	102
4.4.2	Fourmis non chargées	102
4.4.3	Fourmis chargées	104
4.4.4	Taux énergétique net	106
5	Discussion générale	109
6	Bibliographie	123
7	Annexe	143

Liste des figures

FIGURE 1.1: EXEMPLES DE LOCOMOTION TERRESTRE CHEZ DES ANIMAUX A PATTES.....	3
FIGURE 1.2 : REPRESENTATION SIMPLIFIEE D'UN SARCOMERE.....	5
FIGURE 1.3 : REPRESENTATION DU PATRON LOCOMOTEUR POUR DIFFERENTS MODES DE LOCOMOTION	8
FIGURE 1.4 : EXEMPLE DE L'EVOLUTION DES ENERGIES DU CENTRE DE MASSE POUR L'ELEPHANT LORS DE LA LOCOMOTION A DIFFERENTES VITESSES	10
FIGURE 1.5: ILLUSTRATION DES PRINCIPAUX MODELES DE LA DYNAMIQUE DU CENTRE DE MASSE	11
FIGURE 1.6: TRAVAIL MECANIQUE EXTERNE ET COUT ENERGETIQUE DE LA LOCOMOTION EN FONCTION DE LA MASSE CORPORELLE D'ANIMAUX DE DIFFERENTES ESPECES	13
FIGURE 1.7 : TAUX METABOLIQUE DU CHEVAL EN FONCTION DE SA VITESSE ET DE LA DEMARCHE UTILISEE	16
FIGURE 1.8: PODOGRAMME DU TRIPODE ALTERNE POUR <i>FORMICA POLYCTENA</i>	18
FIGURE 1.9 : PHOTOS DE FOURMIS PORTANT UNE CHARGE AU-DESSUS DE LEUR TETE, SOUS LEUR CORPS OU DEVANT ELLES	21
FIGURE 1.10 : METHODE DE TRANSPORT UTILISEE PAR <i>M. BARBARUS</i> EN FONCTION DE LA MASSE CORPORELLE DE LA FOURMI, DE LA MASSE DE LA CHARGE ET DU LR	22
FIGURE 1.11 : ILLUSTRATION DU CALCUL DE LA "STATIC STABILITY MARGIN"	24
FIGURE 1.12 : PHOTO D'UNE OUVRIERE <i>MESSOR BARBARUS</i>	26
FIGURE 1.13 : MASSE DE LA TETE, DU THORAX ET DE L'ABDOMEN EN FONCTION DE LA MASSE DE LA FOURMI...	27
FIGURE 1.14 : OUVRIERE MAJOR DE <i>MESSOR BARBARUS</i> PORTANT UN CHARGE.....	28
FIGURE 2.1: VIDEO ACQUISITION SYSTEM..	37
FIGURE 2.2: LOCATION OF THE POINTS TRACKED ON EACH ANT.....	40
FIGURE 2.3: RELATIVE SPEED AS A FUNCTION OF ANT MASS FOR UNLOADED ANTS	45
FIGURE 2.4: DUTY FACTOR AS A FUNCTION OF ANT MASS FOR THE FRONT, MID AND HIND LEGS DURING UNLOADED LOCOMOTION.....	46
FIGURE 2.5: PHASE PLOTS OF LIFT OFF ONSET OF ALL LEGS WITH RESPECT TO THE RIGHT MID LEG.....	47
FIGURE 2.6: EXAMPLE OF INTER-LEG COORDINATION FOR ONE ANT DURING UNLOADED AND LOADED LOCOMOTION	48
FIGURE 2.7: FOOTFALL GEOMETRY OF ANTS DURING LOCOMOTION	49
FIGURE 2.8: TIME VARIATION OF THE STATIC STABILITY MARGIN	50
FIGURE 2.9: TRANSPORTATION METHOD USED BY ANTS DURING LOCOMOTION	52

FIGURE 2.10: ANT CARRYING CAPACITIES AND SCALE EFFECT PREDICTION	56
FIGURE 2.11: SCANNING ELECTRON MICROSCOPE PHOTOGRAPH OF A <i>MESSOR BARBARUS</i> HIND LEG TARSUS AND OF THE PAPER SUBSTRATE ON WHICH THE ANTS PERFORMED LOCOMOTION.	58
FIGURE 2.12: LEFT HIND LEG POSITION DURING STANCE PHASE.....	60
FIGURE 3.3.1: LOCATION OF THE POINTS TRACKED ON EACH ANT.....	68
FIGURE 3.3.2: BODY MASS AND LOAD RATIO OF TESTED ANTS	71
FIGURE 3.3.3: VARIATIONS OF THE VERTICAL POSITION AND SPEED NORM OF THE ANTS CoM	73
FIGURE 3.4 : VARIATIONS OF THE MECHANICAL ENERGIES OF THE CoM RELATIVE TO THE SURROUNDINGS	74
FIGURE 3.5 : CORRELATION COEFFICIENT AND PHASE LAG BETWEEN THE KINETIC AND POTENTIAL ENERGIES OF THE CoM	75
FIGURE 3.6 : EXTERNAL MECHANICAL WORK PER UNIT OF DISTANCE AND POWER FOR UNLOADED ANTS	76
FIGURE 4.1 : PHOTO DU SYSTEME EXPERIMENTAL.....	87
FIGURE 4.2: ACTIVITE DE LA FOURMI EN UNE HEURE EN FONCTION DE SA MASSE INITIALE FRAICHE.....	94
FIGURE 4.3 : VARIATION DE LA MASSE DE LA FOURMI	96
FIGURE 4.4: EFFETS DE LA COLONIE, DE LA MASSE FRAICHE INITIALE DE LA FOURMI, DE SON SCORE D'ACTIVITE ET DU TEMPS ECOULE DEPUIS LE DEBUT DE L'EXPERIENCE SUR LE TAUX METABOLIQUE SPECIFIQUE DES FOURMIS NON CHARGEES	97
FIGURE 4.5 : EFFETS DE LA COLONIE, DE LA MASSE FRAICHE INITIALE DE LA FOURMI, DE SON SCORE D'ACTIVITE, DU TEMPS ECOULE DEPUIS LE DEBUT DE L'EXPERIENCE ET DU <i>LOAD RATIO</i> SUR LE TAUX METABOLIQUE SPECIFIQUE DES FOURMIS CHARGEES	99
FIGURE 4.6 : TAUX ENERGETIQUE NET ($J.H^{-1}$) EN FONCTION DE LA MASSE DE LA FOURMI ET DU <i>LOAD RATIO</i> POUR DES GRAINES DE VALEUR ENERGETIQUE $C = 20 J.MG^{-1}$ SITUEES A 10 METRES DU NID.	100
FIGURE 4.7 : MASSE DE LA FOURMI MAXIMISANT LE TAUX ENERGETIQUE NET, DU LR CORRESPONDANT ET LA VALEUR DE CE TAUX ASSOCIE EN FONCTION DU PARAMETRE CARACTERISANT LE FOURRAGEMENT ET DE LA MASSE DE LA CHARGE	101
FIGURE 4.8 : ILLUSTRATION DES DIFFERENTES MANIERES DE CALCULER LE COUT DE LA LOCOMOTION.....	103
FIGURE 5.1 : FIGURE REPRESENTANT LE COUT MINIMUM DU TRANSPORT (<i>MCOT</i>) ET LE TRAVAIL MECANIQUE EXTERNE PAR UNITE DE DISTANCE ($W_{EXT,D}$).....	113
FIGURE 5.2 : IMAGE D'UNE FOURMI OBTENUE PAR MICROTOMOGRAPHIE A RAYON X.....	118

FIGURE 5.3 : PRINCIPE DE LA METHODE PRENANT EN COMPTE L'INFLUENCE DE LA TAILLE DE L'OBJET IMAGE SUR
LA RELATION ENTRE LE NIVEAU DE GRIS DES IMAGES ET LA MASSE VOLUMIQUE DU MATERIAU..... 119

Liste des tableaux

TABLEAU 2.1: RELATIONSHIP BETWEEN THE BODY MASS OF THE ANTS AND THE LENGTH AND RELATIVE MASS OF EACH OF THEIR BODY PART.	42
TABLEAU 2.2: RELATIONSHIP BETWEEN BODY MASS AND LEG LENGTH.....	43
TABLEAU 2.3: INFLUENCE OF BODY MASS ON THE KINEMATICS OF UNLOADED ANTS	44
TABLEAU 2.4 : INFLUENCE OF BODY MASS AND LOAD RATIO ON THE CHANGES IN KINEMATICS BETWEEN UNLOADED AND LOADED LOCOMOTION.....	51
TABLEAU 3.1 : INFLUENCE OF BODY MASS ON THE BIOMECHANICAL VARIABLES OF ANTS WALKING UNLOADED.	72
TABLEAU 3.2 : INFLUENCE OF BODY MASS AND LOAD RATIO ON THE CHANGES IN BIOMECHANICAL VARIABLES BETWEEN UNLOADED AND LOADED LOCOMOTION	77

1 Introduction générale

1.1 La locomotion chez les animaux

1.1.1 La locomotion, l'apanage des animaux

1.1.1.1 La locomotion terrestre

A quelques exceptions près - telles les anémones - la capacité d'un organisme à se déplacer activement est ce qui différencie les animaux des végétaux. C'est une aptitude cruciale qui peut remplir plusieurs fonctions. En effet la mobilité permet la migration, la recherche de partenaires sexuels, d'un habitat ou d'un abri, la prédation, et son pendant, la fuite, ainsi que la recherche et le transport de nourriture. Les modes de locomotion terrestre qui nous intéressent ici sont très variés et peuvent prendre de nombreuses formes.

Tout d'abord, les animaux se distinguent par la présence, et le cas échéant le nombre, de membres dédiés à la locomotion : les pattes. Si toutes les pattes sont à l'origine dédiées à la locomotion, l'évolution a façonné les organismes de manière à ce que certaines pattes – généralement les pattes antérieures – perdent leur fonction locomotrice. Ces membres ont alors changé de fonction (ailes chez les oiseaux, bras chez *Homo Sapiens*, nageoires chez la baleine), se sont atrophiés (certains orvets) ou alors ont tout simplement disparu (moas). Certains animaux sont même totalement dépourvus de pattes tels les reptiles (serpents, amphisbènes), les amphibiens (Gymnophiones, Sirenidae), et certaines larves d'insectes (larves de mouches, d'hyménoptères et de coléoptères bruchinés). On parle alors d'apodie et ces organismes se déplacent en rampant, tirant profit de la flexibilité de leur corps. Certains animaux n'ont pas de pattes mais possèdent cependant des structures dédiées à la locomotion. On peut citer pour exemple les escargots et limaces, qui possèdent un seul pied musculéux, ou bien les polychètes, pourvues de parapodes. Bien que tous ces animaux pratiquent la locomotion terrestre au sens où ils se déplacent sur le sol, nous utiliserons par commodité dans la suite de ce manuscrit l'adjectif « terrestre » pour désigner uniquement la locomotion réalisée avec des pattes. Les animaux dotés de pattes ont toujours, en l'absence de pathologie ou d'amputation, un nombre pair de pattes, disposées symétriquement par rapport au plan sagittal. Pour la locomotion terrestre, ils peuvent utiliser deux pattes (humains, oiseaux, kangourous), quatre (félins, canins), six (insectes), huit (arachnides), ou davantage comme les bien nommés myriapodes (scolopendres, scutigères, lithobies, iules). Le record du nombre de pattes est pour l'instant détenu par l'un d'entre eux, *Illacme plenipes*,

qui possède 750 pattes (Marek & Bond, 2006). De plus, certains animaux peuvent également utiliser différents nombres de pattes en fonction du contexte. C'est le cas de la blatte *Periplaneta americana* qui utilise six pattes à basse vitesse, puis quatre et enfin deux lorsqu'elle accélère (Full & Tu, 1991) ou encore du phasme *Carausius morosus* qui utilise régulièrement uniquement ses quatre pattes arrières (Grabowska *et al.*, 2012).

Le nombre de pattes n'est pas la seule différence anatomique entre animaux, l'anatomie de la patte elle-même varie beaucoup. Endo ou exo-squelette, nombre de segments constituant la patte, articulations entre ces segments, muscles et leur innervation dédiés à la locomotion, posture (Reilly *et al.*, 2007), terminaisons des pattes, autant d'éléments potentiellement différents d'une espèce à l'autre qui modifient sensiblement les comportements locomoteurs (Figure 1.1). Dans une moindre mesure, certaines de ces différences peuvent également se rencontrer entre individus d'une même espèce par exemple dans le cas de dimorphisme sexuel, de polymorphisme de caste ou encore du fait de la variabilité inhérente entre individus.



Figure 1.1: Exemples de locomotion terrestre chez des animaux à pattes

1.1.1.2 Le rôle des muscles

Les muscles squelettiques sont les éléments moteurs de la locomotion. Ces composants biologiques sont capables, en se contractant, de produire une tension. Ils sont attachés au squelette par des tendons, de telle manière que la tension qu'ils produisent permette de mettre en mouvement les membres les uns par rapport aux autres autour de leurs articulations. En particulier, ils permettent l'accélération des différents segments qui crée la force d'action sur le support et entraîne le déplacement par rapport au support. Le cœur, les muscles de l'ouïe et les muscles lisses (estomac, vessie, bronches...) sont soumis à des contractions inconscientes et sont qualifiés d'involontaires. Les muscles squelettiques se contractent eux sous la commande volontaire. L'unité contractile primaire de ces muscles est le sarcomère (Figure 1.2). Il se répète en série de manière à former une myofibrille. Ces myofibrilles se regroupent en myofibres qui elles même peuvent se regrouper en faisceaux puis en fibres au sein d'un muscle pour certains animaux. Lorsque ces muscles sont activés par le système nerveux, cela aboutit à la libération de calcium dans la ou les myofibres et à une série de réactions chimiques qui conduisent à la production de la molécule énergétique ATP (adénosine triphosphate). La dégradation de l'ATP dans le muscle aboutit *in fine* à ce que les filaments d'actine et de myosine glissent les uns par rapport aux autres (Figure 1.2). Cela a pour effet de réduire la longueur des sarcomères et donc de générer une tension. Chez les vertébrés, deux types de fibres musculaires peuvent être distinguées : celles à contraction rapide et celles à contraction lente. Elles diffèrent par le type de myosine composant le sarcomère (Pollard *et al.*, 2017). Les fibres à contraction lentes sont plus efficaces lors de mouvement lents alors que les fibres à contraction rapides sont utilisées pour des locomotions rapides (Rome *et al.*, 1988).

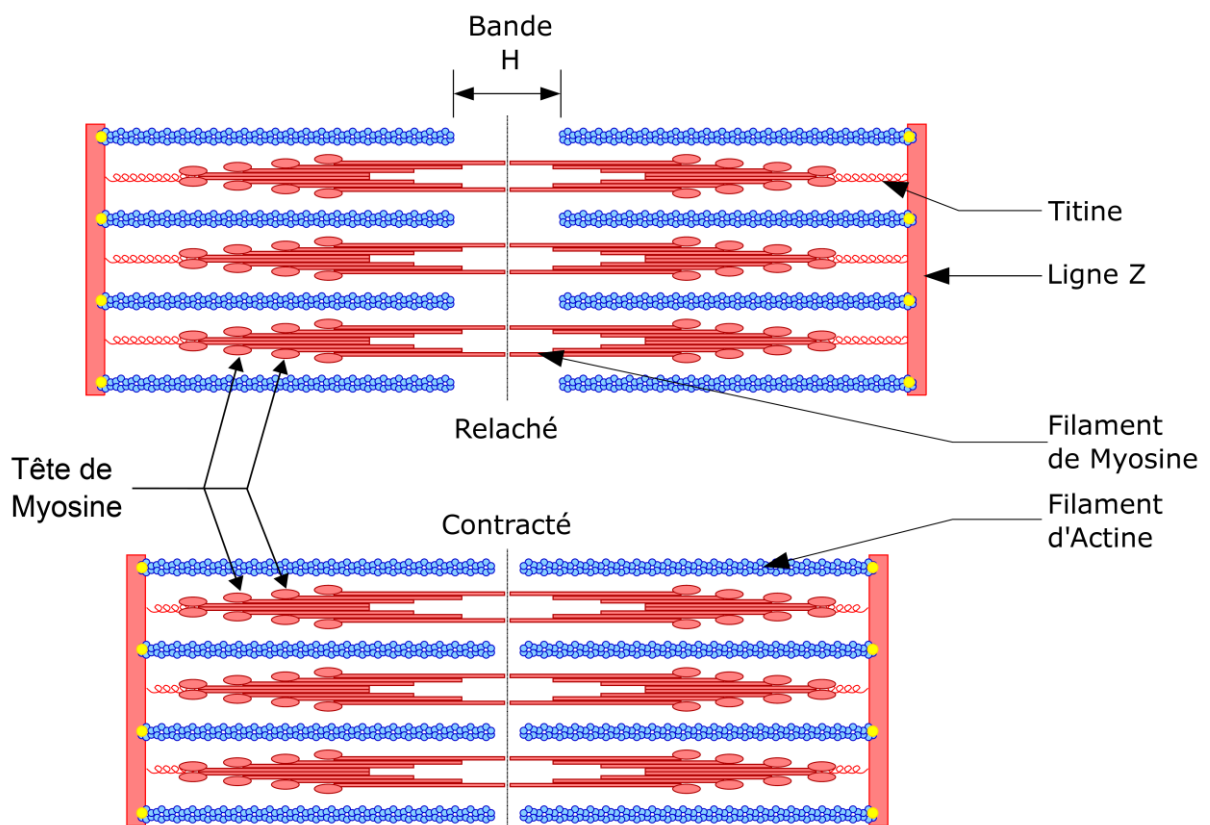


Figure 1.2 : Représentation simplifiée d'un sarcomère. Lors de l'activation du muscle, les têtes de myosine se reconfigurent et se fixent aux fibres d'actine. Un processus chimique incluant la dégradation de l'ATP provoque ensuite le glissement des fibres de myosine par rapport aux fibres d'actine. Cela a pour effet de raccourcir la bande H et d'exercer une tension le long de la ligne Z. Schéma adapté à partir de la figure de la page « Sarcomère » de wikipédia (consultée le 05/09/19).

Bien que la physiologie des muscles diffère significativement entre espèces (Schiaffino & Reggiani, 2011; Schönbauer *et al.*, 2011; Spletter & Schnorrer, 2014), l'unité de contraction primaire, le sarcomère, est très similaire pour de nombreux animaux (Ehler & Gautel, 2008), au point d'avoir une longueur quasi identique entre humains et drosophiles (Lemke & Schnorrer, 2017). C'est ainsi qu'en se basant sur les différentes phases de fonctionnement du sarcomère – activation, maintien, relaxation – et l'énergie qu'elles nécessitent, Pontzer (2016) a pu proposer un modèle unique du coût énergétique de la locomotion applicable à un éventail d'animaux très différents.

1.1.1.3 Un individu, des locomotions

Lors de la locomotion un même individu peut faire face à des situations très diverses. En effet, dans la même journée, un animal peut marcher sous la pluie pour chercher de la nourriture, courir entre les arbres pour échapper à un prédateur, et gravir une pente rocailleuse pour ramener de la nourriture à son lieu de vie. Le type de locomotion réalisée dans une situation donnée dépend de nombreux facteurs qui peuvent être liés à l'environnement physique (nature du substrat, pente, présence d'obstacles), aux conditions abiotiques (température, vent, précipitations) et à l'animal lui-même tels que son comportement (prédation, fuite, exploration, transport de charge), sa morphologie et son état interne (âge, état de santé, état nutritionnel). En fonction de la situation, l'animal modifie ainsi son comportement locomoteur afin d'optimiser un ou plusieurs critères particuliers de la locomotion comme la vitesse, le coût énergétique ou la probabilité d'éviter les prédateurs (Halsey, 2016) et cela l'amène à adopter un type de locomotion propre à la situation. Nous appellerons ces comportements locomoteurs spécifiques « démarches » (« *gait* » en anglais). En 1989, Alexander donnait la définition suivante de la démarche : « *A gait is a pattern of locomotion characteristic of a limited range of species described by quantities of which one or more change discontinuously at transitions to other gaits* » que l'on pourrait traduire par "Une démarche est un patron locomoteur caractéristique d'un nombre limité d'espèces et décrite par des quantités dont au moins une change de façon discontinue lors de la transition entre deux démarches". Lors de différentes situations, un animal peut alors soit utiliser la même démarche avec des modifications marginales soit en changer. De nombreuses démarches génériques ont ainsi été identifiées dans la littérature, telle que la marche, la course ou le saut. Nous expliciterons ce qui les différencie et les manières dont elles ont été étudiées dans la section 1.1.2.

La locomotion est donc un comportement qui peut revêtir de nombreuses formes. Au-delà des différences anatomiques et morphologiques entre espèces, elle dépend également de facteurs environnementaux et circonstanciels et de paramètres propres à l'animal.

1.1.2 Approches de l'étude de la locomotion

La locomotion terrestre chez les animaux a été très étudiée dans la littérature et les approches et méthodes utilisées ont été nombreuses (Dickinson, 2000). Dans ce chapitre, nous ne

chercherons pas à être exhaustif mais plutôt à introduire les principaux angles – non exclusifs – sous lesquels la locomotion terrestre a été étudiée.

1.1.2.1 Cinématique de la locomotion

La cinématique consiste à étudier le mouvement des objets sans s'intéresser aux causes les mettant en mouvement. C'est donc une démarche purement descriptive qui a pour objectif, dans le cadre de la locomotion, de rendre compte des mouvements du corps et des membres d'un individu en déplacement. Idéalement, si toutes les informations concernant la cinématique d'un individu en locomotion étaient connues, nous aurions accès, dans un référentiel donné, à la position, à la vitesse et à l'accélération en tous points du corps de l'individu à chaque instant. En pratique, et bien que les systèmes d'imagerie soient de plus en plus précis, l'information exploitable est souvent partielle.

La variable cinématique la plus facilement accessible est la vitesse moyenne dans la direction de locomotion, obtenue en divisant la distance totale parcourue par l'individu par le temps qu'il a mis pour parcourir cette distance. Parmi les autres variables cinématiques couramment étudiées, on trouve la fréquence et longueur des foulées, la localisation de l'emplacement où les pattes rentrent en contact avec le sol et se soulèvent ou encore le patron locomoteur (« *footfall pattern* » ou « *stepping pattern* » en anglais), c'est-à-dire l'ordre de balancement des pattes et leur temps de balancement et de contact avec le substrat. Pour chaque patte, le *duty factor* représente ainsi la proportion de temps que la patte passe au sol durant une foulée (Ting *et al.*, 1994). Une manière courante de représenter le patron locomoteur est le podogramme (Figure 1.3).

Ainsi, le critère qui a longtemps été utilisé pour distinguer la marche et la course est d'ordre cinématique : la présence ou non de phase aérienne. C'est d'ailleurs toujours le critère utilisé aux Jeux Olympiques pour juger de la marche athlétique ou sur un hippodrome lors des courses de trot. Chez les quadrupèdes (Figure 1.3A) comme chez les hexapodes (Figure 1.3B), différentes démarches peuvent être distinguées à partir du patron locomoteur. De la même manière, on peut par exemple distinguer la marche des autres modes de locomotion chez le cheval en étudiant les paramètres du patron locomoteur (Robilliard *et al.*, 2007).

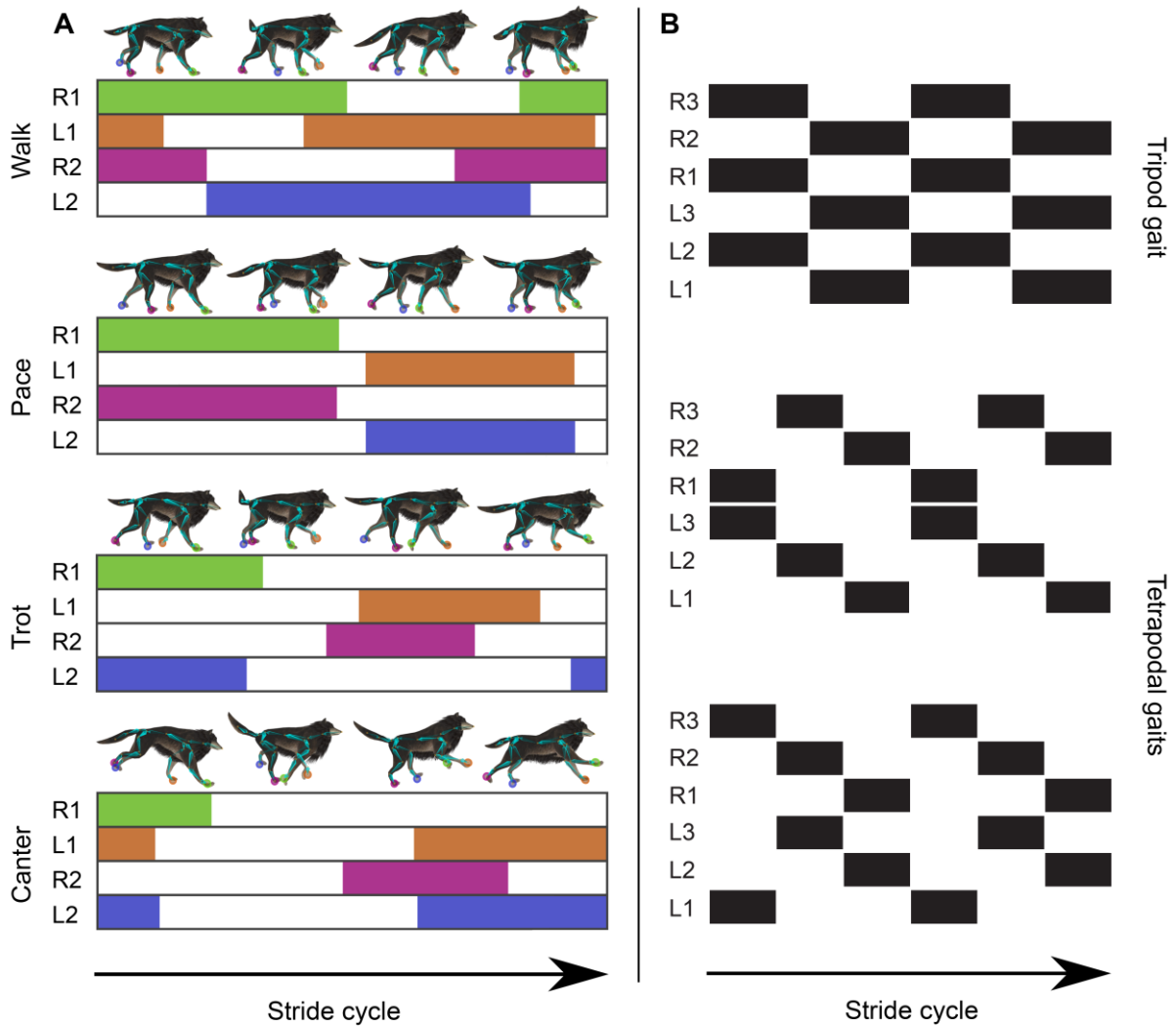


Figure 1.3 : Représentation du patron locomoteur pour différents modes de locomotion. A : Exemple pour le chien. R1 et R2 (respectivement L1 et L2) représentent les pattes avant et arrière du côté droit (respectivement gauche) de l'animal. Les barres pleines correspondent aux phases d'appui. Figure de Zhang et al. (2018) ; B : Représentation des podogrammes idéaux des différentes démarches à six pattes pour le phasme. R1, R2 et R3 (respectivement L1, L2 et L3) représentent les pattes avant, milieu et arrière du côté droit (respectivement gauche) de l'insecte. Les barres correspondent aux phases de balancement. Figure de Grabowska et al. (2012).

Obtenir des informations plus complètes sur la cinématique, notamment le déplacement des membres, nécessite de pouvoir décomposer de façon fine les mouvements du corps lors de la locomotion. Cette approche a été initiée à la fin du XIX^{ème} siècle par Etienne-Jules Marey qui est à l'origine de la chronophotographie reprise ensuite par Fenn (1930) au XX^{ème} siècle. L'utilisation de caméras vidéos à haute fréquence d'acquisition permet aujourd'hui d'analyser les mouvements avec de très bonnes résolutions spatiales et temporelles. De plus, l'analyse

de ces vidéos est facilitée par des logiciels de poursuite automatique de plus en plus performants, qui sont même capables de suivre le déplacement des membres de certains insectes (drosophile : Uhlmann *et al.*, 2017). Plutôt que d'analyser les images de la locomotion, une autre méthode consiste à fixer des marqueurs directement sur l'individu et à déterminer leurs positions et leurs déplacements. On peut distinguer le cas où le marqueur est émetteur d'un signal (généralement infrarouge) et où plusieurs caméras filment la scène, ce qui permet de reconstruire sa position (Cavagna *et al.*, 1991; Willems, Cavagna & Heglund, 1995), et le cas où la scène est éclairée en infrarouge et où les marqueurs ne font que réfléchir ce rayonnement (*Carausius morosus* : Theunissen & Dürr, 2013; Dallmann *et al.*, 2016; humains : Fumery *et al.*, 2018).

1.1.2.2 Dynamique du centre de masse

Une autre approche de l'étude de la locomotion consiste à simplifier l'individu en le réduisant à un point matériel, son centre de masse (CoM, pour « *Center of Mass* »), auquel on associe la masse de l'individu. Le CoM est le barycentre de l'individu, pondéré par les masses des différentes parties de son corps. Si on se place dans un référentiel terrestre avec O le centre de la Terre, le CoM, noté G , s'obtient par l'équation :

$$\overrightarrow{OG} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^n m_i \overrightarrow{OM_i}$$

Avec m la masse de l'individu et n le nombre de points matériels discrets $(M_i)_{1 \leq i \leq n}$ représentant l'individu assortis de leur masse $(m_i)_{1 \leq i \leq n}$ et de leur position $(\overrightarrow{OM_i})_{1 \leq i \leq n}$. En accédant à la cinématique de ce point, c'est-à-dire sa position au cours du temps (et ses dérivés), on peut calculer son énergie potentielle gravitationnelle (E_p) et son énergie cinétique (E_k) grâce aux équations :

$$E_p(t) = m * g * h(t)$$

$$E_k(t) = \frac{1}{2} * m * v(t)^2$$

Où m est la masse de l'individu, g la constante de gravitation, $h(t)$ la hauteur du CoM au temps t et $v(t)$ sa vitesse. De la somme de ces deux énergies, on obtient l'énergie mécanique du CoM (Figure 1.4).

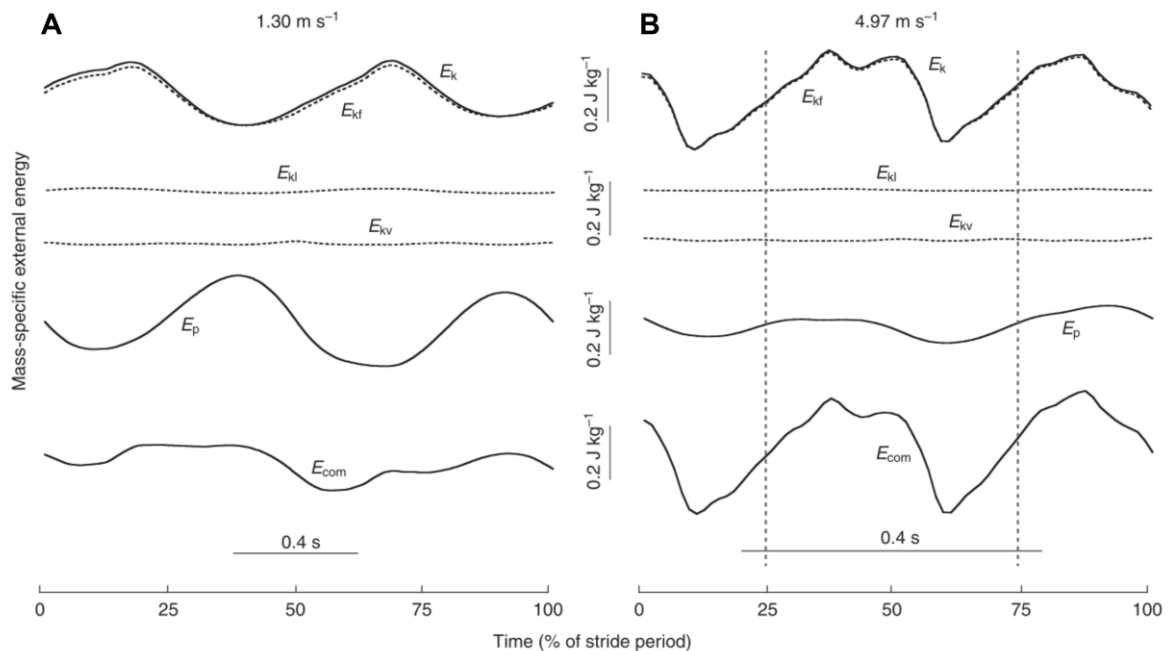


Figure 1.4 : Exemple de l'évolution des énergies du centre de masse pour l'éléphant lors de la locomotion à différentes vitesses. **A** : cas de la marche ($1.30 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) ; **B** : cas de la course ($4.97 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$). E_k représente l'énergie cinétique du CoM, décomposée en sa composante verticale (E_{kv}), latérale (E_{kl}) et antéro-postérieure (E_{kf}). E_p représente l'énergie potentielle de gravitation du CoM et E_{com} son énergie mécanique externe. Les énergies cinétique et potentielle sont en opposition de phase lors de la marche et en phase lors de la course. Figure de Genin et al. (2010).

Avec cette approche, Cavagna *et al.* (1977) identifient deux types de démarches : la marche, pour laquelle les énergies cinétiques et potentielles sont la plupart du temps en opposition de phase et s'échangent au cours d'une foulée à la manière d'un pendule inversé (IP pour « *Inverted Pendulum model* », Figure 1.5A) et la course, pour laquelle ces énergies sont principalement en phase. Le modèle standard pour la course, proposé par Alexander et Vernon (1975) et plus tard formalisé par Blickhan (1989) et Farley *et al.*, (1993) postule que l'énergie est stockée sous forme d'énergie potentielle élastique dans des composants de la patte agissant comme des ressorts, puis que cette énergie est re-délivrée lors d'une foulée (Figure 1.5B). Cependant, si cette représentation modélise très bien le déplacement du CoM, cela ne signifie pas pour autant que les pattes agissent effectivement comme des ressorts. En

effet, en considérant l'individu comme un assemblage de solides indéformables liés entre eux par des articulations sans frictions, on peut montrer que ces segments peuvent se coordonner de façon à ce que le CoM imite une masse bondissante (Moretto *et al.*, 2016). Les modèles pour la marche et la course ont été largement repris et détaillés par la suite – pour rendre compte notamment des phases de double contact et des caractéristiques des forces de réaction au sol – jusqu'à être unifiés par Geyer *et al.* (2006) sous le nom de « *bipedal spring-mass model* » (Figure 1.5C). Ce modèle, qui postule une flexibilité des pattes de l'individu, permet, en fonction de la valeur de ses paramètres, de rendre compte de la dynamique du CoM à la fois pour la marche et pour la course.

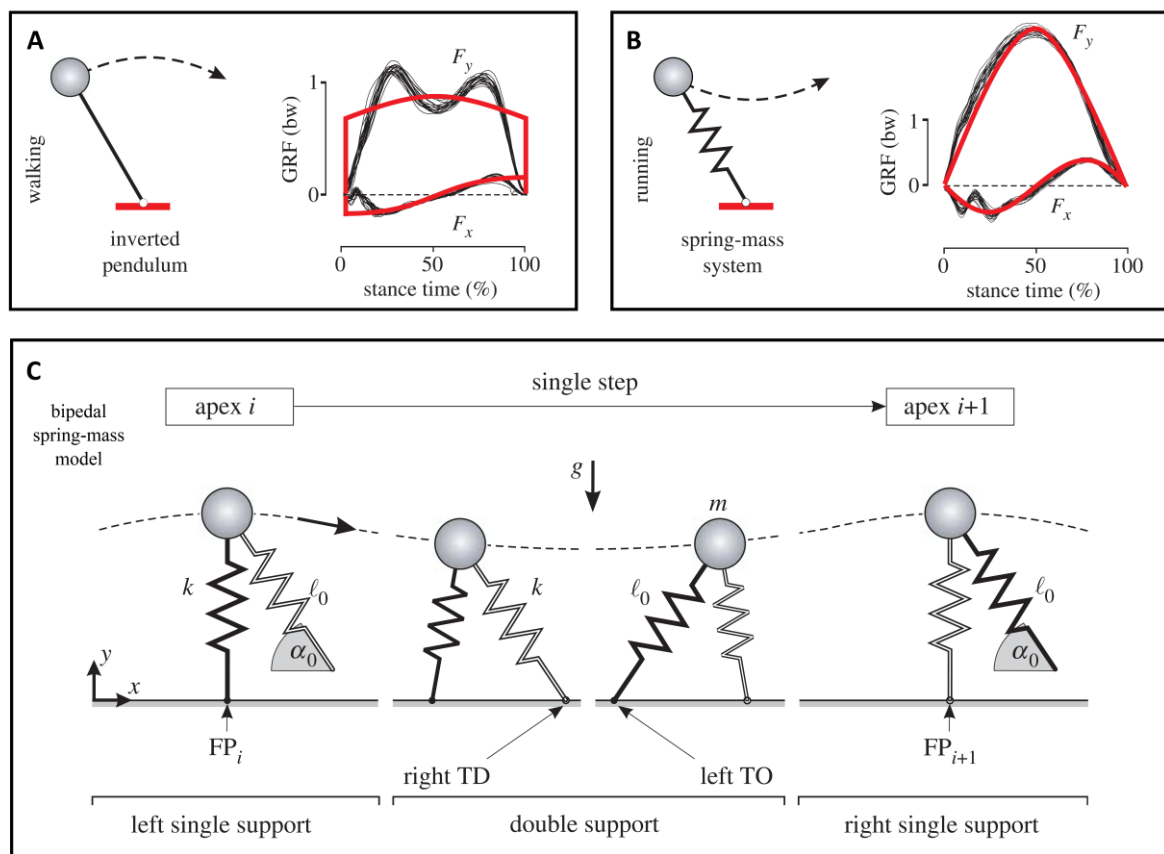


Figure 1.5: Illustration des principaux modèles de la dynamique du centre de masse. **A** : Illustration conceptuelle du « Inverted pendulum model » et évolution des forces de réaction au sol (GRF) normalisées par le poids (bw) en rouge pour les prédictions du modèle et en noir pour des humains marchant sur un tapis roulant à 1.2 m/s ; **B** : Illustration conceptuelle du « spring-mass model » et évolution des forces de réaction au sol (GRF) normalisées par le poids (bw) en rouge pour les prédictions du modèle et en noir pour des humains courant sur un tapis roulant à 4.0 m/s ; **C** : Illustration conceptuelle du « bipedal spring-mass model ». Ce modèle comprend deux ressorts sans masse, de raideur k et de longueur à vide l_0 . Ces illustrations sont extraites de Geyer *et al.* (2006).

Ces modèles ont à l'origine été construits à partir de l'analyse de la locomotion de sujets bipèdes. Cependant, la dynamique du CoM peut être modélisée avec les mêmes outils pour d'autres animaux, et on retrouve des énergies potentielle et cinétique en phase et/ou en opposition de phase selon les différentes démarches chez les quadrupèdes (Alexander *et al.*, 1980; Griffin *et al.*, 2004; Genin *et al.*, 2010), les insectes (*Blaberus discoidalis* : Full & Tu, 1990; *Formica polyctena* : Reinhardt & Blickhan, 2014) et les arachnides (*Leiobunum vittatum* : Sensenig & Shultz, 2007; *Grammostola mollicoma*: Ausserer : Biancardi *et al.*, 2011). Pour certains animaux, la locomotion ne comporte pas de phases aériennes (caractéristique de la marche dans l'analyse cinématique) et pourtant les énergies potentielles et cinétiques sont en phases (caractéristique de la course selon l'étude dynamique du CoM). C'est le cas de l'autruche (Rubenson *et al.*, 2004), du primate *Hylobate lar* (Vereecke *et al.*, 2006), de la caille *Coturnix coturnix* (Andrada *et al.*, 2013) ou encore de la fourmi *Formica Polyctena* (Reinhardt & Blickhan, 2014). Cette apparente contradiction a mené les auteurs à définir un nouveau type de démarche nommée « *grounded running* » (ou « *compliant walking* »).

D'un point de vue pratique, on peut utiliser deux méthodes différentes pour accéder au déplacement du CoM de l'individu en locomotion. La première consiste à utiliser les informations issues de l'étude de la cinématique de la locomotion (cf. 1.1.2.1). Si l'on connaît et que l'on peut suivre un marqueur anatomique correspondant peu ou prou à la position du CoM, on peut suivre uniquement ce point et l'assimiler au CoM (Reinhardt *et al.*, 2009). Pour une détermination plus précise, on peut suivre le déplacement des segments principaux du corps de l'individu. Puis, en accédant à la masse de chacun de ces segments – soit en les estimant à partir de tables morphométriques (pour les humains : De Leva, 1996), soit en disséquant l'animal et en pesant ses membres directement – on peut reconstruire la position du CoM de l'individu comme le barycentre des CoM de chaque segment pondéré par leur masse.

L'autre méthode consiste à utiliser des plateformes de force afin de mesurer les forces de réactions au sol (*Ground Reaction Forces*). En les intégrant, on peut alors reconstruire le déplacement du CoM en suivant la procédure décrite par Cavagna (1975). En plus de déterminer le déplacement du CoM, cette méthode permet bien sûr aussi d'obtenir des informations sur l'évolution des forces de réaction au sol lors de la locomotion. Elle a

notamment été utilisée pour étudier la locomotion de l'éléphant d'Asie (Genin *et al.*, 2010) et celle des tortues (Zani, 2005).

De plus, en calculant la somme des incréments positifs de l'énergie mécanique du CoM, on obtient le travail mécanique externe qui correspond à l'énergie à fournir au CoM pour le soulever et l'accélérer (Cavagna, 1975; Willems, Cavagna & Heglund, 1995; Bastien *et al.*, 2016). Le travail mécanique par unité de masse lié à la locomotion sur une même distance a été calculé pour de nombreuses espèces. Il est pratiquement identique pour tous les animaux, des plus gros (éléphants) aux plus petits (insectes) (Figure 1.6 ; Alexander, 2005). Il est important de noter cependant que ce travail n'est qu'une quantification de l'énergie à fournir pour accélérer et soulever le CoM il ne consiste qu'en une partie du travail mécanique fourni lors de la locomotion.

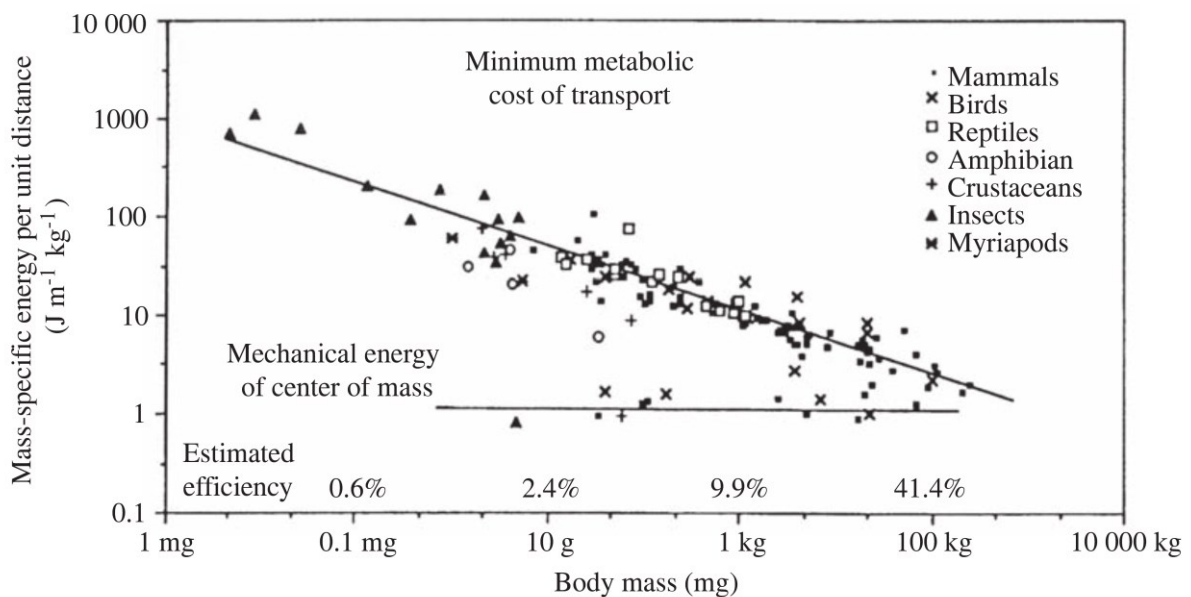


Figure 1.6: Travail mécanique externe et coût énergétique de la locomotion en fonction de la masse corporelle d'animaux de différentes espèces. Figure de Alexander 2005.

1.1.2.3 Prise en compte de l'énergie de gesticulation

En effet, d'un point de vue strictement mécanique, le travail mécanique externe ne prend pas en compte l'énergie de gesticulation, c'est-à-dire le travail nécessaire pour accélérer les différents segments du corps par rapport au CoM de l'individu. Ce travail est généralement

appelé travail mécanique interne par opposition au travail mécanique externe. Pour calculer ce travail, on ne peut plus considérer l'individu simplement comme un point matériel, il faut le modéliser comme un solide polyarticulé, c'est-à-dire considérer ses membres principaux comme des solides indéformables liés entre eux par des liaisons mécaniques sans friction (pivot ou rotule permettant différentes amplitudes en fonction de la morphologie). Il faut ensuite accéder à la cinématique de chacun des segments du corps de l'individu durant la locomotion (cf. Chapitre 1.1.2.1) et à ses caractéristiques inertielles (masses, rayon de giration, moment d'inertie et CoM des différents segments). Si on considère un individu comme constitué de n segments de masse m_i alors l'énergie mécanique interne au temps t s'obtient, dans le référentiel barycentrique, avec la formule :

$$E_{int}(t) = \sum_{i=1}^n \left(\frac{1}{2} m_i V_{r,i}(t)^2 + \frac{1}{2} m_i K_i^2 \omega_i(t)^2 \right)$$

où $V_{r,i}(t)$ correspond à la vitesse au temps t du CoM du $i^{\text{ème}}$ segment par rapport au CoM de l'individu, K_i au rayon de giration du $i^{\text{ème}}$ segment autour de son CoM et $\omega_i(t)$ à sa vitesse angulaire au temps t . Le travail mécanique interne s'obtient alors comme la somme des incréments positifs de l'énergie interne.

Cette approche, établie formellement par Cavagna and Kaneko (1977) a été utilisée dans de nombreuses études (Willems *et al.*, 1995; Bastien *et al.*, 2016; Moretto *et al.*, 2016; Fumery *et al.*, 2018). Si le travail mécanique interne a d'abord été considéré comme négligeable (Taylor *et al.*, 1974; Kram & Taylor, 1990; Griffin *et al.*, 2003), des études plus récentes ont contredit ces premiers résultats (Marsh *et al.*, 2004; Doke *et al.*, 2005; Gottschall & Kram, 2005; Modica & Kram, 2005), le travail mécanique interne pouvant atteindre des valeurs représentant jusqu'à 13% du travail mécanique externe chez la blatte *Blaberus discoidalis* (Kram *et al.*, 1997).

1.1.2.4 Coût métabolique

De la même manière que le travail externe du CoM ne consiste qu'en une partie du travail fourni par l'individu pour sa locomotion, le travail mécanique total (externe + interne) fourni par l'individu pour sa locomotion ne représente qu'une partie de l'énergie totale dépensée par l'individu. Il ne prend notamment pas en compte les contractions isométriques ni l'énergie

stockée puis rendue dans les composants élastiques tels que les tendons et les ligaments (Reilly *et al.*, 2007). Une manière de mesurer l'énergie totale dépensée par un individu lors d'une activité, et notamment durant la locomotion, est la respirométrie. Le principe est de mesurer la quantité d'oxygène consommée par un individu lors de l'effort et/ou de dioxyde de carbone produit par la respiration. On peut distinguer le cas où l'individu porte un masque (vertébrés), qui permet de mesurer directement les échanges gazeux ayant lieu dans l'organisme, et le cas où l'individu est placé dans une chambre respirométrique (vertébrés, insectes) et où on mesure la teneur en oxygène ou en dioxyde de carbone dans l'environnement. Le principe est de considérer que plus l'effort est important, plus la consommation d'oxygène et la production de dioxyde de carbone sera importante. La quantité d'oxygène consommée ou de dioxyde de carbone produite est alors utilisée comme un proxy pour estimer l'énergie dépensée lors de l'effort. De plus, en utilisant la calorimétrie, on peut convertir la quantité d'oxygène consommée en joules (Brody, 1945). On obtient alors le taux métabolique de l'individu, c'est-à-dire la quantité d'énergie qu'il dépense par unité de temps. Si l'on ne dispose que de la mesure du dioxyde de carbone produit, on peut estimer la quantité d'oxygène consommée grâce au quotient respiratoire (RQ, pour « *Respiratory Quotient* ») qui correspond au rapport entre la quantité de dioxyde de carbone produite et la quantité d'oxygène consommée. Le quotient respiratoire dépend du type de macronutriments qui est métabolisé pour produire l'ATP. Si le régime alimentaire est principalement constitué de lipides on a un $RQ = 0.7$, s'il est constitué essentiellement de protéines on a un $RQ = 0.8$ et s'il s'agit de glucides on a un $RQ = 1.0$ (Widmaier *et al.*, 2016). Le RQ peut donc être estimé à partir du régime alimentaire des individus mais il peut aussi être directement calculé si l'on peut mesurer à la fois la consommation d'oxygène et la production de dioxyde de carbone.

Cette méthode pour déterminer l'énergie dépensée par un individu durant la locomotion a été utilisée à de nombreuses reprises sur un large éventail d'animaux (pour une revue : Halsey, 2016). A titre d'exemple, cette approche a permis à Hoyt et Taylor (1981) de distinguer la marche, le trot et le galop chez le cheval, chacune de ces démarches correspondant à un coût métabolique minimal sur les plages de vitesse auxquelles elles sont utilisées (Figure 1.7Figure 1.7).

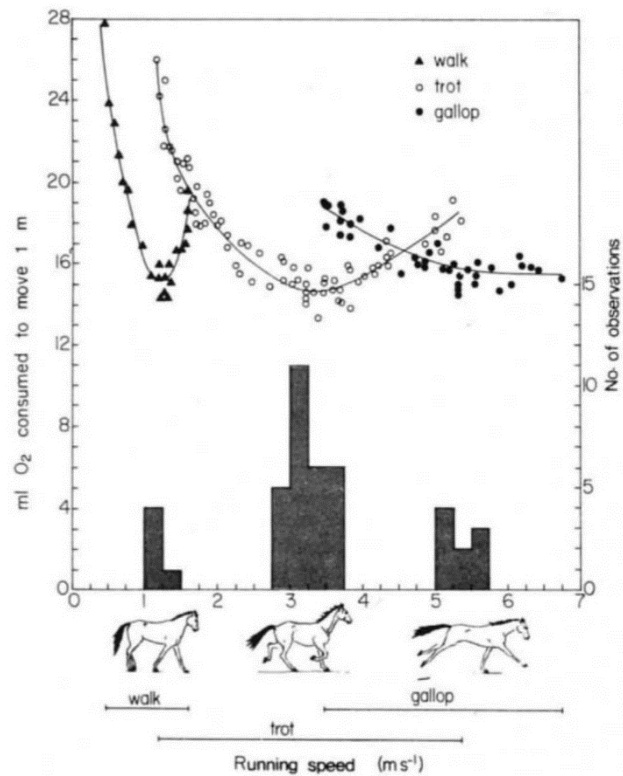


Figure 1.7 : Taux métabolique du cheval en fonction de sa vitesse et de la démarche utilisée. Figure de Hoyt et Taylor (1981)

Cependant, la mesure du taux métabolique souffre de certains inconvénients. En effet, d'une part elle ne prend pas en compte les phénomènes anaérobiques et d'autre part elle ne permet pas de distinguer l'énergie dépensée pour la locomotion de celle nécessaire au fonctionnement général de l'organisme (Kar *et al.*, 2003). On peut tout de même palier au premier point en réalisant les mesures une fois que la locomotion atteint un régime établi, c'est-à-dire une fois que l'ATP est synthétisé par respiration cellulaire et non pas par fermentation lactique. Concernant le second point, la méthode généralement utilisée est de mesurer la quantité d'énergie dépensée par l'individu au repos (*Standard Metabolic Rate*) et de la soustraire aux mesures réalisées en locomotion.

Le taux métabolique a été calculé chez un grand nombre d'animaux. Il est souvent divisé par la vitesse afin d'obtenir la quantité d'énergie dépensée par unité de distance. Ainsi, et contrairement au travail mécanique externe, l'énergie dépensée par unité de masse corporelle et de distance parcourue (appelé aussi coût du transport) diminue lorsque la masse de l'animal augmente (Full *et al.*, 1990; Alexander, 2005). Plusieurs études ont montré que le

taux métabolique pouvait également être estimé à partir de l'accélération du CoM de l'individu durant la locomotion (Yoda *et al.*, 2001; Wilson *et al.*, 2006; Green *et al.*, 2009; Gleiss, Wilson & Shepard, 2011).

1.1.2.5 Approche neurologique de la locomotion

Bien que nous n'ayons pas étudié cet aspect, nous mentionnerons brièvement qu'il existe une littérature très conséquente sur le contrôle neuronal de la locomotion. On peut ainsi trouver des revues sur ce sujet concernant les humains (Dietz, 2003), l'ensemble des mammifères (Guertin, 2009), les insectes (Bidaye *et al.*, 2017) ou l'ensemble des animaux sur lesquels le sujet a été étudié (Kiehn, 2016), ainsi que sur les applications de ces connaissances en robotique (Ijspeert, 2008).

1.2 Les cas de l'insecte et de la fourmi

1.2.1 Les insectes, un type de locomotion unique...

Parmi les animaux pratiquant la locomotion terrestre, les insectes sont particulièrement intéressants à étudier à au moins trois titres. Tout d'abord ils possèdent six pattes, ce qui leur permet des patrons locomoteurs uniques et une stabilité accrue. D'autre part ils possèdent un exosquelette, ce qui modifie la manière dont les muscles agissent sur le squelette ainsi que les propriétés mécaniques du squelette lui-même (Vincent & Wegst, 2004; Taylor & Dirks, 2012). Et enfin ils sont présents dans tous les environnements sur Terre et ont donc évolué pour faire face à des conditions de locomotion très variées.

La démarche classique associée à la locomotion chez l'insecte est la démarche en tripode alterné (Delcomyn, 1981) dans laquelle un ensemble de trois pattes (patte avant et patte arrière ipsilatérales et patte du milieu contralatérale) se balancent en même temps et alternent avec l'ensemble formé par les trois pattes restantes (Figure 1.8).

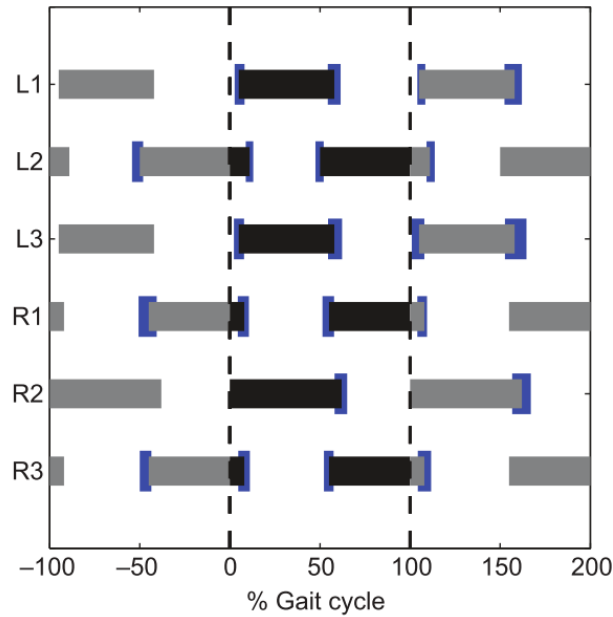


Figure 1.8: Podogramme du tripode alterné pour *Formica Polycytena*. L1, L2 et L3 (resp. R1, R2 et R3) correspondent aux pattes avant, milieu et arrière du côté gauche (resp. droit). Les barres pleines indiquent que la patte est en contact avec le sol. Figure de Reinhardt et al. (2014).

De plus certains insectes peuvent aussi bien se déplacer sur des plans horizontaux que verticaux et même parfois avec la tête en bas grâce à diverses structures anatomiques de leur extrémités tarsales qui leur permettent de s'accrocher au substrat (Beutel & Gorb, 2001; Gorb et al., 2002; Endlein & Federle, 2015; Federle & Labonte, 2019). Les insectes sont ainsi une source d'inspiration pour la conception de robots hexapodes (Lozano et al., 2011; Buschmann et al., 2015; Dupeyroux et al., 2019).

1.2.2 ...modifié en fonction de la situation

Tout comme pour les autres animaux, la locomotion en tripode alterné chez l'insecte peut être altérée par plusieurs facteurs. Ces facteurs peuvent être liés à l'environnement physique, comme les caractéristiques du substrat sur lequel ils se déplacent qui peut être élastique (blattes : Spence *et al.*, 2010), glissant (phasme : Gruhn *et al.*, 2009; blattes : Weihmann *et al.*, 2017) ou granuleux (fourmi : Bernadou *et al.*, 2011), la déclivité du terrain (fourmis : Seidl & Wehner, 2008; Wehner, 2009; Moll *et al.*, 2010; Wöhrle, Reinhardt & Blickhan, 2017 ; phasmes : Diederich, 2006; Grabowska *et al.*, 2012 ; drosophiles : Mendes *et al.*, 2014), la présence d'obstacles (blattes : Watson *et al.*, 2002; Sponberg & Full, 2008), ou encore le vent (blattes :

Full & Koehl, 1993). La locomotion dépend également de l'état physique de l'insecte qui peut varier avec son âge (revue chez les insectes : Ridgel & Ritzmann, 2005) ou être modifié par l'amputation d'une patte (grillons : Fleming & Bateman, 2007) ou encore du bon état de ses retours proprioceptifs (drosophiles : Mendes *et al.*, 2013). Enfin, la locomotion en tripode alterné est aussi modifiée lors de la fuite (blatte : Nye & Ritzmann, 1992; Baba *et al.*, 2010 ; orthoptères : Lagos, 2017), en réaction à une perturbation soudaine (blattes : Jindrich & Full, 2002) et lors du transport de charge (drosophiles : Mendes *et al.*, 2014 ; fourmis : Zollikofer, 1994c; Moll *et al.*, 2013).

1.2.3 La locomotion chez la fourmi

Lors de ma thèse, je me suis intéressé à un insecte en particulier : la fourmi. Bien que la locomotion chez les insectes ait principalement été étudiée chez le phasme (*Carausius morosus*), la blatte (*Blaberus discoidalis* et *Periplaneta americana*) et la drosophile (*Drosophila melanogaster*), la fourmi n'est pas en reste.

En 1994, Zollikofer publia un travail pionnier sous la forme de trois articles rapportant les résultats d'études de la cinématique de la locomotion chez plusieurs espèces de fourmis. Il démontra notamment que la géométrie du tripode chez la fourmi est indépendante de sa vitesse et de ses changements de direction. Lors d'un virage, la fréquence de foulée des pattes du côté intérieur diminue, ce qui provoque une rotation progressive du tripode, mais sans modification de forme (Zollikofer, 1994b). Lorsque la fourmi accélère, la distance entre chaque tripode augmente ainsi que la fréquence de foulée. En particulier, la vitesse (v), la fréquence de foulée (f) et la longueur de foulée (l) sont liées par les équations :

$$\log_{10}(l) = a + b * \log_{10}(v)$$

$$f = \frac{v}{l}$$

Ce qui signifie que, pour chaque vitesse, la fourmi emploie un unique couple longueur de foulée / fréquence de foulée. De plus, ce couple, caractérisé par les paramètres a et b du modèle, peut varier significativement entre espèces (Zollikofer, 1994c). Zollikofer démontra également qu'au moins une espèce (*Cataglyphis bombycina*), pouvait dans certains cas n'utiliser que ses pattes du milieu et ses pattes arrières lors de la locomotion. Ceci l'amena à faire l'hypothèse, vingt ans avant que Reinhardt et Blickhan (2014) ne le confirment, que les

pattes avant ne participent que peu à la propulsion sur surface plane. Reinhardt et Blickhan (2014) ont été ensuite les premiers à estimer les forces de réaction au sol des pattes à l'aide de plate-forme de force miniature (Reinhardt & Blickhan, 2014) et à étudier la dynamique du CoM chez la fourmi (*Formica polyctena*). Ils ont montré notamment que sur surface plane ce sont essentiellement les pattes arrières qui sont les responsables de la propulsion et que les énergies cinétiques et potentielles du CoM sont majoritairement en phase, quelle que soit la vitesse de la fourmi. Ceci, associé à l'absence de phases aériennes, les amènent à conclure que les fourmis utilisent une démarche qu'ils qualifient de « *grounded running* » (cf. Chapitre 1.2.2). Wöhrl *et al.* (2017) ont ensuite montré à leur tour que chez la fourmi *Cataglyphis fortis* les pattes avant ne participent pas à la propulsion sur terrain plat. Par contre, toutes les pattes participent à la propulsion lorsque la déclivité du terrain augmente et toutes les pattes freinent le corps lorsque la déclivité du terrain diminue. En s'interrogeant également sur la locomotion sur terrain pentu, Seidl et Wehner (2008) ont montré que l'augmentation de la déclivité du terrain diminuait la vitesse de *Cataglyphis fortis*, mais sans changer fondamentalement son patron locomoteur. Enfin, Wahl *et al.* (2015) ont montré chez *Cataglyphis fortis* que la durée de la phase d'appui des pattes diminuait lorsque la vitesse augmentait, jusqu'à observer des phases aériennes au-delà de $370 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$.

Par ailleurs, la locomotion chez la fourmi a été beaucoup étudiée d'un point de vue énergétique, c'est-à-dire en utilisant des techniques de respirométrie (à flux constant et à flux continu) pour estimer le taux métabolique lors de la locomotion. Brièvement, on peut noter que ce taux augmente avec la température (Holm-Jensen *et al.*, 1980; Lighton & Bartholomew, 1988; Nielsen & Baroni-Urbani, 1990), la vitesse de la fourmi (Full & Tullis, 1990; Lighton *et al.*, 1993) et la masse de la fourmi. Cependant les coûts énergétiques spécifiques (donc ramenés à la masse de la fourmi) diminuent pour des masses de fourmis croissantes (Lighton *et al.*, 1987; Lighton & Bartholomew, 1988), comme cela est le cas chez tous les animaux, des insectes aux plus gros vertébrés (Figure 1.6).

Un autre aspect affectant la locomotion chez les fourmis et qui a été étudié à plusieurs reprises est le transport de charge. En effet, le transport de charge est l'activité emblématique des fourmis, tant les masses relatives qu'elles sont capables de transporter sont impressionnantes. Au premier siècle avant notre ère, Pline l'ancien écrivait déjà : « Si quiconque compare les charges portées par les fourmis à la masse de leur corps, il devra

avouer qu'aucune créature n'est plus puissante ». Les fourmis transportent en effet tous types d'objets : brindille, larve, cadavre, nourriture (insecte, feuille, herbe, graine), dont certains peuvent peser jusqu'à plusieurs fois leur masse corporelle, ce qui a évidemment un impact sur leur locomotion.

1.2.4 Le transport de charge chez la fourmi

1.2.4.1 La capacité de transport

En fonction des espèces, les fourmis ont différentes manières de déplacer une charge. Elles peuvent s'y prendre à plusieurs (pour une revue sur le transport collectif chez les fourmis voir: Czaczkes & Ratnieks, 2013) ou seules, la porter ou la tirer (Bernadou *et al.*, 2016) et lorsqu'elles portent une charge dans leurs mandibules elles peuvent le faire de différentes façons (en avant, sous leur corps, au-dessus de leur tête ; Figure 1.9). Nous nous intéresserons ici spécifiquement au transport de charge individuel.

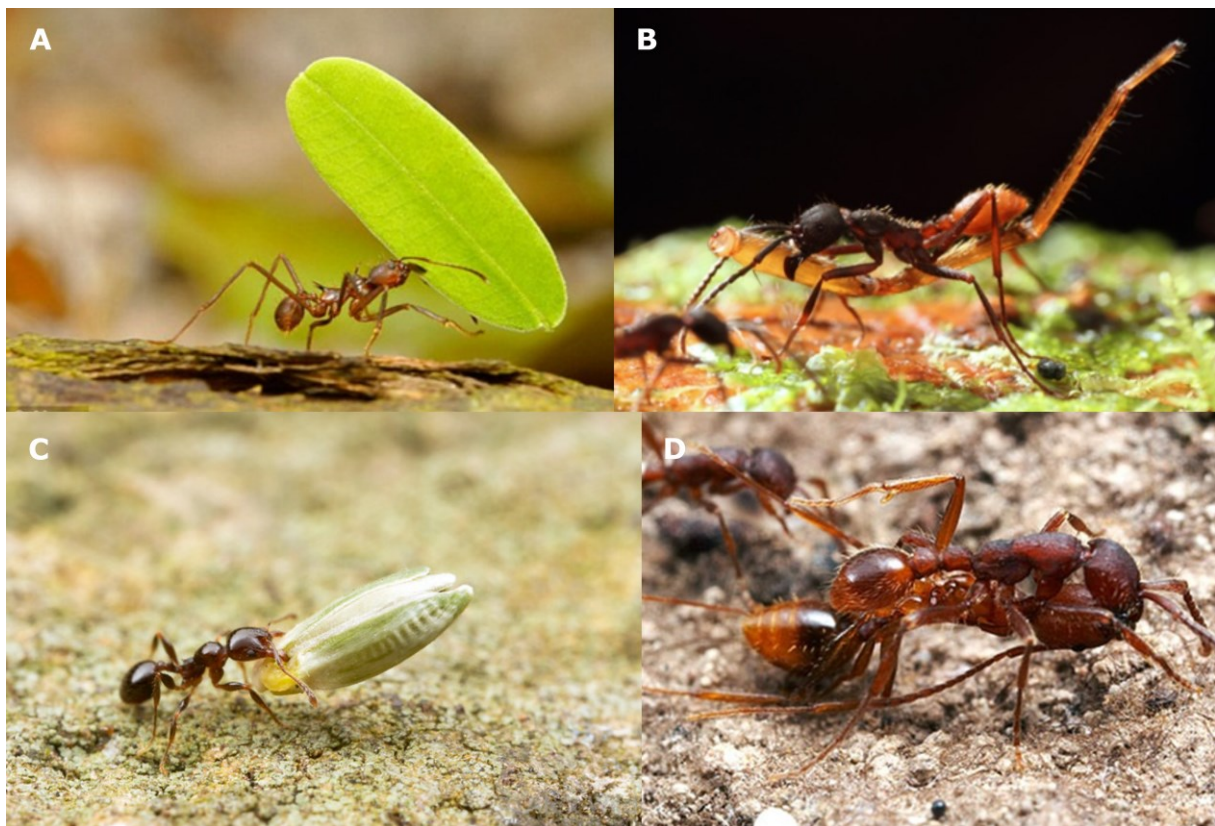


Figure 1.9 : Photos de fourmis portant une charge au-dessus de leur tête (A), sous leur corps (B et D) ou devant elles (C).

Puisque les fourmis peuvent varier sensiblement en masse, ce n'est pas tant la masse de l'objet transporté qui importe, mais sa masse relative. On exprime généralement cette masse relative par le « *load ratio* » (*LR*) qui est défini par l'équation :

$$LR = \frac{m_{ant} + m_{load}}{m_{ant}}$$

où m_{ant} représente la masse de la fourmi et m_{load} la masse de la charge. Lorsque le *LR* est suffisamment faible, les fourmis saisissent la charge avec leurs mandibules, la soulèvent et l'avance. Lorsqu'il est trop élevé, elles tournent autour et tirent tout en marchant à reculons (Figure 1.10 ; Bernadou *et al.*, 2016). On définira ici la capacité de transport comme la valeur du *LR* pour laquelle la transition a lieu entre porter et tirer (i.e. probabilité de tirer = probabilité de porter = 0,5).

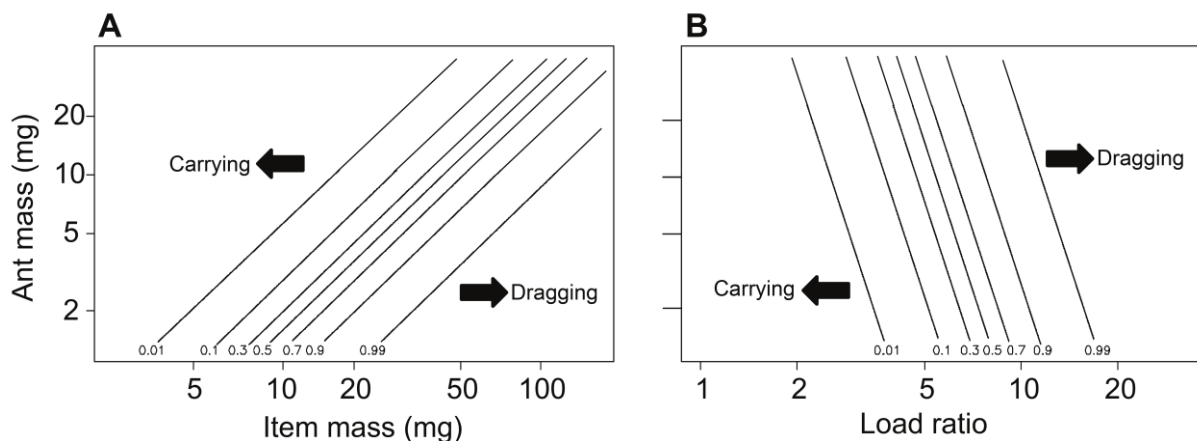


Figure 1.10 : Méthode de transport utilisée par *M. barbarus* en fonction de la masse corporelle de la fourmi, de la masse de la charge et du *LR*. **A** : Probabilité de tirer une charge en fonction de la masse de l'objet transporté et de la masse de la fourmi. $N = 181$ fourmis. **B** : Probabilité de tirer une charge en fonction du *load ratio* et de la masse de la fourmi. $N = 58$ fourmis. Les lignes d'équiprobabilité correspondent aux prédictions d'un modèle mixte linéaire général. Figure provenant de Bernadou *et al.* 2016.

La relation entre la capacité de transport et la masse de la fourmi n'est pas claire. En effet, si les mesures sur le terrain montrent que les grosses fourmis transportent généralement des charges relativement moins importantes que les petites (Bernadou *et al.*, 2016; Burd, 2000), cela pourrait provenir tout simplement du fait qu'il n'y a pas de graines, de feuilles ou de brins d'herbe suffisamment massifs pour leur permettre d'atteindre des *LR* élevés. Une étude récente montre même qu'en augmentant progressivement la masse de la charge transportée,

les grosses ouvrières des fourmis coupeuses de feuilles de l'espèce *Atta cephalotes* ont une capacité de transport équivalente à celle des petites ouvrières (Segre & Taylor, 2019). Théoriquement cependant, l'effet d'échelle voudrait que la masse relative des charges maximales transportées diminuent lorsque la masse de la fourmi augmente. En effet, l'effet d'échelle postule que lorsqu'on compare deux individus de tailles différentes mais de même morphologie, la section des muscles (permettant l'effort musculaire) augmente avec le carré des dimensions linéaires, alors que la masse de l'individu augmente avec le cube. La force qu'une grosse fourmi peut développer ramenée à sa masse est donc plus faible que celle d'une fourmi plus petite. Cependant, des différences de morphologie et/ou de comportement entre individus de taille différentes pourrait partiellement ou totalement compenser cet effet.

1.2.4.2 La locomotion durant transport de charge

Lorsque la charge est trainée, la fourmi marche à reculons. Pfeffer *et al.* (2016) ont montré dans ce cas que pour les pattes avant la fréquence des foulées augmente et la longueur des foulées diminue, alors que ces différences sont marginales pour les autres pattes. De plus, ils observent que cette démarche est très erratique et ne correspond pas à un patron locomoteur établi qui se répète au cours du temps.

Lorsque la charge est portée par les fourmis, son effet le plus évident est de diminuer la vitesse de l'individu (Burd, 2000, 2001; Röschard & Roces, 2002), mais sans changer la relation entre vitesse, fréquence de foulée et longueur de foulée déterminée pour les fourmis non chargées (Zollikofer, 1994a). Cet effet est la conséquence de l'altération de la locomotion causée par la charge. En effet, lorsque la fourmi porte une charge dans ses mandibules, cela a pour effet de déplacer son CoM vers l'avant et de la déséquilibrer. Zollikofer a observé que les fourmis (*Cataglyphis fortis*) transportant une charge placent leurs pattes du milieu et leurs pattes arrières plus latéralement. Il suggère que cette modification permettrait d'augmenter l'effet de levier des pattes agrippées au sol. Plus tard, Moll *et al.* (2013) ont quantifié ce déséquilibre en calculant le « *static stability margin* » (SSM : Ting *et al.*, 1994) c'est-à-dire la distance minimale entre la projection du CoM au sol et les bords du polygone formé par les pattes en contact avec le sol (Figure 1.11).

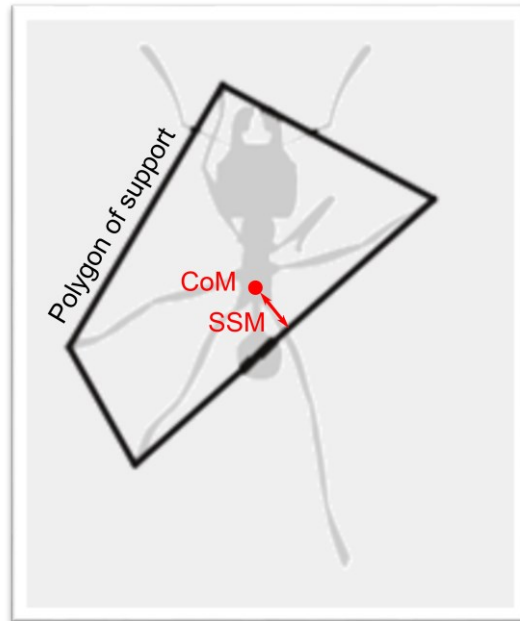


Figure 1.11 : Illustration du calcul du "static stability margin". Le polygone de support est formé par les pattes en contact avec le sol. Le SSM correspond à la distance minimale entre la projection du centre de masse et les bords du polygone de support.

Le SSM est positif si le CoM est à l'intérieur du polygone de support, et négatif autrement. Ils ont montré que les ouvrières de l'espèce de fourmi coupeuse de feuilles *Atta vollenweideri* utilisaient deux stratégies différentes pour garder leur équilibre lorsqu'elles portent des brins d'herbe. Premièrement, les fourmis peuvent ajuster l'angle avec lequel elles portent leur charge en modifiant l'inclinaison de leur tête : les longs brins d'herbes sont portés verticalement afin de réduire le déséquilibre qu'ils engendrent (Moll *et al.*, 2010). Deuxièmement, les fourmis ont en moyenne davantage de pattes en contact avec le sol simultanément, ce qui permet d'augmenter la surface de leur polygone de support et donc de réduire le SSM par rapport à la démarche en tripode (Moll *et al.*, 2013). Cependant, l'augmentation du temps de contact avec le sol de chaque patte a pour effet de réduire la fréquence des foulées, et donc la vitesse de la fourmi.

Le transport de charge a également été beaucoup étudié par respirométrie. Si la charge provoque toujours une augmentation de l'énergie totale dépensée, comme c'est d'ailleurs le cas chez tous les animaux (Taylor *et al.*, 1980), l'idée principale a été de comparer le coût du transport d'une unité de masse de la charge par rapport à celui d'une unité de masse corporelle. Sans entrer dans les détails, deux métriques principales ont été proposées pour

comparer ces coûts : le « *cost of load carriage* » (Herreid & Full, 1986; Schilman & Roces, 2005) et le « *coefficient of load carriage* » (Lighton *et al.*, 1993; Duncan & Lighton, 1994; Duncan, 1995). Ces métriques ont permis de constater que, pour la plupart des espèces de fourmis, les coûts énergétique spécifiques associés à la locomotion et au transport de charge sont équivalents (*Atta colombica* : Lighton *et al.*, 1987; *Eciton hamatum* : Bartholomew *et al.*, 1988 ; *Pogonomyrmex rugosus* : Lighton, Weier & Feener, 1993 ; *Mycmecocystus mendax* : Duncan & Lighton, 1994 ; *Pogonomyrmex maricopa* : Weier *et al.*, 1995 ; *Rhytidoponera aurata* : Nielsen, 2001 ; *Atta vollenweideri* : Moll *et al.*, 2012). Cependant, pour les individus des espèces *Camponotus rufipes* (Schilman & Roces, 2005), *Messor capitatus* (Nielsen and Baroni-Urbani, 1990) et *Pachycondyla berthoudi* (Duncan, 1999), il semblerait que les coûts associés au transport de charge soient plus faibles que ceux associés à la locomotion, alors que c'est l'inverse pour les ouvrières de l'espèce *Atta vollenweideri* (Moll *et al.*, 2012) portant de longues charges et pour les petites fourmis de l'espèce *Pachycondyla analis* chez laquelle il existe un polymorphisme de la caste ouvrière (Duncan, 1995).

A notre connaissance, il n'existe pas d'études concernant la dynamique du CoM pour des fourmis chargées.

1.3 Présentation du modèle, annonce des objectifs et du plan de thèse

1.3.1 Présentation du modèle

L'ensemble de mon travail de thèse a été réalisé sur une seule espèce de fourmi : *Messor barbarus* (Figure 1.12). *M. barbarus* est une espèce de fourmi granivore méditerranéenne, monogyne dont les colonies peuvent comporter plusieurs dizaines de milliers d'ouvrières (Cerdan, 1989).

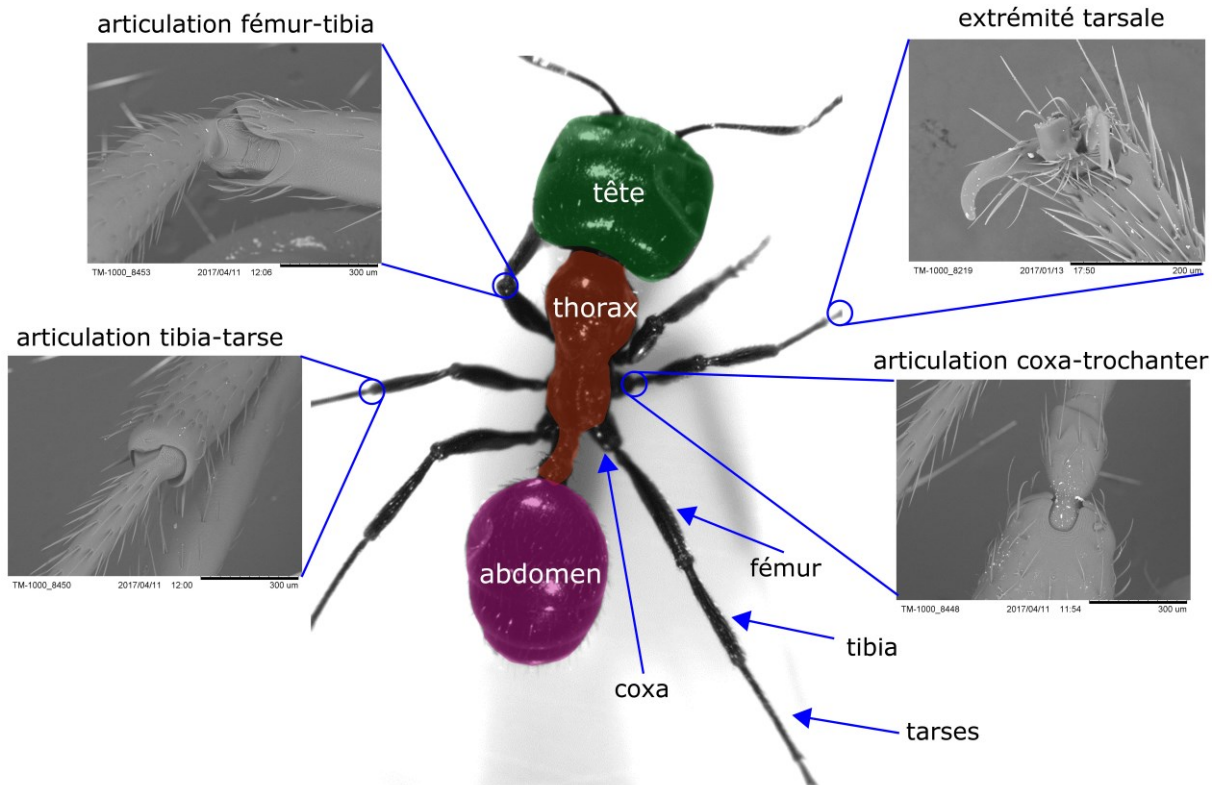


Figure 1.12 : Photo d'une ouvrière *Messor barbarus*. Les images de l'extrémité tarsale et des articulations ont été obtenue par microscopie électronique à balayage (Hitachi TM-1000 Tabletop Microscope). Les différents segments du corps sont coloriés. Dans l'ensemble de ce manuscrit, nous référerons à « thorax » pour désigner l'ensemble (mesosoma + pétiole) et à « abdomen » pour désigner le gaster.

C'est une espèce qui se caractérise par un fort polymorphisme de la caste ouvrière avec des individus dont la longueur du corps peut varier entre 2 et 15 mm et le poids entre 1.5 et 40mg. Le polymorphisme chez *M. barbarus* est régi par des relations allométriques. En effet, la tête des grosses fourmis est plus grosse (Figure 1.13A) et leurs pattes plus courtes par rapport à leur corps (Figure 1.13B) que chez les petites fourmis (Bernadou *et al.*, 2016; Felden 2016). Le fait que la tête des grosses fourmis soit proportionnellement plus grosse déplace leur CoM vers l'avant. Ce déplacement est similaire à celui induit par la charge transportée et pourrait avoir un impact important sur la locomotion.

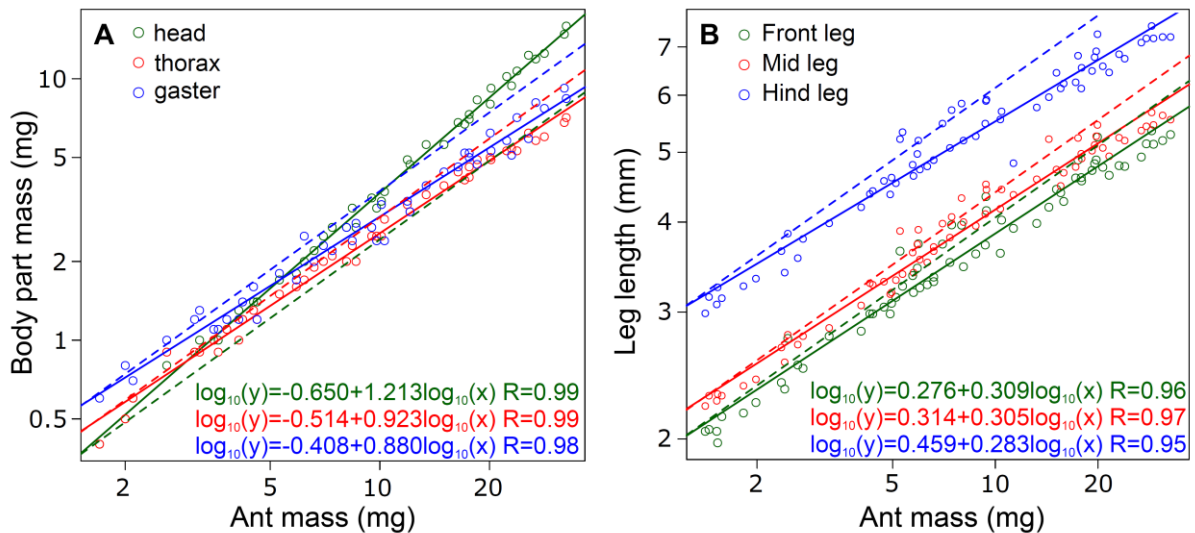


Figure 1.13 : Masse de la tête, du thorax et de l'abdomen en fonction de la masse de la fourmi. **A** : Les lignes pleines représentent un modèle linéaire de la masse de la tête (vert), du thorax (rouge) et de l'abdomen (bleu) en fonction de la masse de la fourmi. Les lignes en pointillées ont une pente de 1 et représentent la relation attendue dans le cas d'une isométrie parfaite. $N = 45$ fourmis. **B** : Les lignes pleines représentent un modèle linéaire de la longueur des pattes avant (vert), milieu (rouge) et arrière (bleu) en fonction de la masse de la fourmi. Les lignes en pointillées ont une pente de $1/3$ et représentent la relation attendue dans le cas d'une isométrie parfaite. $N = 65$ fourmis. Figures réalisées à partir des données de Felden et al. (2014).

L'espèce est reconnaissable à la pigmentation orange / rouge de la tête des ouvrières les plus grosses (Figure 1.14). *M. barbarus* se nourrit principalement de graines bien qu'il lui arrive également de consommer occasionnellement de petits insectes morts (Heredia & Detrain, 2005).

Pour ramener les graines à la colonie, les ouvrières utilisent un réseau de pistes constitué de pistes à longue durée de vie (« *trunk trail* ») et de pistes éphémères (Plowes et al., 2013). Les pistes à longue durée de vie sont des chemins déblayés par les ouvrières qui peuvent mesurer jusqu'à 30 mètres de long (Cerdan, 1989; Reyes, 1986). Elles se divisent souvent en embranchements afin de couvrir davantage de terrain (Acosta et al., 1993; López et al., 1993; Lopez et al., 1994). Le nombre et la longueur de ces embranchements dépend de la disponibilité des ressources dans le milieu. Si les graines sont abondantes, les embranchements sont nombreux et courts, si les graines se font rares, les embranchements deviennent plus longs et peu nombreux (Lopez et al., 1994). Certaines des pistes à longue durée de vie relient des entrées de la colonie entre elles afin de faciliter le trafic. Les pistes

éphémères sont marquées par les fourmis au moyen de phéromones de piste sécrétées par leurs glandes de Dufour (Heredia & Detrain, 2000).



Figure 1.14 : Ouvrière major de *Messor barbarus* portant un charge.

Les graines ramenées proviennent de diverses espèces de plantes qui varient avec l'environnement de la colonie (Reyes-López & Fernández-Haeger, 2002). Elles pèsent généralement entre quatre et cinquante milligrammes (Detrain *et al.*, 2000). Certains auteurs (Rissing & Pollock, 1984; Reyes-López & Fernández-Haeger, 2001) ont noté l'absence de relation entre la masse de la fourmi et la masse de la graine (« *size matching* ») lors du choix de la graine dans les agrégats de nourriture. Une corrélation apparaît cependant lorsqu'on étudie cette relation chez les fourmis qui arrivent au nid après avoir parcouru de longues pistes (Reyes & Fernández Haeger, 1999; Detrain *et al.*, 2000). L'une des explications est que les fourmis se soient échangées les graines durant leur trajet retour (Reyes & Fernández Haeger, 1999; Arnan *et al.*, 2011). Une autre explication est que les petites fourmis portant des charges trop grosses par rapport à leur taille aient été contraintes de les abandonner à certains endroits délicats de la piste où la locomotion est plus difficile (Bernadou *et al.*, 2011). Ces graines auraient alors été récupérées par de plus grosses fourmis qui auraient réussi à franchir l'obstacle. Ces zones de dépôts de graines sont observées sur environ 20 % des pistes (Detrain & Tasse, 2000). Un phénomène similaire a été décrit chez les fourmis coupeuses de feuilles (Röschard and Rocés, 2003).

M. barbarus est donc un modèle très intéressant pour étudier le transport de charge, et ce à plusieurs titres. Tout d'abord, les ouvrières de différentes tailles sont susceptibles de porter différemment leur charge en raison de leurs différences de morphologie et notamment de la position du CoM de plus en plus en avant pour les fourmis de masse croissante. Par ailleurs, les différences de locomotion entre petites et grosses fourmis sont susceptibles d'être similaires aux différences de locomotion entre fourmis non chargées et chargées puisque dans les deux cas le CoM des individus est déplacé vers l'avant.

1.3.2 Objectifs

Durant ma thèse, j'ai étudié la locomotion et le transport de charge pour des fourmis de tailles différentes. J'ai d'abord cherché à caractériser l'influence de la taille de la fourmi sur la locomotion non chargée. Plus spécifiquement, j'ai tenté de déterminer si le déplacement du CoM vers l'avant pour les plus grosses fourmis entraînait un déséquilibre ou si ces fourmis modifiaient leur locomotion par rapport aux fourmis plus petites afin de compenser ce déséquilibre. Puis, j'ai étudié l'impact de la masse relative de la charge transportée sur la locomotion de la fourmi. Notamment, j'ai tenté de déterminer si la locomotion chargée consistait en une démarche distincte de la locomotion non chargée ou si le changement de la locomotion se faisait de façon continue. Par ailleurs j'ai étudié si la modification de la locomotion durant le transport de charge était différente en fonction de la taille de la fourmi et, le cas échéant, si ces différences pouvaient contribuer à expliquer les différences de capacités de transport observées chez *M. barbarus*. Enfin, en utilisant les résultats d'une étude sur le coût énergétique de la locomotion de fourmis chargées et non chargées, j'ai tenté de définir et de calculer une métrique de l'efficacité du transport de charge pour une fourmi donnée lors de l'activité de fourragement. Cette métrique me permet ensuite de faire des prédictions sur les comportements qui seraient attendus si les fourmis agissaient de telle façon à optimiser l'efficacité de leur récolte alimentaire (théorie de l'*optimal foraging*).

1.3.3 Plan de thèse

Ma thèse est organisée en trois chapitres rédigés sous forme d'articles. Les deux premiers chapitres sont rédigés en anglais. Le premier a fait l'objet d'une soumission dans *Journal of*

Experimental Biology et a été accepté sous réserves de modifications mineures. Il n'est cependant pas encore publié et sa mise en page a été adapté pour ce manuscrit. Le second chapitre fera également l'objet d'une soumission dans un journal scientifique à comité de relecture. Ces trois chapitres sont suivi d'une discussion générale dans laquelle je discute des résultats obtenus, émet des critiques sur les méthodes employées et propose des perspectives de futures recherches. Enfin l'annexe jointe à la fin de ce manuscrit est le rapport de stage M2 de Guillaume Bouisset. Son stage s'est réalisé au laboratoire au sein de l'équipe qui m'a accueilli pendant ma thèse et je l'ai supervisé avec mon directeur de thèse Vincent Fourcassié. Il a développé un protocole pour étudier la cinématique et la biomécanique du transport de charge chez la fourmi *Formica rufa*. Si nous n'avons pas directement cherché à comparer les résultats obtenus entre *M. barbarus* et *F. rufa*, son travail donne un aperçu de la variabilité inter-espèces dans la locomotion et le transport de charge chez les fourmis.

Dans le premier chapitre, j'aborde la locomotion et le transport de charge à travers la cinématique. Je présente une expérience durant laquelle j'ai filmé avec des caméras haute résolution et haute fréquence des fourmis de tailles différentes, chargées et non chargées. J'ai quantifié les différentes variables associées au patron locomoteur et à la stabilité de la fourmi et modélisé leur évolution en fonction de la masse de la fourmi et du *load ratio* représenté par la charge. Je discute des modifications du patron locomoteur des fourmis en fonction de leur masse et de la masse de la charge, de leur leur stabilité et de l'importance de l'effet d'échelle pour expliquer les différences observées dans les capacités de transport entre individus de différentes tailles.

Dans le second chapitre, j'utilise la même expérience mais en m'intéressant cette fois à la dynamique du centre de masse de la fourmi. J'ai caractérisé sa trajectoire et calculé les énergies associées. Je détermine également le travail mécanique nécessaire pour soulever et accélérer le centre de masse durant la locomotion et le transport de charge. A nouveau, je modélise et discute de ces variables au regard de la masse de la fourmi et de la masse relative de la charge transportée le cas échéant.

Enfin dans le troisième chapitre je présente des expériences de respirométrie que j'ai réalisées lors d'un séjour à l'Université de Copenhague. Ces expériences avaient pour but d'estimer l'énergie dépensée par les fourmis lors de la locomotion et du transport de charge. Je propose une métrique pour mesure l'efficacité de la récolte et je discute des prédictions que l'on peut

faire à partir de cette métrique en fonction de la masse de la fourmi, de la masse de la charge qu'elle transporte et des caractéristiques de la source de nourriture constituée par cette charge.

2 Cinématique de la locomotion et du transport de charge chez la fourmi *M. barbarus*

2.1 Introduction

The locomotion of animals can be described as a succession of strides that follows a specific inter-leg coordination pattern called gait (Alexander, 2003). In hexapod animals such as insects the most common gait is the alternating tripod (Delcomyn, 1981), in which the animal walks by alternating the movement of two distinct sets of legs (the ipsilateral front and hind leg and the contralateral mid leg, e.g. L1, L3, R2 and R1, R3, L2 respectively, with L for left and R for right), each of which forms a tripod supporting the body. In its ideal form, the two tripods perfectly alternate: all the legs in one tripod group simultaneously lift-off while all the legs of the other tripod group are still on the ground. However, depending on various features of their locomotion, insects can also adopt more complex gait. For example, the pattern of leg coordination can change with locomotory speed (Bender *et al.*, 2011; Wosnitza *et al.*, 2012; Mendes *et al.*, 2013; Wahl *et al.*, 2015), walking curvature (Zolliköfer, 1994a) and direction of movement, i.e. forward or backward movement (Pfeffer *et al.*, 2016). Insects also modify their gait according to the features of the terrain on which they are moving, e.g. when they walk on a non-level substrate (Seidl & Wehner, 2008; Reinhardt *et al.*, 2009; Grabowska *et al.*, 2012; Ramdya *et al.*, 2017; Wöhrl *et al.*, 2017) or when they climb over obstacles (Watson *et al.*, 2002). Another factor that is known to have an effect on leg coordination during locomotion in terrestrial vertebrates (Jagnandan & Higham, 2018) but that has been less studied in insects is the change in the total mass an individual has to put in motion. Changes in total mass can be progressive or sudden and can occur in a variety of situations. For example, it happens in female insects during egg development and after oviposition, autotomy, i.e. the voluntary shedding of a body segment (Fleming & Bateman, 2007; Lagos, 2017), or, in the most common case, when insects are transporting food, either internally, after ingesting liquid, or externally, in their mandibles. In all these situations the change in total mass induces a shift in the center of mass of the insect which can profoundly affect its locomotion.

Ants offer a very good model to study the effect of changes in total mass on walking kinematics for four reasons. First, they are famous for their load carriage performances and can routinely carry loads (prey items, seeds, nest material, nestmates and brood) weighing more than ten times their own mass over tens of meters (Bernadou *et al.*, 2016). When an item is too heavy to be carried alone, ants can also walk backward to their nest and drag it (Bernadou *et al.*, 2016), or they can perform collective load transport (Czaczkes & Ratnieks, 2013). Second, the food collected by ants can be transported internally or externally. The shift in their center of mass

can thus vary both in intensity and direction, which is likely to disrupt their walking kinematics in different ways and makes ants an interesting biological model for the study of the biomechanics of load transport. Third, due to the high number of species in their taxon (Hölldobler & Wilson, 1990), the size and shape of ant bodies is extremely variable, which probably affects differently the kinematics of their locomotion. And fourth, ants live in very diverse environments and can be subterranean, ground-living, or arboreal (Hölldobler & Wilson, 1990), which is bound to constrain their movements and affect their locomotion differently (Gravish *et al.*, 2013; Seidl & Wehner, 2008; Reinhardt *et al.*, 2009; Wöhrl *et al.*, 2017).

The effects of changes in total mass due to load carriage on the walking kinematics of ants have been poorly explored in the ant literature. The main effect of carrying a load in the mandibles is to induce a forward shift of the center of mass of the system formed by the ant and the load they carry. However, according to Hughes (1952), insects could counter this effect and achieve balanced locomotion by using static stability, i.e. by keeping the projection of their center of mass on the horizontal plane within the polygon formed by the legs simultaneously in contact with the ground (called polygon of support). In fact, this is what loaded ants do. For example, *Cataglyphis fortis* workers ensure static stability by placing their front legs in a more forward position when loaded than when unloaded and by reducing their stride length (Zollikofer, 1994b). In the species *Atta vollenweideri*, whose foraging workers carry elongated pieces of grass over their head, ants increase their mechanical stability by increasing the number of legs simultaneously in contact with the ground. They do so by increasing over consecutive steps the overlap between the stance (retraction) phase of the supporting tripod and some of the legs of the other tripod (mostly the front leg) and by dragging their hind legs during the swing (protraction) phase (Moll *et al.*, 2013). These ants also adjust the angle of the load they carry so that the projection of their center of mass on the horizontal plane remains within the polygon of support (Moll *et al.*, 2013).

In this paper, we studied the effect of load carriage on the walking kinematics of the seed-harvesting ant *Messor barbarus*, an ant species that is characterized by a highly polymorphic worker caste, i.e. a high variability in the size of individuals within the same colony. In addition, this polymorphism is characterized by allometric relationships between the different parts of the body (Bernadou *et al.*, 2016), which means that big workers are not an enlarged copy of

small workers but that some of their body parts are disproportionately larger or smaller than those of small workers (Bonner, 2006). In fact, relative to their mass their legs are shorter and their head bigger than those of small workers. Here, we hypothesized that this allometry could lead to differences in unloaded and/or loaded locomotion in different sized workers and thus could explain the differences observed in their load carriage performances (Bernadou *et al.*, 2016). To test this, we ran an experiment in which we compared the kinematics of workers tested first unloaded and then loaded with loads whose relative mass we varied in a systematic way across different sized ants.

2.2 Materials and methods

2.2.1 Studied species and rearing conditions

We used workers from a large colony (~5000 individuals) of *M. barbarus* collected in April 2018 at St Hippolyte (Pyrénées Orientales) on the French Mediterranean coast. *Messor barbarus* is a seed harvester ant whose mature colonies can shelter several tens of thousands individuals (Cerdan, 1989). Its workers display a polymorphism characterized by a continuous monophasic allometry between head mass and thorax length (Heredia & Detrain, 2000; Bernadou *et al.*, 2016). For the sake of clarity, we will hitherto refer to the (mesosoma + petiole) part of the ants as the “thorax”, even if in ants it contains some segments of the abdomen. Individuals in the colony ranged from 1.5 to 40 mg in mass (mean±SD for a random sample of 430 workers: 6.9±5.1 mg) and from 2 to 15 mm in length. The whole colony was kept in a box (LxWxH: 0.50x0.30x0.15 m) with Fluon® coated walls to prevent ants from escaping. Ants nested inside test tubes (length: 20cm; diameter: 2.5cm) covered with opaque paper. They had access *ad libitum* to water and to seeds of various species (canary grass, niger, oats). The experimental room was kept at a constant temperature of 28°C and under a 12:12 L:D regime.

2.2.2 Experimental setup

The setup we used in our experiment was designed and built by a private company (R&D Vision, France. <http://www.rd-vision.com>). It consisted in a walkway (160 x 25mm) covered with a piece of black paper (Canson® Mi-Teintes®, fine grain side, 160g/m²) on which the ants were walking during the experiment. The walkway was surrounded by five synchronized high speed video cameras (JAI GO-5000M-PMCL: frequency: 250Hz; resolution: 30µm/px for the top camera, 20µm/px for the others), one placed above the walkway and four placed on its sides (Figure 2.1). Four infrared strobe spots ($\lambda=850\text{nm}$; pulse frequency: 250Hz),

synchronized with the cameras, were used to illuminate the walkway from above, allowing a better contrast between the ants and the background on the videos. The temperature on the walkway was monitored with an infrared thermometer (MS pro, Optris, USA, <http://www.optris.com>). Over the course of the experiment the mean temperature was (mean \pm SD) 28 ± 1.4 °C.

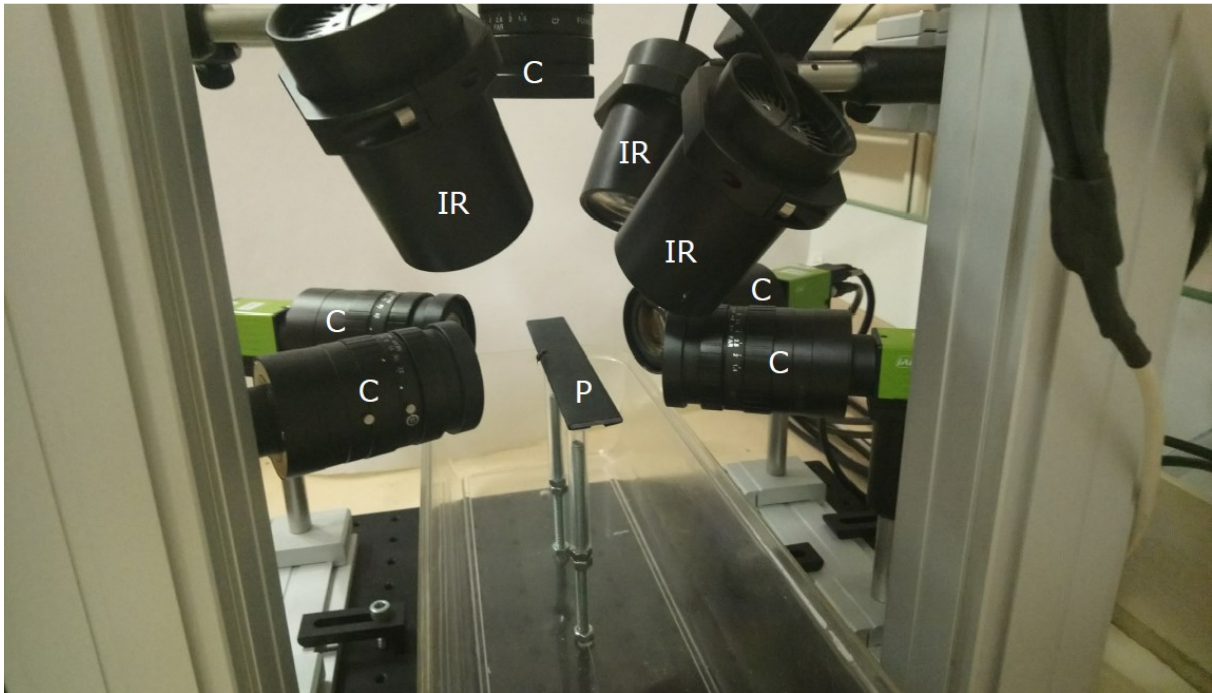


Figure 2.1: Video acquisition system. C: cameras; IR: infra-red spots; P: 25mm wide walkway.

2.2.3 Experimental protocol

All experiments were performed between April and July 2018.

On the first day of a week in which we tested ants, we installed a bridge between the colony and a box in which a few seeds were placed. We then collected during one hour one ant out of three that carried a seed back to the colony. These ants were kept apart and used for the experiment in the following days. We also collected a few ants (weighing between 10-15 mg) to dissect their Dufour gland in order to create an artificial pheromone trail in the middle of the walkway (Heredia & Detrain, 2000). Since ants tended to follow the trail this increased the chance to obtain a straighter path in the middle of the walkway, which allowed us to neglect the effect of path curvature on ant kinematics (Zolliköfer, 1994a). In order to extract the Dufour gland, ants were first anesthetized by placing them in a vial plunged in crushed ice,

then killed by removing their head and fixed on their back with insect pins under a binocular microscope. Their gaster was opened transversally with a scalpel following the first sternite and the ventral part was pulled away. The poison gland and the fat gland were then gently removed until the Dufour gland became visible. This latter was then collected and placed in a hexane solution to extract the trail pheromone. We used a concentration of 1 gland / 20 μ l which has been shown to be sufficient to elicit a clear trail following response in *M. barbarus* workers (Heredia & Detrain, 2000).

Each time an ant was tested, it was picked from the group of ants that had been separated on the first day of the week, then weighed and isolated in a small box with access to water. The ant was first tested unloaded and then loaded with lead fishing weights whose mass ranged from 2 to 100mg. The ant and its load were chosen in order to cover the range of ant mass found in our colony and a range of load ratio (defined as $1 + (\text{load mass}/\text{ant mass})$, see Bartholomew *et al.*, 1988) between 1.2 and 7, corresponding to that of most of the items spontaneously seized and carried by *M. barbarus* workers in the field (Bernadou *et al.*, 2016).

Every five tested ant we made an artificial trail on the walkway by depositing every centimeter with a 10 μ l syringe a droplet of 1 μ l of the solution of Dufour gland extract. To reduce stress, ants were transferred from their individual box to the walkway by letting them climb up and down on a pencil. Once on the walkway, the movement of the ant was recorded as soon as it started to walk along a more or less straight path. The ant was then captured at the end of the walkway and anesthetized by placing it in a vial plunged in crushed ice. It was then fixed dorsally with Plasticine under a binocular microscope with its head maintained horizontally. This allowed us to put a drop of superglue (Loctite, <http://www.loctite.fr>) on the top of its mandibles and to glue a fishing weight. The same procedure as for unloaded ants was then used to film loaded ants. At the end of the experiment the ant was killed and we weighed its head, thorax (with the legs), and gaster separately to the nearest 0.1 mg with a precision balance (NewClassic MS semi-micro, Mettler Toledo, United States). Whether unloaded or loaded, we filmed all ants for at least three strides. We defined a stride period as the time elapsed between two consecutive lift off of the right mid leg. For our analysis, we cropped our videos to a whole number of strides.

2.2.4 Data extraction and analysis

When several video shootings of the same ant had been made, we selected the shootings (top view and one of the side views) in which the ant had the straighter path. As a criteria for path straightness we calculated the ratio of the distance actually traveled by the ant (based on the horizontal trajectory of its center of mass) on the straight line distance between the first and last point of the trajectory and considered that the path was sufficiently straight when this ratio was lower than 1.2.

Several points were tracked with the software Kinovea (version 0.8.15, <https://www.kinovea.org>) on the selected videos. On the top view, the (X, Y) coordinates of the following points were determined on each video frame (Figure 2.2A-C): the extremity of the mandibles, the neck, the junction between the petiole and the gaster, the extremity of the gaster and the spatial position of the leg tarsus during the stance phases. In addition, we tracked the extremity of the load carried by loaded ants. The side view (Figure 2.2B-D) was used to determine the state of each leg during locomotion (i.e. in stance phase, swung or dragged). Assuming a homogeneous distribution of the mass within each body parts, we then computed for each frame the approximate (X, Y) position of the CoM of the three main body parts (plus the load) as the mean of the (X, Y) coordinates of the points located at their two extremities. Finally we computed the horizontal position of the center of mass (CoM) of the ants on each video frame as the barycenter of the CoM of their head, thorax and gaster weighed by their respective mass. In addition, we used these tracked points in order to compute the length of the main body parts of the ants on each frame. The length of their main body parts was then computed as the average length over all frames of a video.

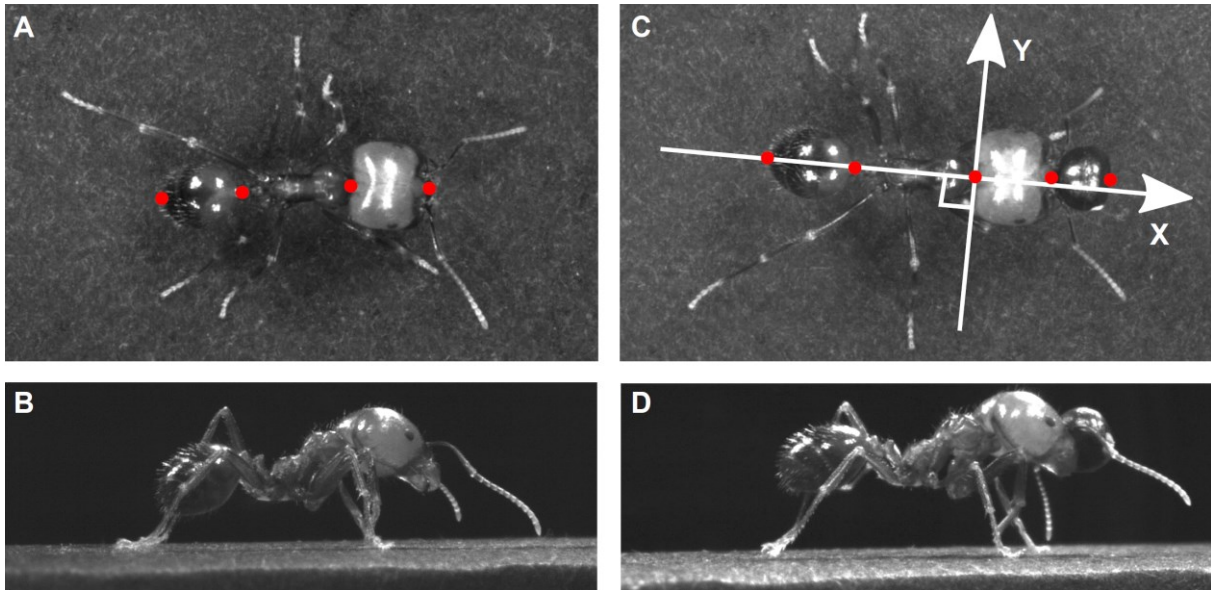


Figure 2.2: Location of the points tracked on each ant. The snapshots show a top view (A, C) and a side view (B, D) of the same ant (ant mass = 32.5mg) tested in unloaded (A, B) and loaded condition (C, D) (load mass = 63mg). In C the X axis corresponds to the longitudinal body axis while the Y axis corresponds to the transverse body axis. The position of the track points are represented in red.

For each video frame we visually determined the state of each leg during locomotion (i.e. in stance phase, swung or dragged) on the side view of the ant and recorded the spatial position of the leg tarsus during the stance phases on the top view. These positions were expressed in a coordinate system centered on the neck of the ant, with the X axis corresponding to the longitudinal axis of its body and the Y axis to the transverse axis (Figure 2.2). In order to compare ants of different sizes, all distances were normalized to the body length of the ant (calculated from the tip of the gaster to the tip of the mandibles).

We computed the duty factor for each leg as the fraction of the stride the leg was in contact with the ground (Ting *et al.*, 1994; Spence *et al.*, 2010). For each leg, we also computed the mean relative position at lift off (Posterior Extreme Position: PEP) and at touch down (Anterior Extreme Position: AEP) by averaging the relative positions of the leg over the strides we filmed. Since the path followed by the ant was straight, we also averaged the values of the right and left leg of each pair of legs when computing the duty factors and relative leg positions. Following Wosnitza *et al.* (2012) and Wahl *et al.* (2015) we calculated step amplitude rather than stride length. For each leg we computed the relative step amplitude (expressed in unit of body length) by averaging the distances between PEP and AEP positions in the ant

coordinate system. Again, because the path followed by the ant was straight, we averaged the values of the right and left leg of each pair of legs when computing relative step amplitude.

We studied inter-leg coordination by comparing the time of lift off of every leg to the time of lift off of the right mid leg (Wosnitza *et al.*, 2013; Wahl *et al.*, 2015). More precisely, we computed, for each leg, the time lag between the leg lift off and the last lift off of the right mid leg. We then divided the value of the time lag by the time elapsed between two successive lift off of the right mid leg. This value was expressed as a phase shift between $-\pi$ and π for each leg. Finally, we used circular statistics (Batschelet, 1981) to compute the mean vector of the distribution of the phase shifts for specific groups of ants. As an indication of how ant gait was close to an ideal alternating tripod locomotion we also computed the Tripod Coordination Strength (TCS) (Wosnitza *et al.*, 2012; Wahl *et al.*, 2015; Ramdya *et al.*, 2017). This index can take values between 0 and 1. A TCS of 1 corresponds to a perfect alternating tripod gait while a TCS of 0 means that the ant performed a completely different type of gait.

Following Moll *et al.* (2013), we also computed for each ant the change over time of the static stability margin (SSM) during locomotion. For every video frame, the SSM was defined as the minimum distance between the projection of the ant CoM on the horizontal plane and the edges of the polygon formed by all legs in contact with the ground, including the dragged legs. The SSM is positive if the projection of the CoM lies inside the polygon, negative otherwise. We used the expression “statically stable locomotion” to refer to the parts of the locomotion in which the ant managed to maintain static stability (i.e., when the SSM was positive) and the expression “statically unstable locomotion” to refer to the parts of the locomotion in which it was not the case (i.e., when the SSM was negative). For each ant, we computed the minimum SSM as well as the percentage of time it was performing statically unstable locomotion.

Tableau 2.1: Relationship between the body mass (in mg) of the ants and the length and relative mass of each of their body part.

Variable	Model prediction for mean(ant mass) \pm CI	Slope for $\log_{10}(\text{ant mass}) \pm$ CI	Adj R ²
Head length (BL)	0.277 \pm 0.0047	0.0369 \pm 0.0126 ***	0.44
Thorax length (BL)	0.428 \pm 0.0053	-0.0376 \pm 0.0141 ***	0.39
Gaster length (BL)	0.297 \pm 0.0056	0.0011 \pm 0.0149 ns	-0.02
Relative head mass	0.385 \pm 0.0071	0.1745 \pm 0.0189 ***	0.89
Relative thorax mass	0.254 \pm 0.0067	-0.0461 \pm 0.0179 ***	0.37
Relative gaster mass	0.293 \pm 0.0108	-0.0862 \pm 0.0286 ***	0.45

Each line gives the results of a linear model describing the relationship between $\log_{10}(\text{ant mass})$ and the length and relative mass of the three main body parts of the studied ants. The first column corresponds to the model prediction \pm 95% confidence interval for the mean value of ant mass (i.e., 11.8 mg). The second column gives the coefficient of the model for $\log_{10}(\text{ant mass}) \pm$ 95% confidence interval for (with the level of significance given by the t value: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; . $p < 0.1$; n.s. $p \geq 0.1$). The third column gives the adjusted R² for the linear model. BL= body length. (N = 45)

In order to investigate whether the decrease in stability we observed in big ants was the same as that one should observe mechanically because of the forward shift of the center of mass of the body or whether this decrease was less than expected because big ants adjusted their gait in order to maintain their stability, we computed a model of an ideal alternating tripod gait and compared the stability data generated by this model to those calculated in real ants. First, we used the allometric relationships we measured between the different body parts of our ants (Tableau 2.1, Figure 1.13A) to model virtual ants of different sizes. Second, we assumed that all ants walk with the same stepping pattern. We computed the leg position as the mean value of the leg positions observed in our experiment for all ants, corrected for the differences in leg length between ants of different sizes (Tableau 2.2, Figure 1.13B). Finally, we followed the same procedure as that described above in order to compute the minimum static stability margin (SSM) and the percentage of statically unstable locomotion for these virtual ants. The data we obtained with these virtual ants were then compared to those obtained in real ants.

Tableau 2.2: Relationship between body mass (in mg) and leg length (in mm)

Variable	Intercept \pm CI	Slope for $\log_{10}(\text{ant mass}) \pm$ CI
$\log_{10}(\text{front leg length})$ (mm)	0.276 ± 0.0073 ***	0.309 ± 0.0075 ***
$\log_{10}(\text{mid leg length})$ (mm)	0.314 ± 0.0064 ***	0.305 ± 0.0066 ***
$\log_{10}(\text{hind leg length})$ (mm)	0.459 ± 0.0075 ***	0.283 ± 0.0075 ***

Each line gives the results of a linear model describing the relationship between $\log_{10}(\text{ant mass})$ and $\log_{10}(\text{leg length})$. The first column corresponds to the model intercept \pm 95% confidence interval. The second column gives the coefficient for $\log_{10}(\text{ant mass}) \pm$ 95% confidence interval (with the level of significance given by the t value: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; . $p < 0.1$; n.s. $p \geq 0.1$). The third column gives the adjusted R^2 for the linear model. Data from Felden et al. (2014). (N= 65)

We performed all data analysis and designed all graphics with R (version 3.5.1) run under RStudio (version 1.0.136). For unloaded condition, we expressed all kinematic variables as a linear function of the decimal logarithm of ant mass. For loaded condition, because the same ants were tested loaded and unloaded, we calculated the difference in the value of each kinematic variable between loaded and unloaded conditions and expressed it as a linear function of both the decimal logarithm of ant mass and the decimal logarithm of load ratio.

The dataset used for this study is available at <http://doi.org/10.5281/zenodo.2646485>.

Tableau 2.3: Influence of body mass (in mg) on the kinematics of unloaded ants (N = 45).

Variable		Model prediction for mean(ant mass) \pm CI	Slope for log(ant mass) \pm CI	Adj R ²	
Global kinematics	Relative speed (BL.s-1)	3.918 \pm 0.206	-2.831 \pm 0.546 ***	0.71	
	Stride frequency	4.578 \pm 0.196	-2.004 \pm 0.520 ***	0.57	
	Relative stride amplitude front leg (BL)	0.471 \pm 0.015	-0.040 \pm 0.040 *	0.07	
	Relative stride amplitude mid leg (BL)	0.559 \pm 0.018	-0.083 \pm 0.046 ***	0.21	
	Relative stride amplitude hind leg (BL)	0.425 \pm 0.014	-0.103 \pm 0.038 ***	0.4	
Gait	Front legs	0.635 \pm 0.008	0.063 \pm 0.021 ***	0.45	
	Duty factor	Mid legs	0.675 \pm 0.010	0.060 \pm 0.025 ***	0.33
		Hind legs	0.615 \pm 0.015	0.043 \pm 0.040 *	0.08
	% of time the hind legs were dragged	23,25 \pm 2,638	-1,522 \pm 6,991 ns	0	
	Mean number of legs in contact with the ground	4.306 \pm 0.039	0.309 \pm 0.103 ***	0.45	
	Tripod Coordination Strength (TCS)	0.620 \pm 0.035	-0.114 \pm 0.092 *	0.11	
Leg positioning	AEP (BL)	Front legs X	0.391 \pm 0.010	-0.011 \pm 0.027 ns	0
		Front legs Y	0.218 \pm 0.011	0.058 \pm 0.028 ***	0.27
		Mid legs X	-0.015 \pm 0.014	-0.006 \pm 0.037 ns	0
		Mid legs Y	0.575 \pm 0.009	0.006 \pm 0.024 ns	0
		Hind legs X	-0.680 \pm 0.012	0.010 \pm 0.032 ns	0
		Hind legs Y	0.383 \pm 0.009	0.008 \pm 0.025 ns	0
	PEP (BL)	Front legs X	-0.085 \pm 0.011	0.066 \pm 0.029 ***	0.31
		Front legs Y	0.228 \pm 0.013	0.068 \pm 0.035 ***	0.25
		Mid legs X	-0.569 \pm 0.014	0.076 \pm 0.037 ***	0.26
		Mid legs Y	0.545 \pm 0.009	0,002 \pm 0.024 ns	0
		Hind legs X	-1.115 \pm 0.014	0.129 \pm 0.037 ***	0.53
		Hind legs Y	0.426 \pm 0.010	0.020 \pm 0.027 ns	0.03
Static stability	Mean X position of the CoM (BL)	-0,171 \pm 0,006	0.123 \pm 0.016 ***	0.85	
	Minimum static stability margin (BL)	-0.058 \pm 0.014	-0.041 \pm 0.036 *	0.09	
	% of statically unstable locomotion	4,402 \pm 0,999	2,950 \pm 2,647 *	0.08	

Each line gives the results of a linear model describing the influence of $\log_{10}(\text{ant mass})$ on each kinematics variables studied. The first column corresponds to the model prediction \pm 95% confidence interval for the mean value of ant mass (11.8 mg). The second column gives the effect of ant mass expressed by the slope \pm 95% confidence interval for $\log_{10}(\text{ant mass})$ (with the level of significance given by the t value: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; . $p < 0.1$; n.s. $p \geq 0.1$). The third column gives the adjusted R² for the linear model. BL= body length.

2.3 Results

2.3.1 Unloaded ants: influence of body mass (Tableau 2.3)

Stride frequency ($F_{1,43}=64.82$, $P<0.001$) and relative step amplitude for every leg (front leg: $F_{1,43}=4.1$, $P=0.049$; mid leg: $F_{1,43}=13.0$, $P<0.001$; hind leg: $F_{1,43}=30.0$, $P<0.001$) decreased with ant mass. As a result, the relative speed decreased with ant mass as well ($F_{1,43}=109.2$, $P<0.001$; Figure 2.3). Thus, relative to their size, big ants move more slowly than small ants. However, absolute speed did not depend on ant mass (mean \pm SD: 29.1 \pm 4.5 mm.s⁻¹)

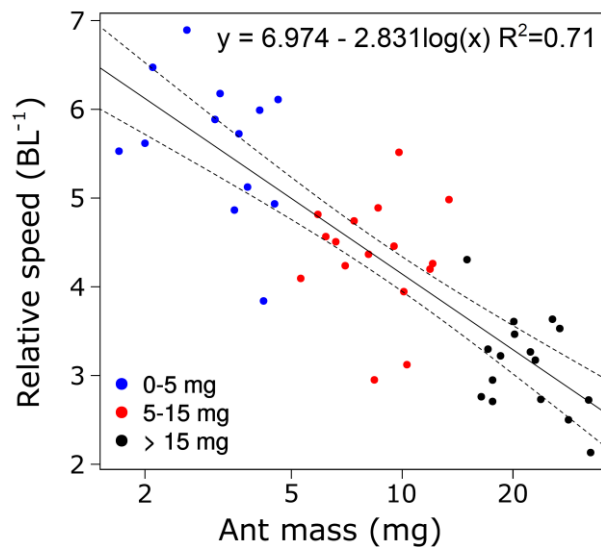


Figure 2.3: Relative speed as a function of ant mass for unloaded ants. The straight line gives the prediction of a linear regression model ($F_{1,43} = 115.7$, $P<0.001$) and the dashed lines gives the 95% confidence interval of the slope of the regression line ($N= 45$ ants).

The duty factor of all legs increased with increasing ant mass, particularly for the front ($F_{1,43}=36.7$, $P<0.001$) and mid ($F_{1,43}=22.6$, $P<0.001$) legs (Figure 2.4A-C). Therefore, compared to small ants big ants tend to have more legs in contact with the ground during a stride ($F_{1,43}=36.4$, $P<0.001$). The front and mid legs were almost never dragged by the ants. However, independent of ant mass, hind legs were dragged during 23 % of a stride on average.

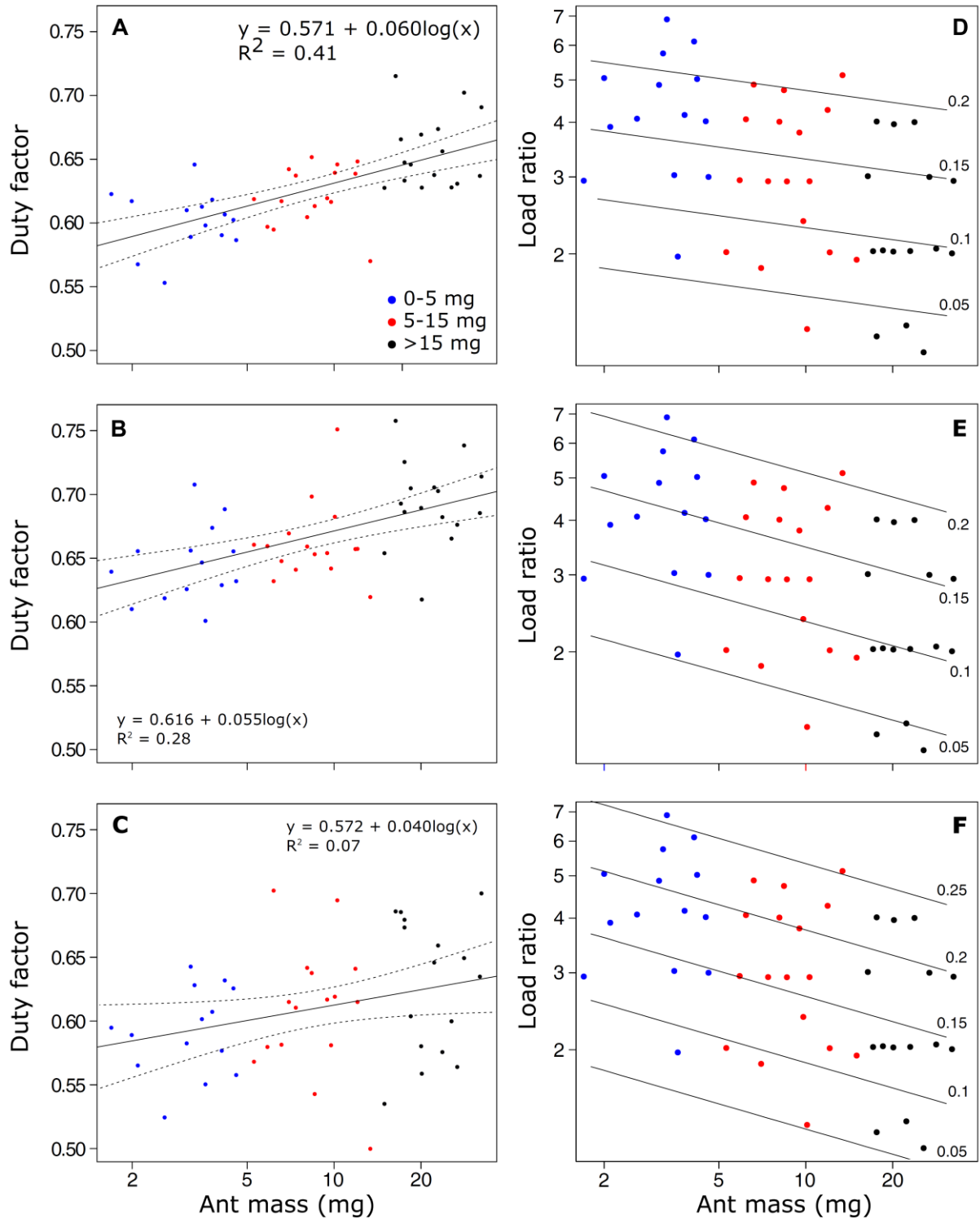


Figure 2.4: A-C: Duty factor as a function of ant mass for the front (A), mid (B) and hind (C) legs during unloaded locomotion. The straight lines give the predictions of a linear model and the dotted lines the 95% confidence interval of the slope of the regression line. D-F: Change in duty factor as a function of ant mass and load ratio for the front (D), mid (E) and hind (F) legs. The lines of equal changes in duty factor values are given by a general linear model (see Tableau 2.2 of the manuscript). The points represent tested ants. $N = 45$ ants.

In an ideal alternating tripod gait, all legs of a tripod lift off simultaneously. In actual locomotion however, there is no such perfect synchronization. Nevertheless, the alternating tripod gait model still holds if the time interval between the lift off of the three legs of the same tripod is small. Figure 2.5A shows that the ants' gait is very close to an ideal tripod gait (see also a podogram example Figure 2.6A). However, for bigger ants, the front legs tended to lift off slightly after the mid and hind legs of the same tripod. As a result, the TCS slightly decreased for bigger ants ($F_{1,43}=6.3$, $P=0.016$).

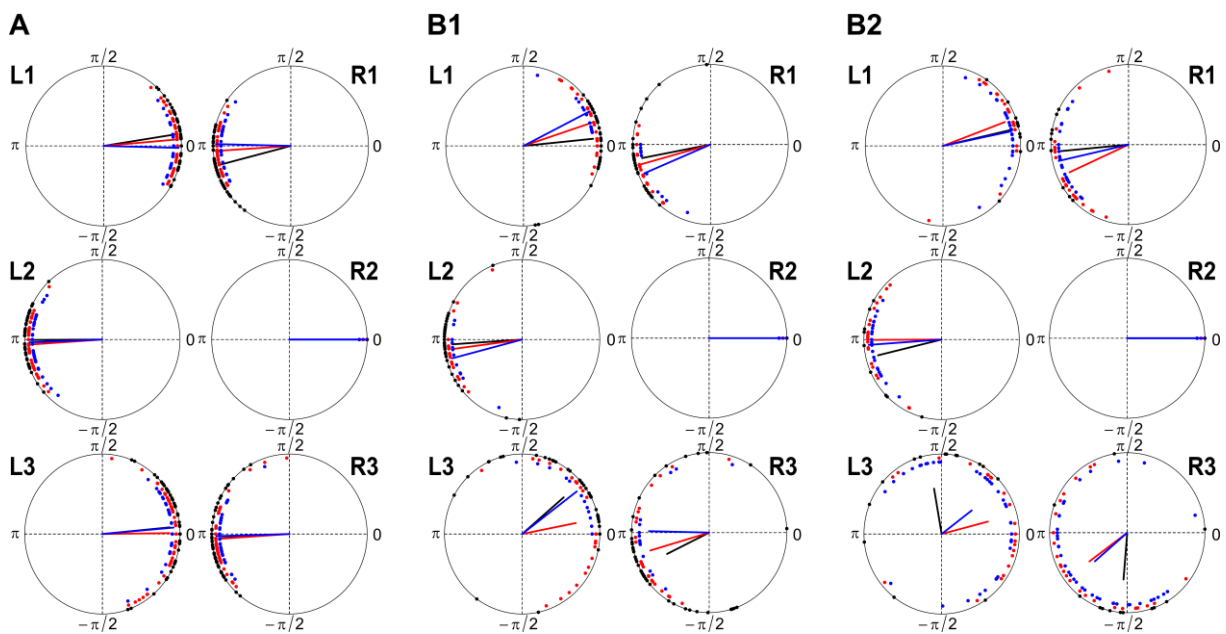


Figure 2.5: Phase plots of lift off onset of all legs with respect to the right mid leg (R2) **A** - unladen ants ($N_{0-5mg} = 13$; $N_{5-15mg} = 16$; $N_{>15mg} = 15$); **B** - laden ants; **B1** - Load Ratio ≤ 3.5 ($N_{0-5mg} = 4$; $N_{5-15mg} = 9$; $N_{>15mg} = 12$); **B2** - Load Ratio > 3.5 ($N_{0-5mg} = 9$; $N_{5-15mg} = 7$; $N_{>15mg} = 3$). R, right; L, left; blue: data for small ants (0-5mg); red: data for intermediate ants (5-15mg); black: data for big ants (>15mg); lines: mean vector - length is inversely proportional to dispersion.

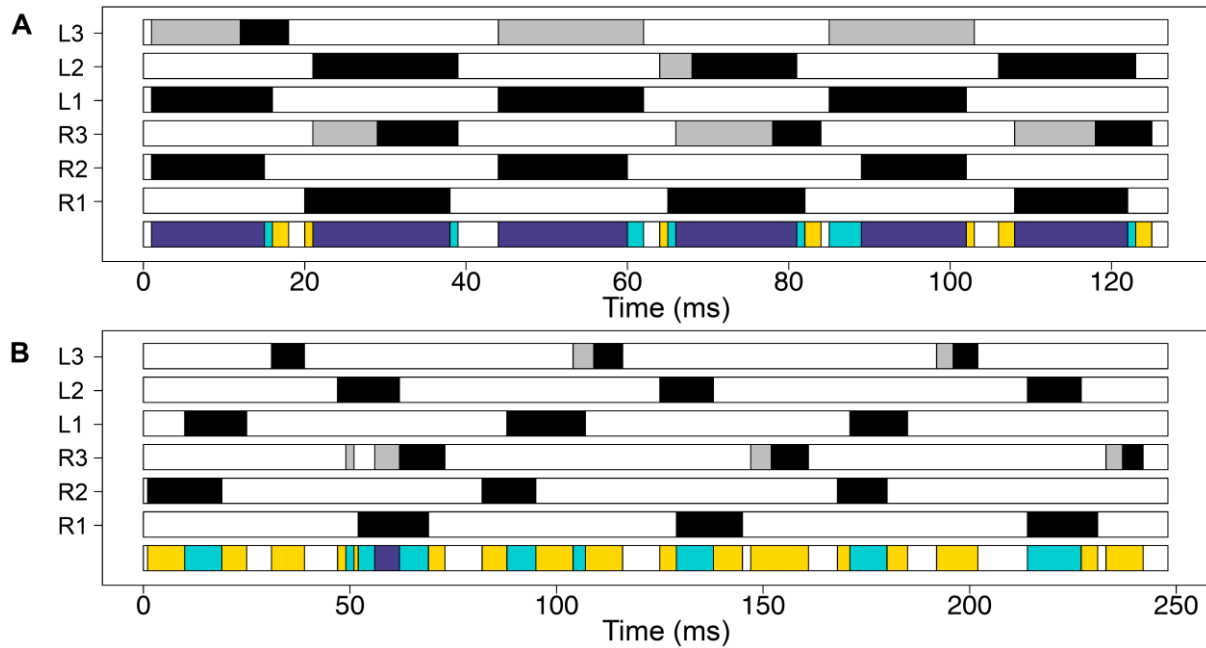


Figure 2.6: Example of inter-leg coordination for one ant (ant mass = 3.1 mg) during unloaded (A) and loaded (B) locomotion (Load Ratio = 4.9). R1, R2, R3: right front leg, mid leg and hind leg; L1, L2, L3: left front leg, mid leg and hind leg. Black bars represent swing phases, white bars represent stance phases while grey bars represent dragging. The bottom line represents the number of legs in contact with the ground (including dragged legs): six (white), five (yellow), four (light blue) or three (purple).

The front legs tended to be positioned at a larger distance from the longitudinal body axis (Y position) in big ants compared to small ants both at touch down (AEP) ($F_{1,43}=17.5$, $P<0.001$) and lift off (PEP) ($F_{1,43}=15.5$, $P<0.001$). All legs, especially the hind legs, tended to be positioned in a more forward position (X position) at lift off (PEP) in big ants compared to small ants (front legs: $F_{1,43}=20.4$, $P<0.001$; mid legs: $F_{1,43}=16.6$, $P<0.001$; hind legs: $F_{1,43}=50.5$, $P<0.001$) (Figure 2.7A).

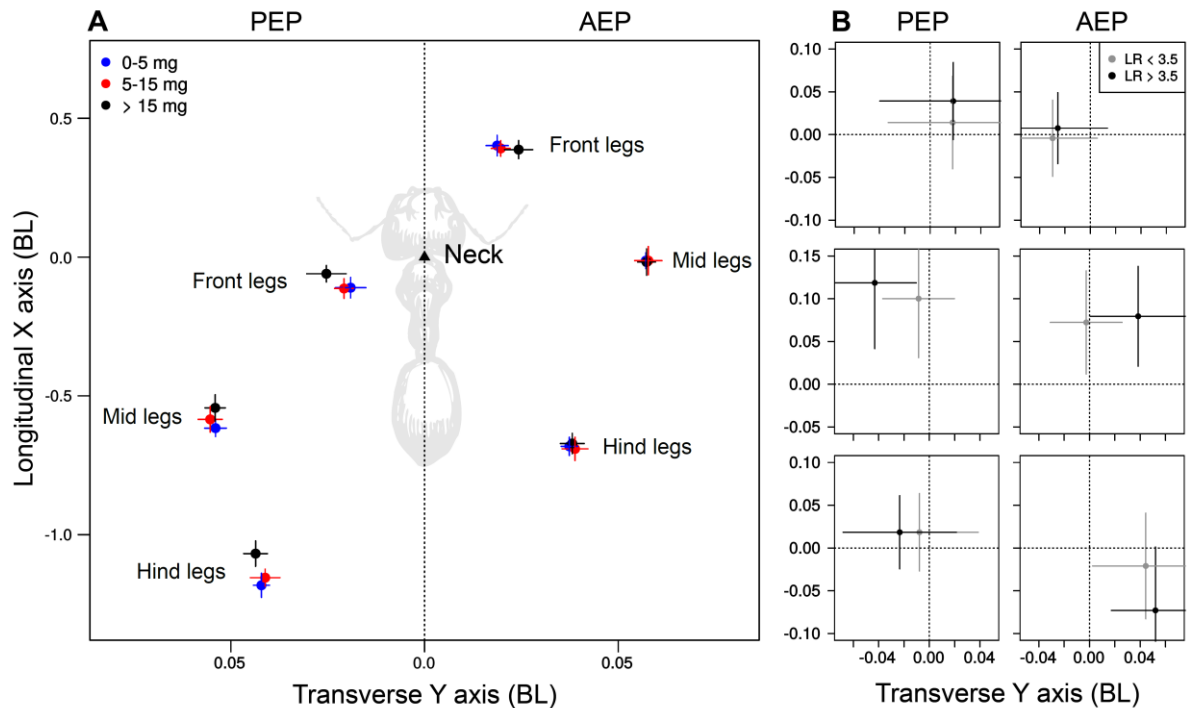


Figure 2.7: Footfall geometry of ants during locomotion. **A:** Unloaded ants; the mean position of the front, mid, and hind legs during lift off (PEP) and touch down (AEP) along with their standard deviation is shown for different ranges of ant body masses ($N_{0-5mg} = 13$, $N_{5-15mg} = 16$, $N_{>15mg} = 16$). **B:** Loaded ants; changes in leg positions at lift off (PEP) and touch down (AEP) when ants were walking loaded compared to when they were walking unloaded. The origin corresponds to the leg position for unloaded ants. The average change in position over three strides along with their standard deviation is shown. Ants were categorized in two groups depending on load ratio ($N_{LR<3.5} = 26$, $N_{LR>3.5} = 19$). The scale is in units of body length.

The static stability margin decreased during a stride and reached a local minimum value just before touch down of one of the front legs (Figure 2.8A & 28). The minimum value of the static stability margin also decreased in large ants ($F_{1,43} = 4.7$, $P = 0.036$). This can be explained by the forward shift in the horizontal position of the CoM in ants of increasing size ($F_{1,43} = 254$, $P < 0.001$). Moreover, the percentage of time an ant moved in statically unstable locomotion (i.e. with an $SSM < 0$) increased with ant mass ($F_{1,43} = 5.0$, $P = 0.030$, compare Figures 2.8A & 2.8B). When the SSM was negative, it was always due to the CoM being in an anterior position to the polygon of support. Therefore, small ants have generally a more balanced locomotion than big ants.

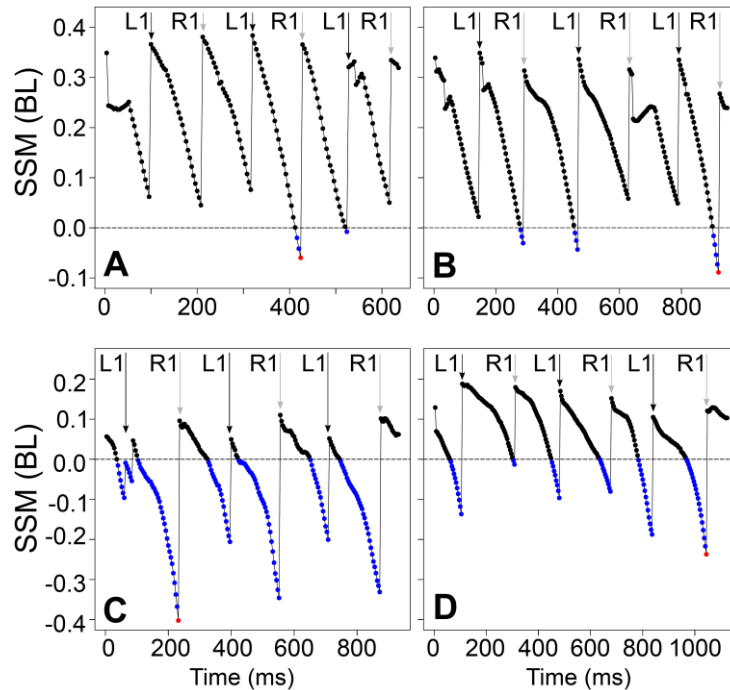


Figure 2.8: Time variation of the Static Stability Margin (SSM). The value of SSM for unloaded (A-B) and loaded (C-D) ants, normalized by body length, is shown during three consecutive strides for a small ant (A-C) (ant mass = 4.2 mg, LR = 5.0) and a big ant (B-D) (ant mass = 32.1 mg, Load Ratio = 2.0). Black and grey arrows represent R1 and L1 touched down, respectively, blue dots correspond to negative SSM and red dots correspond to the minimum SSM.

Whether large ants are able to adjust their locomotory behavior to compensate, at least partly, the decrease in stability due to their CoM being placed in a more forward position can be answered by our ideal alternating tripod gait model. The slope of the regression line describing the relationship between the minimum static stability margin and the percentage of statically unstable locomotion against $\log_{10}(\text{ant mass})$ in our modeled ants was -0.142 and 18.3, respectively. These values are larger than those found in real ants (mean \pm CI_{0.95}; -0.041 \pm 0.036 and 2.95 \pm 2.65, respectively, see Tableau 2.3). Thus, if all ants were walking with an ideal alternating tripod gait, the effect of the forward shift of the CoM in large ants would be more important than what we observed in our experiment. We conclude that big ants are somehow able to adjust their locomotion in order to increase their static stability.

Tableau 2.4 : Influence of body mass (mg) and load ratio on the changes in kinematics between unloaded and loaded locomotion (N = 45).

Variable		Model prediction for mean(ant mass) and LR=1 ± CI	Slope for log(ant mass) ± CI	Slope for log(load ratio) ± CI	Adj. R ²	
Global kinematics	Δ Relative speed (BL.s-1)	-0.199 ± 0.741	0.938 ± 0.817 *	-3.519 ± 1.573 ***	0.51	
	Δ Stride frequency	-0.327 ± 0.595	0.562 ± 0.656 .	-2.762 ± 1.263 ***	0.46	
	Δ Relative stride amplitude front leg (BL)	0.011 ± 0.057	-0.052 ± 0.063 ns	-0.063 ± 0.121 ns	0.02	
	Δ Relative stride amplitude mid leg (BL)	0.003 ± 0.072	0.006 ± 0.079 ns	-0.062 ± 0.152 ns	0	
	Δ Relative stride amplitude hind leg (BL)	0.027 ± 0.060	0.004 ± 0.066 ns	-0.134 ± 0.126 *	0.09	
Gait	Δ Duty factor					
	Front legs	-0.013 ± 0.029	0.029 ± 0.032 .	0.319 ± 0.061 ***	0.74	
	Mid legs	-0.004 ± 0.038	0.054 ± 0.042 *	0.293 ± 0.081 ***	0.54	
	Hind legs	0.018 ± 0.057	0.064 ± 0.062 *	0.322 ± 0.120 ***	0.39	
	Δ % of time the hind legs were dragged	-12,10 ± 8,189	1,005 ± 9,034 ns	-8,107 ± 17,39 ns	0	
Δ Mean number of legs in contact with the ground	-0.246 ± 0.155	0.318 ± 0.171 ***	1.734 ± 0.330 ***	0.72		
Δ Tripod Coordination Strength (TCS)	0.036 ± 0.160	-0.108 ± 0.177 ns	-0.688 ± 0.340 ***	0.26		
Leg positioning	Δ AEP (BL)	Front legs X	-0.017 ± 0.039	0.008 ± 0.043 ns	0.040 ± 0.082 ns	0
		Front legs Y	-0.019 ± 0.032	-0.034 ± 0.035 .	-0.028 ± 0.067 ns	0.04
		Mid legs X	0.055 ± 0.053	0.009 ± 0.058 ns	0.045 ± 0.112 ns	0
		Mid legs Y	-0.034 ± 0.030	0.014 ± 0.034 ns	0.108 ± 0.065 **	0.19
		Hind legs X	0.018 ± 0.058	0.040 ± 0.064 ns	-0.119 ± 0.123 .	0.16
		Hind legs Y	0.015 ± 0.031	0.053 ± 0.034 **	0.084 ± 0.066 *	0.17
	Δ PEP (BL)	Front legs X	-0.030 ± 0.043	0.030 ± 0.047 ns	0.125 ± 0.091 **	0.12
		Front legs Y	0.001 ± 0.043	-0.075 ± 0.048 **	-0.060 ± 0.092 ns	0.15
		Mid legs X	0.060 ± 0.063	0.003 ± 0.070 ns	0.101 ± 0.134 ns	0.02
		Mid legs Y	-0.029 ± 0.026	0.033 ± 0.028 *	0.120 ± 0.055 ***	0.29
		Hind legs X	0.008 ± 0.039	0.029 ± 0.043 ns	0.030 ± 0.082 ns	0
Hind legs Y	-0.030 ± 0.037	0.056 ± 0.041 **	0.110 ± 0.079 **	0.16		
Static stability	Δ Mean X position of the CoM (BL)	0.099 ± 0.022	-0.077 ± 0.025 ***	0.468 ± 0.048 ***	0.94	
	Δ Minimum static stability margin (BL)	-0.144 ± 0.063	0.136 ± 0.070 ***	-0.127 ± 0.138 .	0.43	
	Δ % of statically unstable locomotion	-3,748 ± 9,986	-1,753 ± 11,02 ns	91,92 ± 21,21 ***	0.68	

Each line gives the result of a linear model describing the influence of $\log_{10}(\text{ant mass})$ and $\log_{10}(\text{load ratio})$ on the changes of kinematics variables. The first column corresponds to the model prediction for the mean value of ant mass (11.8 mg) and a load ratio of 1 (unloaded ant). The second column gives the coefficient for $\log_{10}(\text{ant mass})$ and the third column the coefficient for $\log_{10}(\text{load ratio})$ (with the level of significance given by the t value: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; . $p < 0.1$; n.s. $p \geq 0.1$). The last column gives the adjusted R² for the linear model. BL= body length

2.3.2 Loaded ants: influence of ant body mass and load ratio (Tableau 2.4)

Figure 2.9 shows the values of load ratio tested for ants of different body masses. Depending on the value of the load ratio, ants exhibited two kinds of behaviors when loaded. They could either keep the load lifted above the ground during locomotion or they could maintain their head in a very slanted position and push the load in front of them. We called the first behavior “carrying” and the second “pushing”. The criteria we used to distinguish between the two behaviors is based on whether or not the load glued on the ant mandibles was in contact with the ground during locomotion. We used a logistic regression model to investigate the effect of ant mass, load ratio, and the interaction between these two variables, on the probability of using pushing vs. carrying behavior to transport the load. The results show a marginally significant interaction between ant mass and load ratio ($z = -1.985$, $P = 0.047$). Pushing generally occurred for load ratio higher than five for ants above 10mg, while for ants of lower body mass both carrying and pushing could be observed for load ratio higher than four (Figure 2.9). We will only consider ants that carry their load in the following analyses.

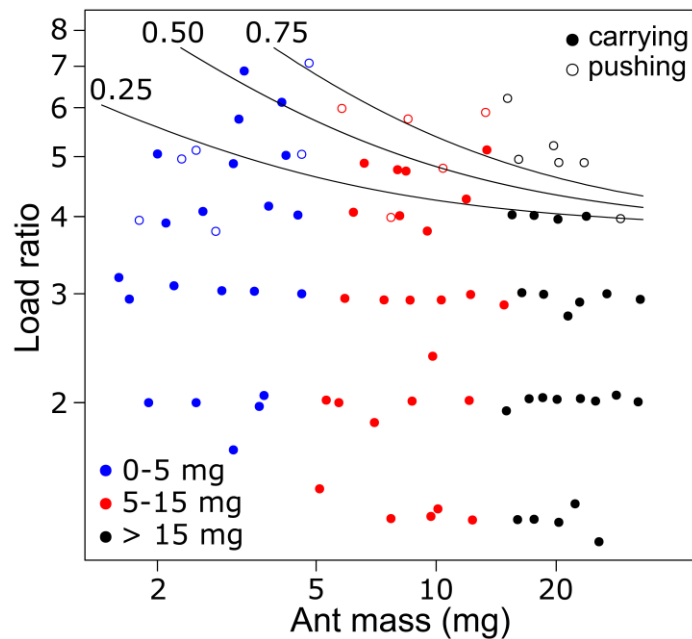


Figure 2.9: Transportation method used by ants during locomotion. Probability of pushing a load as a function of ant mass and load ratio. The lines of equal probability were calculated by a logistic regression model ($N = 86$ ants).

Independent of ant mass, stride frequency decreased with increasing load ratio ($F_{2,42}=19.7$, $P<0.001$). Relative step amplitude was independent of load ratio for front and mid legs but decreased for hind legs ($F_{2,42}=3.2$, $P=0.051$). Consequently, ant relative speed decreased with increasing load ratio ($F_{2,42}=23.6$, $P<0.001$). However, for ants transporting equivalent loads there was no effect of body mass on both stride frequency and relative step amplitude.

Independent of ant mass, the duty factor increased for the front ($F_{2,42}=62.2$, $P<0.001$), mid ($F_{2,42}=27.1$, $P<0.001$) and hind legs ($F_{2,42}=14.9$, $P<0.001$) for increasing load ratio and, independent of load ratio, the duty factor increased with ant mass, confirming the results obtained on unloaded ants (Figure 2.4D-F). The mean number of legs simultaneously in contact with the ground increased for increasing load ratio independent of ant size and, to a lesser extent, increased for increasing body mass independent of load ratio ($F_{2,42}=57.7$, $P<0.001$). Similar to what occurred when ants were unloaded, the front and mid legs were almost never dragged during locomotion when ants were loaded.

When the ants were walking loaded their mid and hind legs tended to be more distant from their longitudinal body axis (Y position) with increasing load ratio, both during lift off (mid legs: $F_{2,42}=10.0$, $P<0.001$; hind legs: $F_{2,42}=5.3$, $P=0.009$) and touch down (mid legs: $F_{2,42}=6.1$, $P=0.005$; hind legs: $F_{2,42}=5.5$, $P=0.007$) (Figure 2.7B).

While performing loaded locomotion, ants did not exhibit the same inter-leg coordination pattern than during unloaded locomotion (Figure 2.5). First, there was more dispersion in phase shift between legs for loaded ants, especially for the hind legs and for high values of load ratio (>3.5 , see Figure 2.5B2). Second, the three legs of the same tripod tended to lift off in a specific order (i.e. mid leg \rightarrow front leg \rightarrow hind leg). This was especially clear for the hind leg, which was the last to lift off in each tripod. This order seems to be more strictly followed for higher load ratio and for bigger ants (Figure 2.5B2). As a result, the value of TCS decreased for increasing load ratio ($F_{2,42}=8.7$, $P<0.001$).

Independent of ant size, the percentage of time ants were performing statically unstable locomotion (with the position of the CoM always anterior to the polygon of support) increased with increasing load ratio in loaded ants ($F_{2,42}=65.4$, $P<0.001$).

2.4 Discussion

In this study, we investigated the kinematics of locomotion of unloaded and loaded ants of the polymorphic species *M. barbarus*. We found that, relative to their size, small ants were able to carry larger loads than big ants. Small ants also walked relatively faster and were more stable than big ants; all ants, whatever their size, reduced their speed when carrying loads of increasing mass. The locomotion of unloaded ants was very close to an ideal alternating tripod gait. This allowed them to perform a rather statically stable locomotion. On the other hand loaded ants were most of the times statically unstable and their gait changed to more tetrapod-like locomotion, wave gait locomotion and hexapodal stance phases (see Figure 2.6B for an illustration).

2.4.1 Unloaded ants

In *M. barbarus* big ants have, relative to their size, bigger heads than small ants (Heredia & Detrain, 2000; Bernadou *et al.*, 2016). This means that their center of mass is located in a more anterior position compared to small ants. Big ants are thus more likely to be off balance than small ants. Nevertheless, our ideal alternating tripod gait model shows that, somehow, they are able to compensate for the instability caused by the forward shift of their center of mass. Our results suggest that this could be done through a change in leg positioning and gait parameters. Indeed, in big ants the front legs lift off in a more anterior position (Tableau 2.3), so that the minimum SSM (which occurs just before the touchdown of the contralateral front legs, Figure 2.8) is less critical. This leads to both an increase in duty factor and a decrease in relative step amplitude for front and mid legs. In conclusion, the differences in morphology between ants of different sizes do induce a less statically stable locomotion in big ants but this effect is reduced by the fact that they are able to adjust their stepping pattern to compensate, at least partly, for this instability.

2.4.2 Carrying capacity

Carrying capacity, defined here as the value of the load ratio for which the transition (i.e. the 50% probability) between carrying and pushing occurred, was greater for small ants than for big ants (Figure 2.9). Therefore, small ants were able to carry relatively heavier loads than big ants. This is concordant with the results obtained by Bernadou *et al.* (2016) in the same species. However, in this latter study, the carrying capacity was related to the transition occurring between carrying and dragging, not between carrying and pushing as in our study. To our knowledge, pushing behavior has never been described in field observations of foraging

seed-harvesting ants. Pushing probably occurs very rarely in the field because of the friction forces generated by the heterogeneities of the natural substrate on which the ants are moving. These friction forces would rapidly lead ants to abandon altogether their load or turn around and start dragging it while moving backward to their nest. Pushing is probably an artefact due both to the gluing of the load on the ants' mandibles and to the smoothness of the substrate on which the ants are moving.

The differences in load carrying capacity can be accounted for by two non-exclusive explanations. The first is related to the well-known scale effect, while the second is related to differences in the locomotion and/or the morphology (induced by allometric relationships) of ants of different sizes.

The scale effect is due to the fact that the muscle force of an animal depends on its muscle cross-sectional area, which increases with the square of linear body dimensions while body mass increases with the cube (Schmidt-Nielsen, 1984; Dial *et al.*, 2008). This would lead to a reduction in relative load capacity in big ants compared to small ants. However, this reasoning would hold only if big ants were a simple enlargement of small ones, i.e. if their body parts grew isometrically. As mentioned before, this is not exactly the case in *M. barbarus*: compared to small ants, big ants not only have relatively larger heads (Bernadou *et al.*, 2016, Figure 1.13A) but they have also relatively shorter legs (Figure 1.13B, Felden, 2014). Nonetheless, the scale effect could still apply to some extent. To assess its importance we compared our data of load carrying capacity in ants of different sizes to those that would be expected if the predictions of the scale effect were computed on ants of different sizes but with same morphology. Since the scale effect always refers to a comparison between two individuals of different mass we chose as a reference an ant weighing 1.5mg (corresponding to the smallest ant observed in our colony with a carrying capacity of 8.9, see Figure 2.9). Then, a random ant of mass m would be $(\frac{m}{1.5})$ heavier than the reference ant and, according to the scale effect, its muscle section (and thus muscular power) would be $(\frac{m}{1.5})^{\frac{2}{3}}$ larger. An ant of mass m would thus be able to carry a load up to

$$(\frac{m}{1.5})^{\frac{2}{3}} * (8.9 - 1) * 1.5 \text{ mg}$$

which, after applying the formula for the calculation of load ratio, leads to a carrying capacity of

$$1 + 1.5^{\left(\frac{1}{3}\right)} * (8.9 - 1) * m^{\left(-\frac{1}{3}\right)} = 1 + 9.0 * m^{\left(-\frac{1}{3}\right)},$$

which is the equation of the black line in Figure 2.10. As can be seen in Figure 2.10, the predictions of the carrying capacity for our model ants of different sizes with same morphology is close to the curve representing the 50% probability of carrying a load vs pushing it that we obtained from our experiment. It is also close to the curve representing the 50% probability of carrying a load vs dragging it from the field experiments by Bernadou *et al.* (2016) in which the ants transported food items of various sizes deposited on their foraging trails. Therefore, it seems that ants start pushing in our experiment for about the same load ratio values as they start dragging in Bernadou *et al.* (2016) and that this can be explained mainly by the scale effect.

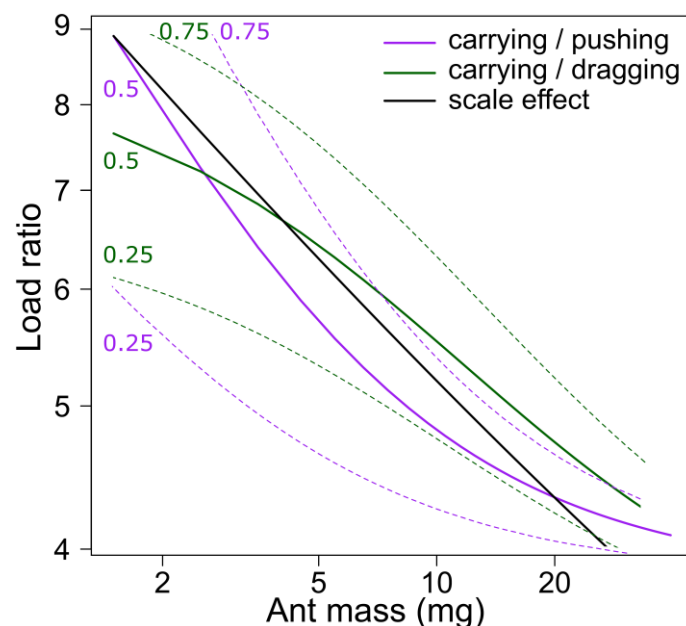


Figure 2.10: Ant carrying capacities and scale effect prediction. The purple line represents 50% probability of carrying the load versus pushing it (our data); The green line represents 50% probability of carrying the load versus dragging it (data from (Bernadou *et al.*, 2016)); in both cases, the dashed lines represent 25% and 75% probabilities; the black line represents the prediction of load carrying capacity based on scale effect and a 1,5mg ant reference.

Nonetheless, one cannot exclude that the differences observed in the locomotor behavior between small and big ants could also partly explain the differences in carrying capacity. Tableau 2.4 indeed points out some differences in the kinematics of ants of different sizes, independent of load ratio. However, despite a slight increase in relative speed and duty factors with increasing ant mass, these differences do not follow any particular logic that could explain the differences in carrying capacity. Most of the observed differences in carrying capacities in ants of different sizes can thus be explained by the scale effect. Note that a recent study in *Atta cephalotes* found exactly the opposite result, i.e. that the carrying capacity is constant and independent of ant mass (Segre & Taylor, 2019). Further studies are needed in order to determine the origin of these differences.

2.4.3 Influence of load ratio on locomotion

The main effect of carrying a load for an ant is to shift its CoM forward. As a consequence the CoM is located closer to the front edge of the polygon of support, or even lies out of it, and the SSM decreases or becomes negative, leading the ant to perform less statically stable or statically unstable locomotion. Moll *et al.* (2013) showed that loaded *Atta vollenweideri* ants can reduce this effect by changing the way they carry their load: by carrying the pieces of grass blade they hold in their mandibles in a more upward, backward-tilted position they can shift their CoM in a somewhat backward position. This is of course impossible in our experiment because ants cannot adjust the position of the load glued on their mandibles. This would not happen either in the field because most of the seeds collected by *M. barbarus* are not elongated enough to be carried in the same way as pieces of grass blades in grass-cutting ants. The CoM of loaded *M. barbarus* workers is thus shifted forward and the percentage of time their locomotion is statically unstable during a stride increases for increasing load ratio (Tableau 2.4), reaching up to 90% for the highest load ratios.

Such statically unstable locomotion has already been reported for insects in the literature. For instance, the cockroach *Blaberus discoidalis*, when moving at very high speed, often performs statically unstable locomotion and thus maintains its balance through dynamic stability (Ting *et al.*, 1994; Koditschek *et al.*, 2004). Dynamic stability refers to individuals keeping their balance when statically unstable by only briefly “falling” forward before new supporting legs contact the ground (Moll *et al.*, 2013). Statically unstable locomotion has also been observed

by Moll *et al.* (2013) in loaded workers of the grass cutting ant *A. vollenweideri*. These authors have suggested that loaded ants could use dynamic stability in order to avoid falling over during the statically unstable part of their locomotion (Moll *et al.*, 2010, 2013).

However, loaded *M. barbarus* workers move too slowly to maintain their balance through dynamic stability: they would fall forward before the front leg catches up. Rather, we assume that they maintain their balance by clinging to the ground with the tarsal claws located at the end of their mid and hind legs. Indeed, scanning electron microscope images of the substrate texture show that the claws can easily cling to the paper fibers (Figures 2.11A & 2.11B).

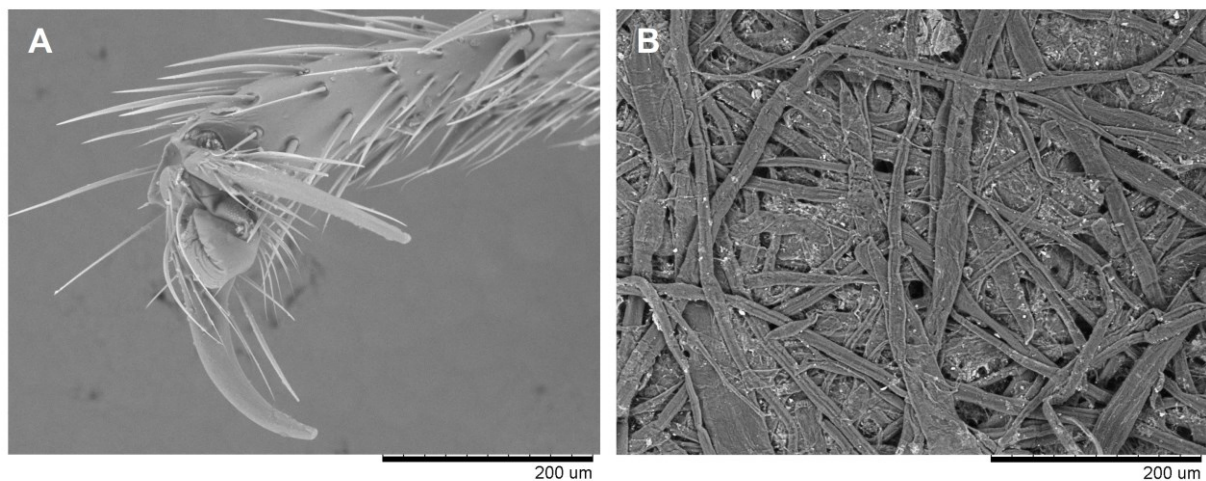


Figure 2.11: Scanning electron microscope photograph (Hitachi TM-1000 Tabletop Microscope). A: Image of a *Messor barbarus* hind leg tarsus showing the claws and the adhesive pad (arolium) between the claws. Dry specimen was put without treatment in the microscope chamber; B: Image of the paper substrate on which the ants performed locomotion.

Consequently, they tend to keep more legs in contact with the ground for increasing load ratio. This leads to a decrease of their stride frequency and TCS and to an increase of the duty factor of all legs (Tableau 2.4). Hind legs are of particular importance in keeping the ant balanced because they have a higher lever-arm effect. In our experiment the percentage of time the hind legs were dragged decreases as soon as the ant was loaded independent of ant mass and load ratio (mean \pm Cl_{0.95}: -12,1 \pm 8,2 %), probably because, due to the position of the claws on the pretarsus (Figure 2.11A), the hind legs can better cling to the ground when they are not moving. In this respect, it would be interesting to investigate how ants maintain their balance when their adhesive prestarsal structures are blocked or when they walk on a slipping

substrate (see Ramdya *et al.*, 2017 for an example in *Drosophila melanogaster*). The tendency for the hind legs to lift off after the front legs touched down also increased for increasing load ratio (Figure 2.5B1 & 2.5B2). This is coherent with the balance strategy used by ants, as the SSM is maximal at front leg touch down (Figure 2.8C & 2.8D) and thus it is less risky to lift off the hind leg at this time. Finally, as a result of the stride frequency diminution (and because relative step amplitude remains constant), the relative speed decreases with increasing load ratio, which is concordant with most studies in other load carrying ants, e.g. *Atta colombica* (Lighton *et al.*, 1987), *A. vollenweideri* (Röschard & Roces, 2002), *Atta cephalotes* (Burd 2000) and *Veromessor pergandei* (Rissing, 1982).

Reinhardt and Blickhan (2014a) showed that, during steady state locomotion, *Formica polyctena* uses mainly its hind legs in order to generate propulsion forces while Wöhrl *et al.*, (2017) showed in *Cataglyphis fortis* that it is the mid legs that are mainly used for propulsion. In both cases however, the front legs have a brake effect on locomotion. To our knowledge, there are no study so far that measured the ground reaction forces (GRF) in loaded ants. Nonetheless, it is possible to infer the propulsion behavior of the legs in our experiment based on the position of their tarsi. Indeed, as shown by Endlein and Federle (2015), depending on the GRFs, the tarsi attach differently to the substrate. The morphology of the tarsal attachment of *M. barbarus* (Figure 2.11A) is comparable to that of other ants (Federle *et al.*, 2001; Endlein & Federle, 2008). It seems thus fair to assume that they cling to the substrate in a similar way. As Endlein and Federle (2015), we observed in our videos two positions for the hind leg tarsi during the stance phase: on “heels”, during the first part of the stance phase, and on “toes”, during its second part (Figure 2.12A & 2.12B).

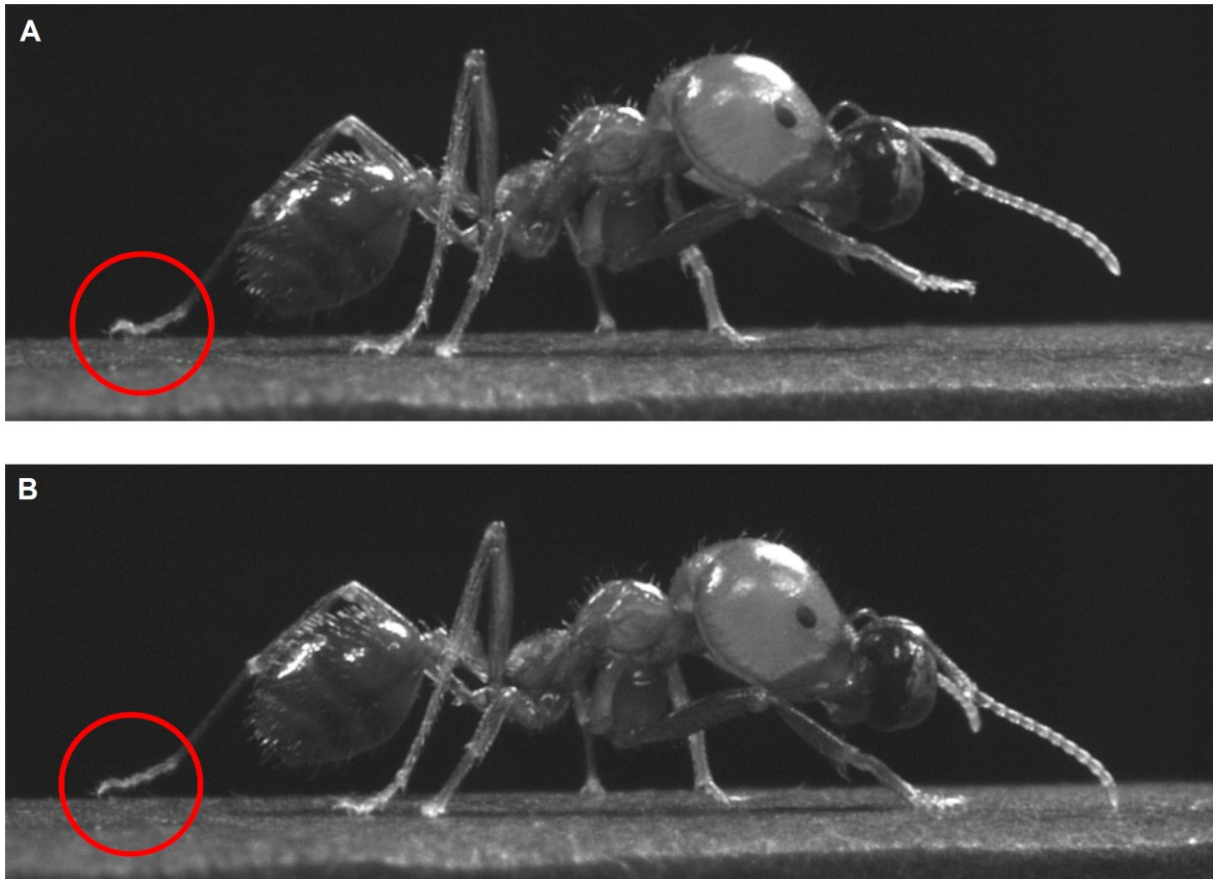


Figure 2.12: Left hind leg position during stance phase. A: first part of the stance phase, the tarsi is on “heels”; B: second part of the stance phase, the tarsi is on “toes”.

This would suggest that hind legs have a “compression and pushing” action in the first part of the stance phase, i.e. participate to propulsion, and then have a “tension and pulling” action on the last part of the stance phase, acting as a holding point for the ants not to fall over. For mid legs, the tarsi were usually in the “heel” position and were thus likely to participate in propulsion. These observations are purely qualitative as the resolution of our videos makes a quantitative analysis of these data tricky. The use of a miniature force plate (Bartsch *et al.*, 2007; Reinhardt & Blickhan, 2014b) to compare the GRFs of unloaded and loaded ants would provide crucial insights on how the different legs of the ants contribute to the stability and propulsion of loaded locomotion.

2.4.4 Conclusion

We have shown in this study that unloaded *M. barbarus* workers display different gaits depending on their body mass. For big ants, these differences seem to be mainly explained by a compensation for the imbalance caused by their disproportionately bigger head. Small ants

are able to carry proportionally heavier loads than big ants and scale effect provides a simple and satisfactory explanation for this difference. Moreover, our results show that loaded ants are often statically unstable during locomotion and that they maintain their balance by clinging to the ground. Further studies are required to determine the contribution of each leg to both stability and propulsion.

Big ants are more costly to produce than small ants. So why do colonies produce them if they are less efficient in transporting loads? One answer to this question is that, although big ants have lower load carriage performances than small ants, they are nonetheless able to carry on average loads of higher masses than small ants and to seize and transport items of larger diameters with their large and powerful mandibles (Figure 3 in Bernadou *et al.*, 2016). This could allow colonies to increase the size range of the food items retrieved to the nest so that they can enlarge their diet breadth and better match the size distribution of the food resources available in their environment (Davidson, 1978). Big ants may also play other roles than foraging in seed-harvesting ant colonies, such as removing the obstacles encountered on foraging trails, constructing and defending the nest (Rissing, 1982), cutting thick plant stalks or milling the seeds inside the nest to prepare them for consumption. The significance of our results for the foraging ecology and division of labor in *M. barbarus* remains therefore to be investigated.

3 Dynamique du centre de masse lors de la locomotion et du transport de charge

3.1 Introduction

Locomotion is a crucial aspect of animal behavior. It is essential to accomplish tasks such as searching for food or for a shelter, hunting for prey, looking for a mate or escaping a predator. The features of locomotion animals have to optimize vary for each of these tasks (Halsey, 2016). For example, if they are searching for food they will try to optimize the distance traveled and the energy expended, while if they are escaping a predator they will try to maximize their speed. This explains why some animals use different ways of moving, each most fitted to a given situation. These distinct ways of moving are called gaits, defined by Alexander (1989) as a “*pattern of locomotion characteristic of a limited range of speeds described by quantities of which one or more change discontinuously at transition to other gaits*”.

Two main types of approach have been used to investigate locomotory gaits in biomechanics. The first approach is based on the study of the kinematics of locomotion and especially the footfall pattern (or stepping pattern). It consists in measuring variables such as stride frequency, stride length, leg positioning and inter-leg coordination. This approach has been used in many animals (see Kar *et al.* 2003 for a review). It allows for instance to distinguish walking, trotting and galloping in horses (Robilliard *et al.*, 2007). The second approach models the individual as its center of mass (CoM) and study its dynamics. During locomotion, the trajectory of the CoM of an animal may be recorded either by integrating the ground reaction forces of the legs (Cavagna, 1975) or through video recording of the locomotion and image analysis (Cavagna and Kaneko, 1977; Fumery *et al.*, 2018; Heglund *et al.*, 1995). One may then compute the kinetic and gravitational potential energy of the CoM and investigate their variation during a stride (Heglund *et al.*, 1995; Reilly *et al.*, 2007; Vereecke *et al.*, 2006). Using this approach, Cavagna *et al.* (1977) found that during bipedal locomotion in humans, the kinetic and the gravitational potential energy of the CoM are most of the times in phase during walking while they are mostly out of phase during running. This kind of approach has been used to distinguish different gaits in a variety of animals, from vertebrates (birds, kangaroo rats, chipmunk and squirrels: Heglund *et al.* 1982; lizards: Farley & Ko 1997; frogs: Ahn *et al.* 2004; dogs: Griffin *et al.* 2004; elephants: Genin *et al.* 2010) to invertebrates (arachnids: Sensenig & Shultz 2007; Escalante *et al.* 2019).

Among walking animals, insects are of particular interest due to their hexapody and their outstanding locomotor performances, as attested by the maximum speed some insects can reach ~ 40 body length per second in the ant *Cataglyphis bombycina* (Harkness & Wehner n.d.); ~ 35 body length per second in the cockroach *Periplaneta Americana* (Full & Tu 1991). Their locomotion has even been a source of inspiration for the design of legged robots (Dupeyroux et al., 2019; Kar et al., 2003; Koditschek et al., 2004). From a purely kinematic point of view, the most common gait encountered in insects is the alternating tripod gait (Delcomyn, 1981) in which the swing phase of a set of three legs called tripods (the ipsilateral front and hind leg and the contralateral mid leg) is synchronized with the contact phase of the contralateral tripod. However, the alternating tripod gait in insects can be altered by many factors. For example, it can vary with their speed (Bender et al., 2011; Wosnitza et al., 2012; Mendes et al., 2013; Wahl et al., 2015), their behavior (exploration, ants: Reinhardt et al. 2009; Reinhardt & Blickhan 2014; wall-following, cockroaches: Bender et al. 2011; backward locomotion, ants: Pfeffer et al. 2016), their external (leg amputation, crickets: Fleming & Bateman 2007 and in stick-insects: Gruhn et al., 2009; Grabowska et al. 2012) or internal state (effects of ageing, see review in Ridgel & Ritzmann 2005; artificial blocking of proprioceptive feed back in the fruit fly: Mendes et al. 2013) and on the characteristics of the physical environment, such as the properties of the substrate (cockroaches: Spence et al. 2010), the presence of wind (cockroaches: Full & Koehl 1993), the slope of the terrain (ants: Seidl & Wehner 2008; Moll et al. 2010; Wöhrle et al. 2017; stick-insects: Diederich 2006; Grabowska et al. 2012), and the presence of obstacles (cockroaches: Watson et al. 2002).

One of the perturbations that is known to affect locomotory gait in humans (see e.g.: Ahmad & Barbosa 2019) and other vertebrates (see review by Jagnandan & Higham 2018) but that has so far received little attention in insects is load carriage. Load carriage occurs in insects mostly internally, for example after ingesting food or when a female insect carry eggs. However, these internal loads only induce small changes in the total mass of individuals. Much more impressive are the external loads that are carried by some insects while returning to their nest. In ants in particular these loads can be very heavy and weigh more than ten times the body mass of individuals (Bernadou et al. 2016). They shift the CoM of individuals and consequently impact their locomotion. The changes induced by load carriage on the locomotion of ants have so far been investigated only with a kinematic approach (Zollikofer

1994; Moll *et al.* 2013, Merienne *et al.*, under review). Therefore, little is known on the mechanical cost of locomotion nor on the exchange of energies that occurs for individuals during the transport of external loads in ants, nor. Here, we aim to fill this gap by investigating the impact of load carriage on the CoM dynamics in individuals of the species *Messor barbarus*, a Mediterranean seed-harvester ant whose workers routinely transport items weighing up to thirteen times their own mass over dozen of meters (Bernadou *et al.*, 2016). The workers of this species show a high variation in size within colonies, with a body mass ranging from 1.5 to 40mg. This polymorphism is continuous and is characterized by a positive allometry between head size and thorax length (Bernadou *et al.*, 2016; Heredia and Detrain, 2000) so that the head of large workers is bigger than that of small workers relative to their size. Consequently, the center of mass of big workers is shifted forward compared to that of small workers (Bernadou *et al.*, 2016) and this may impact the mechanical features of both their unloaded and loaded locomotion differently in ants of different sizes. We thus studied both the effect of body mass and load mass on the locomotion of loaded ants. To do so we varied in a systematic way the mass of the load carried by ants of different sizes and compared the displacement of the CoM, as well as its mechanical work, which represents the amount of energy needed to raise the CoM and accelerate it during locomotion, of the same ants in unloaded and loaded condition.

3.2 Material and methods

3.2.1 Studied species

Experiments were carried out with a large colony of *Messor barbarus* collected in April 2018 at St Hippolyte (Pyrénées Orientales) on the French Mediterranean coast. Workers in the colony ranged from 2 to 15 mm in length and from 1 to 40 mg in mass. The colony was housed in glass tubes with a water reservoir at one end and was kept in a room at 26°C with a 12:12 L/D regime. The tubes were placed in a box (LxWxH: 0.50x0.30x0.15 m) whose walls were coated with Fluon® to prevent ants from escaping. During the experimental period, ants were fed with a mixture of seeds of various species and had access *ad libitum* to water.

3.2.2 Experimental setup

Ants were tested on a setup designed and built by a private company (R&D Vision, France. <http://www.rd-vision.com>). It consisted in a walking platform surrounded by five high speed cameras (JAI GO-5000M-PMCL: frequency: 250Hz; resolution: 30 μ m/px for the top camera, 20 μ m/px for the others), one placed above the platform and four placed on its sides. The platform was 160mm long and 25mm wide and was covered with a piece of black paper (Canson®, 160g/m²). Four infrared spots (λ =850nm, pulse frequency: 250 Hz) synchronized with the cameras illuminated the scene from above. The mean temperature on the middle of the platform measured with an infrared thermometer (MS pro, Optris, USA, <http://www.optris.com>) over the course of the experiment was (mean \pm SD) 28 \pm 1.4 °C.

3.2.3 Experimental protocol

We performed all experiments between April and July 2018.

We wanted to make sure that the ants we tested were foraging workers. Therefore, the first day of an experimental session, we selected a random sample of workers returning to their nest with a seed on a foraging trail established between the box containing the colony and a seed patch. We kept these ants in a separate box and used them in our experiments the following days.

Each ant was then tested twice: the first time unloaded and the second time loaded with a fishing lead glued on its mandibles. Before being tested unloaded ants were first weighed to the nearest 0.1 mg with a precision balance (NewClassic MS semi-micro, Mettler Toledo, United States). Individual ants were then gently placed at one end of the platform and we started recording their locomotion as soon as they entered the camera fields. The recording was retained only if ants walked straight for at least three full strides. All videos were subsequently cropped to a whole number of strides, a stride being defined as the interval of time elapsed between two consecutive lift off of the right mid leg. To stimulate the ants and to obtain a straighter path, a pheromone trail was laid down along the middle axis of the platform by depositing every centimeter a small drop of a hexane solution of Dufour's gland (1 gland / 20 μ l) which is responsible for the production of trail pheromone in *M. barbarus* (Heredia and Detrain, 2000). This operation was renewed every 45 minutes in order to keep a fresh trail on the platform.

Once five ants were tested in unloaded condition we proceeded with the test in loaded condition. Each ant was put in a vial plunged in crushed ice to be anesthetized. It was then fixed on its back, with its head maintained horizontally, and we glued a calibrated fishing lead on its mandibles with a droplet of superglue (Loctite, <http://www.loctite.fr>). After letting the glue dry for 15 minutes and the ant recover for half an hour, each ant was placed again on the platform and its locomotion was recorded in loaded condition. We retained only the recordings where the load did not touch the ground during the transport. At the end of the recording the ant was captured and weighed a second time. It was then killed and each of its body parts (head, thorax, gaster) was weighed separately.

3.2.4 Data extraction and analysis

In order to compute the 3D displacement of the ants' main body parts (head, thorax, gaster) and of its overall center of mass (CoM), we tracked several anatomic points on the top view (Figure 3.1A-C) and side view (Figure 3.1B-D) videos with the software Kinovea (version 0.8.15, <https://www.kinovea.org>).

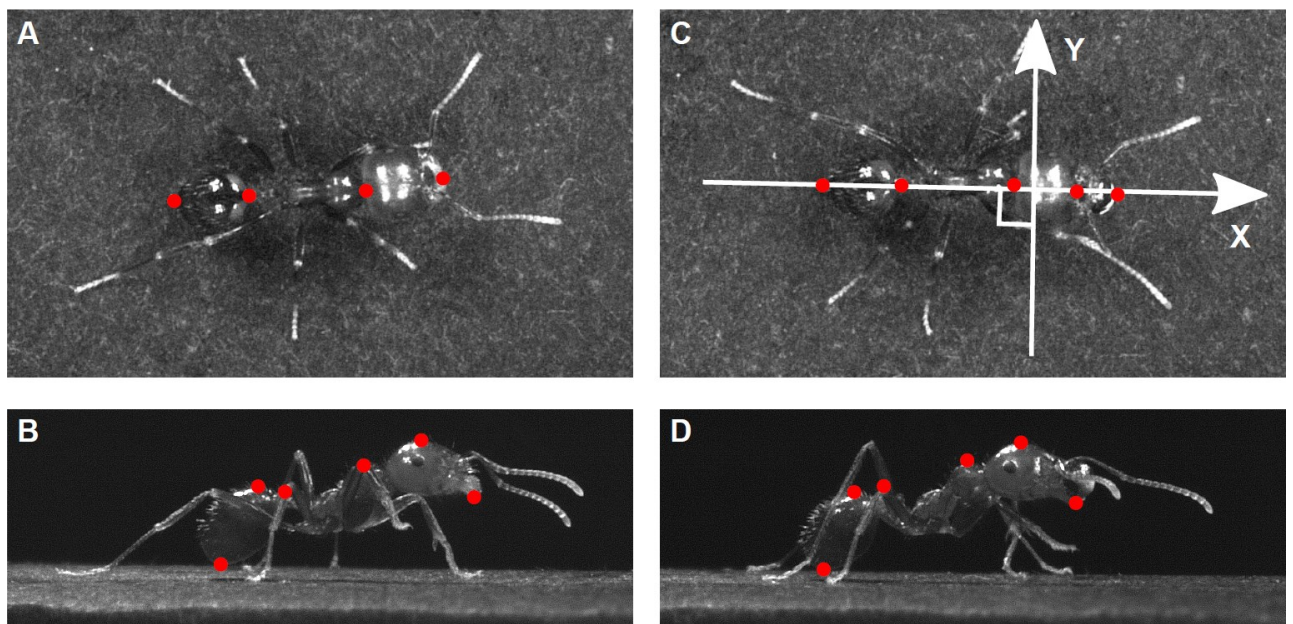


Figure 3.3.1: Location of the points tracked on each ant. The snapshots show a top view (A, C) and a side view (B, D) of the same ant (ant mass = 10.1 mg) tested in unloaded (A, B) and loaded condition (C, D) (load mass = 3.5mg). In C) the X axis corresponds to the longitudinal body axis while the Y axis corresponds to the transverse body axis. We represent the position of the tracked points in red.

Assuming a homogeneous distribution of the mass within each body parts, we computed the (X, Y) coordinates of the CoM of the three main body parts (plus the load) as the mean of the (X, Y) coordinates of the two points tracked on their extremities on the top view. As for the vertical position (Z) of the CoM of the three main body parts, we computed it as the mean of the vertical position of the two points tracked on each of these parts on the side view. We computed for each frame the position of the ant overall CoM as the barycenter of the CoM of its three main body parts (plus the load for loaded ants) weighted by their mass. For each ant, we separated the several strides and, for each stride, expressed the positions and speeds of the overall CoM (in the three directions, plus the speed norm) in terms of stride percentage. Finally, we average these speeds and positions across the different strides of the locomotion in order to obtain a single mean trajectory of the CoM in each condition (unloaded and loaded).

In order to characterize these mean trajectories for each ant and condition, we computed the peak-to-peak amplitude of the Z position signal and we also assessed the sinus-like behavior of the Z position signal and speed norm signal. In order to do so, we first normalized the Z position and the speed norm by their respective peak-to-peak amplitude and fitted a sinus function to the resulting signals. We then computed the root-mean-square error (RMSE) between the fitted function and the normalized data.

In order to assess the general posture of the ants during locomotion we also computed the mean Z position of their CoM (expressed in units of body length) and the mean inclination angle of their body during locomotion (defined as the angle between the horizontal X axis and the line between the abdomen and head CoMs).

From the dynamic of the CoM we then computed its kinetic (E_k) and gravitational potential (E_p) energies relative to the surroundings with the formulae $E_k = 0.5 * m * v^2$ and $E_p = m * g * h$ where m is the mass of the ant (plus the mass of the load if one is carried), v the speed of the CoM, g the gravitational constant and h the vertical position of the CoM above the walking platform. We then computed the external mechanical energy of the CoM as the sum of the kinetic and potential energies. Finally, following Bastien et al. (2016), we computed the external mechanical work (W_{ext}) achieved to raise and accelerate the CoM as the sum of the positive increments of the external mechanical energy. However, we could not compare these values across ant as they did not walk the same distance or during the same amount of time.

So we scaled these external mechanical energies to a unit of distance by dividing W_{ext} by the distance travelled by the ant. That make sense considering that the locomotion is a repetitive process and that we cropped our videos to a whole number of strides. We could then compare a “mechanical work per unit distance” ($W_{ext,d}$) across different ants. We computed the mean external power (P_{ext}) by dividing W_{ext} by the duration of the analyzed locomotion. We also computed the mass specific values for $W_{ext,d}$ and P_{ext} by dividing them by ant mass for unloaded locomotion and ant mass plus load mass for loaded locomotion.

Following Cavagna et al. (1976) we then computed the energy recovered (R , expressed in percentage) through the pendulum-like oscillations of the CoM with the formula :

$$R = 100 * \frac{W_k + W_p - W_{ext}}{W_k + W_p}$$

Where W_k is the sum of the positive increments of the kinetic energy versus time curve and W_p is the sum of the positive increments of the potential energy versus time curve. R is an indicator of the amount of energy transferred between the potential and the kinetic energy of the CoM due to its pendulum-like behavior: the closer the value of R to 100%, the more consistent the locomotor pattern is with the Inverted Pendulum System (IPS) model (Cavagna et al., 1977) in which the fluctuations in E_p and E_k are perfectly out of phase, i.e. all the kinetic energy of the CoM is transformed in potential energy, and vice versa, over a stride.

In order to further characterize the relationship between E_k and E_p , we computed both the correlation coefficient between E_k and E_p using the Pearson method, and, following Ahn et al. (2004) and Vereecke et al. (2006), the percentage congruity between E_k and E_p (defined as the percentage of time E_k and E_p changed in the same direction). Finally, we fitted a sinus function to both E_k and E_p . From these sinus functions, we extracted the phase of E_k and E_p and computed the difference between the two phases in order to access the phase lag between E_k and E_p (a positive value of this lag indicates that E_k is late compared to E_p).

All data analysis and graphics were done with R (version 3.5.1) run under RStudio (version 1.0.136). For the unloaded condition, all variables Y were expressed as a power law function of ant mass M : $Y = a * M^b$. For each variable, we give the value of the coefficient b for ant mass, as well as the value of the variables predicted by the statistical model for the mean ant mass (12.5 mg). For the loaded condition, because we tested the same ants first loaded and

then unloaded, we computed the ratio of each variable between the loaded (Y_l) and unloaded (Y_u) condition and expressed it as a power law function of both ant mass (M) and load ratio (LR), defined as $1 + (\text{load mass}/\text{ant body mass})$ (Bartholomew et al., 1988): $\frac{Y_l}{Y_u} = c * M^d * LR^e$. For each variable the coefficients d for ant mass, e for load ratio as well as the value of the variable predicted by the statistical model for mean ant mass and a load ratio of one are then indicated. A positive value for the coefficient of an explanatory variable meant that the response variable increased when the explanatory variable increased and vice versa.

3.3 Results

In total, 54 ants whose body mass ranged from 1.5 to 33 mg were tested in both unloaded and loaded conditions with load ratio ranging from 1.2 to 7 (Figure 3.2).

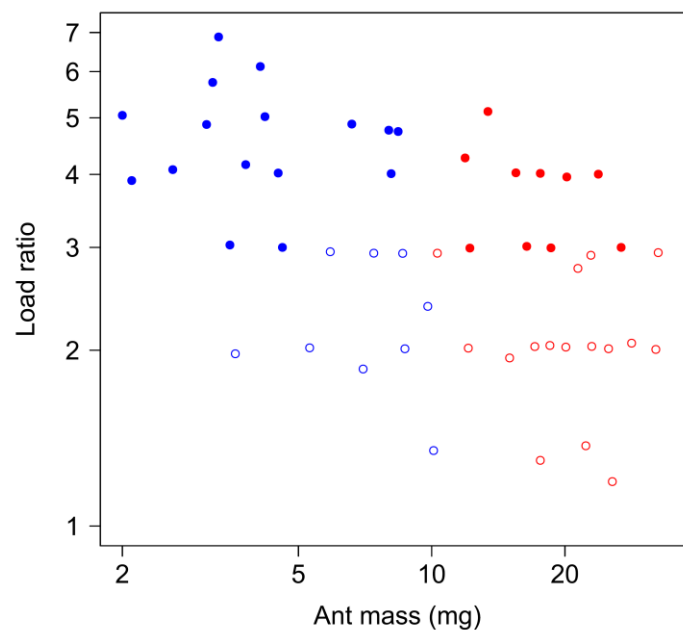


Figure 3.3.2: Body mass and load ratio of tested ants. The points represent small ants (blue, $N = 27$), big ants (red, $N = 27$), low load ratio (empty dots, $N = 27$) and high load ratio (filled dots, $N = 27$).

3.3.1 Unloaded ants: influence of body mass (Tableau 3.1)

The analysis of the position of the CoM shows that there was no evidence of a periodic pattern on the Y axis. On the other hand, the Z position of the CoM (Figure 3.3A) as well as its speed norm (Figure 3.3B) followed periodic patterns that were well approximated by a sinus

function, as shown by the low value of the RMSE. Interestingly, the amplitude of the oscillations of the CoM Z position seems to be approximately the same for small and big ants (Figure 3.3A). Indeed, the relative amplitude (expressed in units of body length) of the oscillations of the CoM Z position, as well as its mean relative position, decreased significantly with increasing ant mass ($F_{1,52} = 75.88, P < 0.001$ and $F_{1,52} = 105.24, P < 0.001$, respectively). The CoM of big ants was thus relatively lower and oscillated with a relatively smaller amplitude than that of small ants. The ant body angle was independent of ant mass.

Tableau 3.1 : Influence of body mass (in mg) on the biomechanical variables of ants walking unloaded (N = 54).

Variable	Model prediction for mean(ant mass) and [CI]	Coefficient for ant mass \pm CI	Adj R ²
RMSE speed norm	0.134 [0.124;0.145]	-0.038 \pm 0.090 ns	0.00
RMSE Z position	0.143 [0.129;0.158]	-0.044 \pm 0.117 ns	0.00
Z position amplitude (BL)	0.015 [0.014;0.017]	-0.451 \pm 0.104 ***	0.59
Mean Z position (BL)	0.121 [0.115;0.128]	-0.326 \pm 0.064 ***	0.67
Body angle (°)	11.77 [10.85;12.76]	-0.088 \pm 0.096 .	0.04
Correlation coefficient	0.411 [0.355;0.475]	-0.206 \pm 0.172 *	0.09
Percentage congruity (%)	66.18 [64.33;68.09]	-0.036 \pm 0.034 *	0.07
E _k / E _p phase (°)	26.42 [21.81;32.00]	0.387 \pm 0.229 **	0.18
W _{ext,d} (nJ.mm ⁻¹)	13.70 [13.12;14.30]	1.008 \pm 0.051 ***	0.97
Mass specific W _{ext,d} (nJ.mm ⁻¹ .mg ⁻¹)	1.072 [1.027;1.120]	0.008 \pm 0.051 ns	0.00
P _{ext} (nJ.s ⁻¹)	27.66 [25.56;29.94]	1.200 \pm 0.093 ***	0.93
Mass specific P _{ext} (nJ.s ⁻¹ .mg ⁻¹)	30.94 [28.58;33.49]	0.021 \pm 0.094 ns	0.00
Percentage recovery (%)	8.200 [7.392;9.097]	0.097 \pm 0.123 ns	0.03

*Each line gives the results of a power law model describing the influence of ant mass on each variable studied. The first column corresponds to the model prediction \pm 95% confidence interval for the mean value of ant mass (12.5 mg). The second column gives the coefficient of ant mass \pm 95% confidence interval (with the level of significance given by the t value: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; . $p < 0.1$; n.s. $p \geq 0.1$). The third column gives the adjusted R² for the model.*

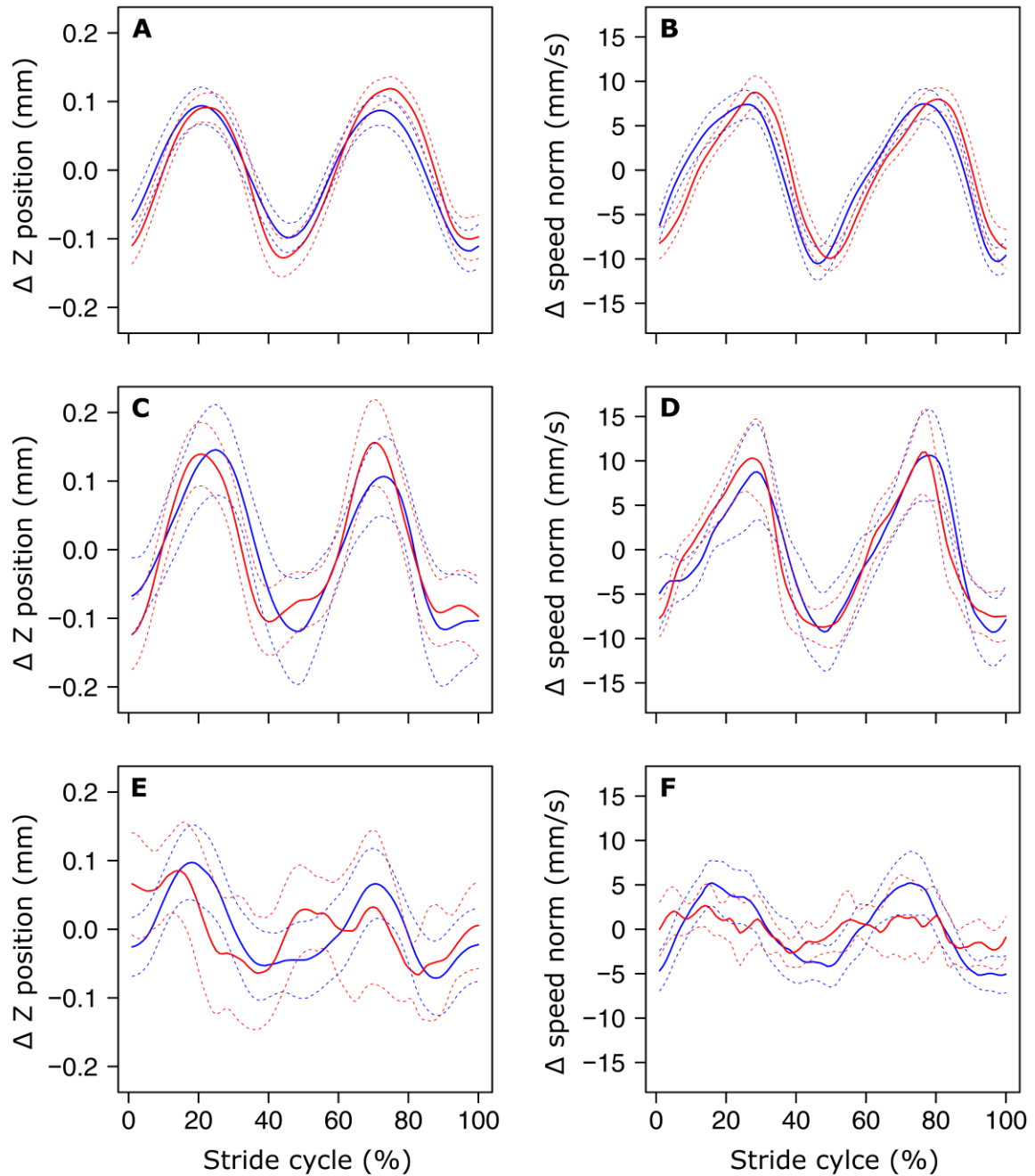


Figure 3.3: Variations of the vertical position and speed norm of the ants CoM. **A-B:** Unloaded ants. Mean vertical position (**B**) and speed norm (**A**) of the CoM of small (**blue**, ant mass < 10.2 mg, N = 27) and big ants (**red**, ant mass > 10.2 mg, N = 27) on one complete stride. **C-D:** Loaded ants with small load ratio (LR<3). Mean vertical position (**D**) and speed norm (**C**) of the CoM of small (**blue**, ant mass < 10.2 mg, N = 9) and big ants (**red**, ant mass > 10.2 mg, N = 18). **E-F:** Loaded ants with high load ratio (LR>3). Mean vertical position (**F**) and speed norm (**E**) of the CoM of small (**blue**, ant mass < 10.2 mg, LR > 3, N = 17) and big ants (**red**, ant mass > 10.2 mg, LR > 3, N = 10). Dashed lines represent the 95% confidence interval of the mean. For the sake of clarity, all values are centered on their mean.

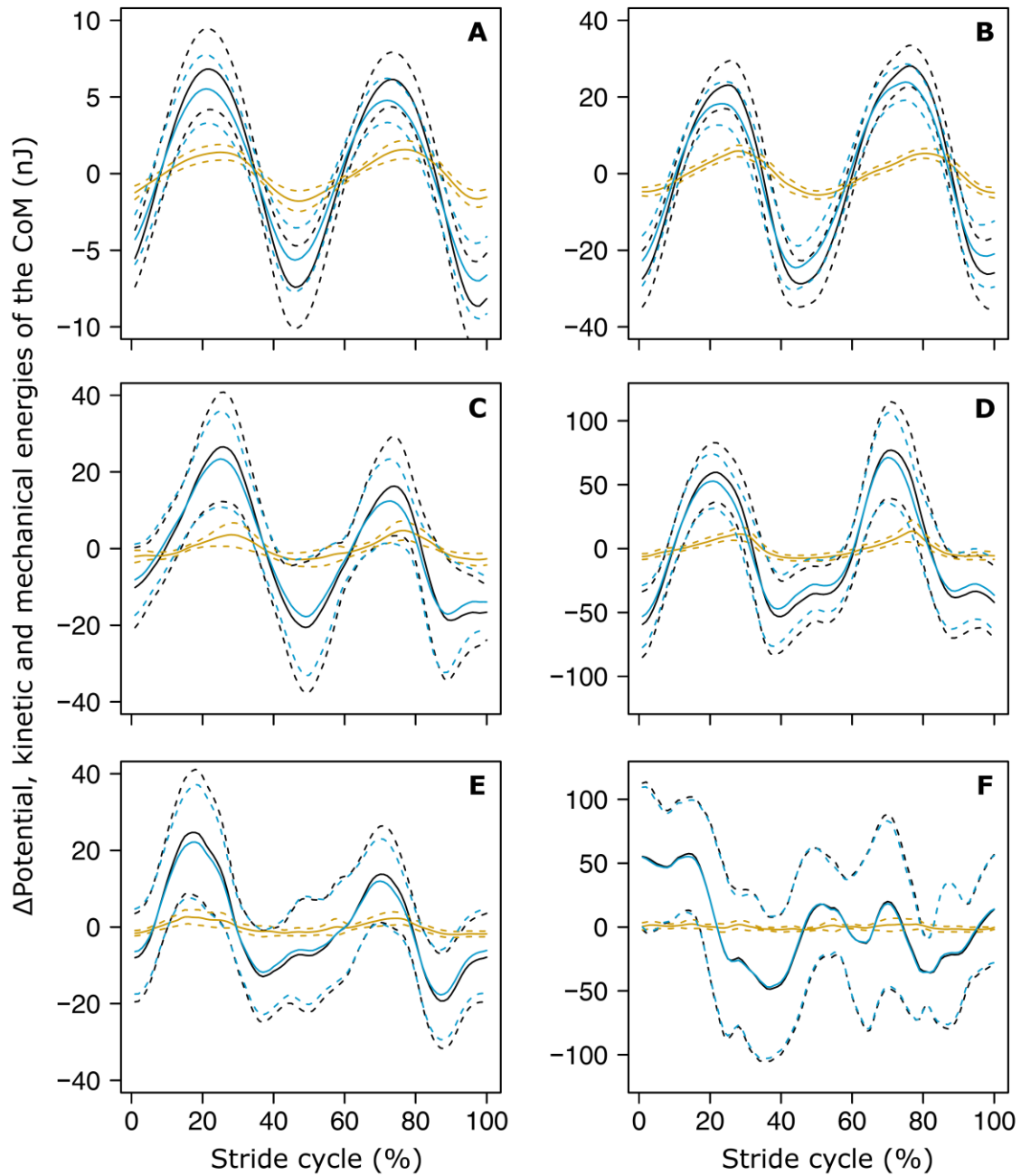


Figure 3.4 : Variations of the mechanical energies of the CoM relative to the surroundings. The variation of the mean kinetic (**orange**), potential (**light blue**) and external mechanical (**black**) energies over a stride are shown for **A**: small unloaded ants (ant mass < 10.2 mg, N = 27); **B**: big unloaded ants (ant mass > 10.2 mg, N = 27); **C**: small loaded ants with small load ratio (ant mass < 10.2 mg, load ratio < 3, N = 9); **D**: big loaded ants with small load ratio (ant mass > 10.2 mg, load ratio < 3, N = 17); **E**: small loaded ants with high load ratio (ant mass < 10.2 mg, load ratio > 3, N = 18); **F**: big loaded ants with high load ratio (ant mass > 10.2 mg, load ratio > 3, N = 10). For the sake of clarity, the values of energies are centered on their mean.

The variations of E_k and E_p were periodic and the amplitude of E_p was much greater than the amplitude of E_k in both small (Figure 3.4A) and big ants (Figure 3.4B). E_k and E_p were mostly in phase, as shown by the high values of both the correlation coefficient (Figure 3.5A) and the percentage congruity. Finally, the phase lag between the variation of potential and kinetic energies was positive (Figure 3.5B) and increased with ant mass ($F_{1,52} = 11.51, P=0.001$). As a consequence, E_k and E_p were more out of phase for big ants compared to small ants and thus both the correlation coefficient and the percentage congruity decreased with increasing ant mass ($F_{1,52} = 5.79, P=0.020$ and $F_{1,52} = 4.75, P=0.034$, respectively).

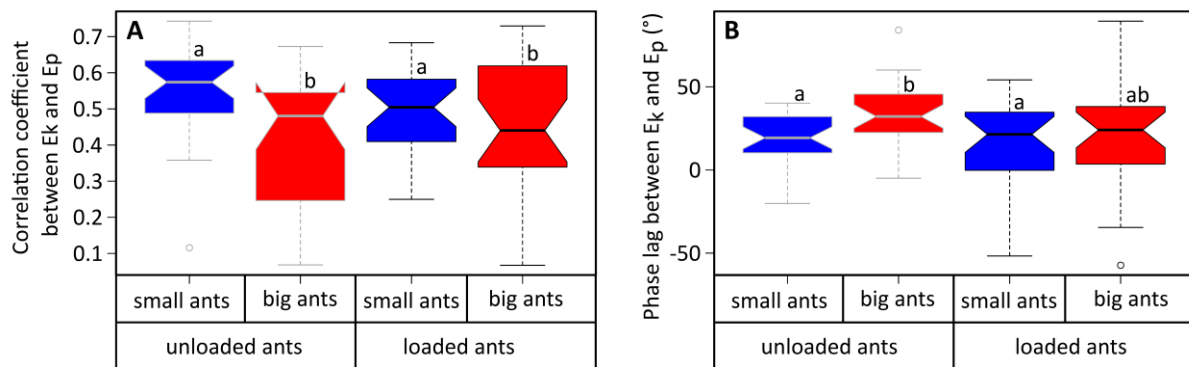


Figure 3.5 : Correlation coefficient and phase lag between the kinetic and potential energies of the CoM. Correlation coefficient (A) and phase lag (B) between the CoM E_p and E_k for unladen ants and loaded ants. The results are shown for small (blue) and big ants (red). Different letters above the bars indicate that the differences between samples is significant according to a Welch two sample t-test ($P<0.05$). The line within the box represents the median, the lower and upper boundaries represent respectively the 25th and 75th percentiles while the whiskers extend to the smallest and largest values within 1.5 box lengths. The notch in each bar represents the confidence interval of the median. $N= 54$ ants.

The external mechanical work of the CoM per unit distance ($W_{ext,d}$) increased with increasing ant mass ($F_{1,52}=1586.82, P<0.001$) (Figure 3.6A). However, there was no relationship between the mass-specific external mechanical work of the CoM per unit distance ($W_{ext,d}/m$) and ant mass (m). In the same way, the mean external mechanical power of the CoM (P_{ext}) increased with increasing ant mass ($F_{1,52} = 665.47, P<0.001$) (Figure 3.6B) but there was no relationship between the mass-specific external mechanical power of the CoM (P_{ext}/m) and ant mass.

The percentage energy recovery was very low and did not depend on ant mass.

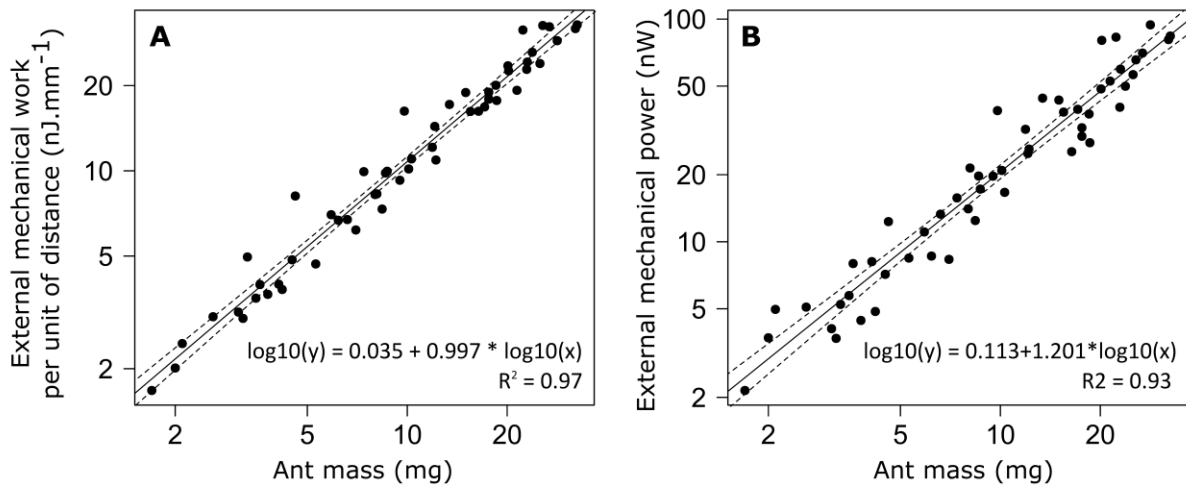


Figure 3.6 : External mechanical work per unit of distance and power for unloaded ants. **A**: external mechanical work per unit of distance $W_{ext,d}$ ($F_{1,52} = 1502$, $P < 0.001$) and **B**: external mechanical power ($F_{1,52} = 717$, $P < 0.001$). The straight line gives the prediction of a linear regression model and the dashed lines the 95% confidence interval of the slope of the regression line ($N = 54$ ants).

3.3.2 Loaded ants: influence of ant body mass and load ratio (Tableau 3.2)

As for unloaded ants, the speed norm of the CoM followed a periodic pattern (Figure 3.3D & 3.3F) that was well approximated by a sinus function, whatever the values of ant mass or load ratio. In the same way as for unloaded ants, no periodicity was found in the CoM Y trajectory for loaded ants. On the Z direction, the sinus-like periodicity of the Z position of the CoM (assessed by the Z position RMSE) decreased with increasing load ratio (Figure 3.3C and 3.3E, $F_{1,52} = 3.87$, $P = 0.010$) independent of ant mass. We found no significant changes in the mean Z position of the CoM between unloaded and loaded ants, whatever the ant mass and load ratio.

As for unloaded ants, E_k and E_p were mostly in phase for low load ratio in small (Figure 3.4C) and big ants (Figure 3.4D), but less so for high load ratio (Figure 3.4E and 3.4F). The correlation coefficient (Figure 3.5A) and the phase lag (Figure 3.5B) between E_k and E_p did not vary significantly between unloaded and loaded ants, independent of ant mass and load ratio. However, independent of ant mass, the percentage of congruity decreased for ants carrying loads of increasing load ratio ($F_{1,52} = 8.22$, $P < 0.001$).

Independent of load ratio, $W_{ext,d}$ and the mass-specific $W_{ext,d}$ increased with increasing ant mass ($F_{2,51} = 148.76$, $P = 0.018$; $F_{2,51} = 12.47$, $P = 0.024$, respectively). Independent of ant mass, $W_{ext,d}$ and the mass-specific $W_{ext,d}$ and P_{ext} increased with increasing load ratio in loaded ants

compared to unloaded ants ($F_{2,51} = 148.76$, $P < 0.001$, $F_{2,51} = 12.47$, $P < 0.001$, $F_{2,51} = 37.12$, $P < 0.001$, respectively). However, there was no significant effect of the loaded condition on the mass-specific P_{ext} . Finally, there was no significant change in percentage recovery between unloaded and loaded ants.

Tableau 3.2 : Influence of body mass (mg) and load ratio on the changes in biomechanical variables between unloaded and loaded locomotion (N = 54).

Variable (ratio loaded / unloaded)	Model prediction for mean(ant mass) and LR=1 and [CI]	Coefficient for ant mass \pm CI	Coefficient for load ratio \pm CI	Adj R ²
Speed norm RMSE	0.912 [0.679;1.225]	0.104 \pm 0.137 ns	0.208 \pm 0.270 ns	0.02
Z position RMSE	0.863 [0.615;1.212]	0.154 \pm 0.157 .	0.412 \pm 0.310 *	0.10
Z position amplitude (BL)	1.242 [0.836;1.845]	0.042 \pm 0.184 ns	0.011 \pm 0.362 ns	0.00
Mean Z position (BL)	0.917 [0.755;1.113]	0.019 \pm 0.090 ns	-0.062 \pm 0.178 ns	0.00
Body angle (°)	0.884 [0.440;1.774]	0.120 \pm 0.347 ns	-0.622 \pm 0.652 .	0.09
Correlation coefficient	1.353 [0.835;2.194]	0.121 \pm 0.224 ns	-0.212 \pm 0.442 ns	0.04
Percentage congruity (%)	1.116 [1.012;1.231]	-0.024 \pm 0.045 ns	-0.176 \pm 0.090 ***	0.22
E_k / E_p phase (°)	2.174 [0.766;6.171]	-0.663 \pm 0.520 *	-0.995 \pm 0.993 *	0.14
$W_{ext,d}$ (nJ.mm ⁻¹)	1.060 [0.867;1.296]	0.113 \pm 0.093 *	1.484 \pm 0.184 ***	0.85
Specific $W_{ext,d}$ (nJ.mm ⁻¹ .mg ⁻¹)	1.120 [0.917;1.367]	0.107 \pm 0.093 *	0.454 \pm 0.183 ***	0.31
P_{ext} (nJ.s ⁻¹)	0.804 [0.578;1.118]	0.078 \pm 0.153 ns	1.205 \pm 0.302 ***	0.59
Specific P_{ext} (nJ.s ⁻¹ .mg ⁻¹)	1.202 [0.862;1.676]	0.016 \pm 0.154 ns	-0.255 \pm 0.304 .	0.04
Percentage recovery (%)	0.883 [0.571;1.367]	-0.082 \pm 0.203 ns	-0.144 \pm 0.400 ns	0.00

*Each line gives the result of a power law model describing the influence of ant mass and load ratio on the ratio of the biomechanical variables calculated for each ant between unloaded and loaded conditions. The first column corresponds to the ratio predicted by the model for the mean value of ant mass (12.5 mg) and for a load ratio of 1 (unloaded ant). The second column gives the coefficient for ant mass and the third column the coefficient for load ratio (with the level of significance given by the t value: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; . $p < 0.1$; n.s. $p \geq 0.1$). The last column gives the adjusted R² for the model.*

3.4 Discussion

In this study, we investigated the dynamics of locomotion of unloaded and loaded individuals of the polymorphic ant *M. barbarus*. We found that during unloaded locomotion the variations of the speed of the CoM and of its vertical position are characterized by a periodic pattern with two periods corresponding to the two steps included in one stride. These variations were well described by a sinus function, although the pattern of variation of the CoM Z position was strongly affected by load transport. The kinetic and potential energies were mostly in phase

during unloaded locomotion, which led to very low energy recovery values. With increasing load ratio, the variations in potential energy became much greater than the variations in kinetic energy. Therefore, ants performed mechanical work mainly to raise their CoM rather than to accelerate it. The external mechanical work ants had to perform to raise and accelerate their CoM was independent of body mass for unloaded ants and increased with load ratio for ants of same body mass.

3.4.1 Unloaded ants

During unloaded locomotion, the mean of the absolute Z position of the CoM, as well as the amplitude of its variations, did not differ between small and big ants. Therefore, relative to their size, the body of small ants was higher over the ground than that of big ants and their CoM made greater vertical oscillations. This difference in body posture could not be explained by a change in body inclination as this latter did not vary with ant mass. It thus seems that small ants are walking in a more erect posture and display a greater amplitude in the vertical displacement of their CoM than big ants. One explanation could be that small ants could be more excited than big ants when walking on the recording platform. This is indeed suggested by their higher locomotory speed relative to their size (Merienne *et al.* 2019, under review). However, in the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinator* Norman *et al.* (2014) found no differences in the threat response of ants of different sizes in. On the other hand, in the species *Atta capiguara* Hughes & Goulson (2001) found on the contrary that smaller workers in were more likely to respond than big workers to alarm signals. If it is also the case in *M. barbarus*, one cannot exclude that our manipulation of the ants prior to the experiment could have set them in an excited state. Further experiments on this question could give insights on the causes of the differences in body posture observed between different sized ants in our study.

The kinetic and potential energies of the CoM were mainly in phase during unloaded locomotion, which led to very low energy recovery values (7-9 %). These values are similar to those reported by Full & Tu (1991) in the cockroach *Periplaneta americana* and a bit below those reported in in the cockroach *Blaberus discoidalis* by Full & Tu (1990) and by Reinhardt & Blickhan (2014) in the ant *Formica polyctena*. These values are not consistent with the inverted pendulum model of Cavagna *et al.* (1977). As walking ants never display aerial phases

(Merienne et al. 2019, under review), their locomotion is rather better characterized as a form of *grounded running* (*Formica polyctena* : Reinhardt & Blickhan 2014).

No differences were observed in the mass specific external mechanical work nor in the mass specific external mechanical power between individuals of different sizes. This is in agreement with the literature which shows that the mass specific external mechanical work is constant over a wide range of species ranging from 10g to 100kg in body mass (Alexander, 2005; Full and Tu, 1991). The value we found in *M. barbarus* workers (mean \pm SD: $1.082 \pm 0.175 \text{ J.m}^{-1}.\text{kg}^{-1}$) is very close to that reported in the literature for a wide variety of organisms (i.e. just above $1 \text{ J.m}^{-1}.\text{kg}^{-1}$).

3.4.2 Loaded ants

Some of the CoM trajectory features were hardly affected during load transport. Indeed, independent of ant mass, we observed no changes in the mean CoM Z position nor in the amplitude of its oscillations in loaded ants. Even if one noted a decrease in the CoM mean speed in loaded ants (Merienne *et al.*, 2019, under review), this decrease had little impact on the sinus-like variations of the CoM speed norm (Figure 3.3D & 3.3F). However, the pattern of variation of the CoM Z position was strongly affected by heavy loads. The locomotion was much more jerky and the variations in the CoM Z position could not be approximated by a sinus function anymore. This seems especially true for big ants as one can observe that, for low *load ratio*, big ants seems to slightly raise their CoM a second time one each step (like a rebound) whereas the Z position pattern seems unaffected by the load for small ants (Figure 3.3C). Small ants exhibit this behavior for higher *load ratio* (Figure 3.3E) while the vertical oscillations of the CoM of big ants show great variability and does not seem to correspond to a periodic pattern. It would thus seem that carrying a relatively small load for big ants has the same effect on the vertical trajectory of the CoM than carrying a relatively big load for small ants. This observation is in agreement with the scale effect predictions, stating that the carrying capacity of ant decreases with their mass. However, this trend is only suggested by statistics (Z position RMSE value) and should not be over interpreted. Moreover, because of the decrease in locomotory speed due to carrying a load and the amplitude of the CoM Z position which remained unchanged, the amplitude of the variation of the CoM potential energy became much greater than the amplitude of the kinetic energy (Figure 3.4C-F). The

mechanical energy required to raise the CoM in loaded ants is thus much greater than that required to accelerate it. Therefore, the variations in the CoM potential energy and in the CoM mechanical energy are nearly identical and the external mechanical work is mostly achieved for raising the CoM.

Independent of ant mass, the mass specific mechanical work increased with load ratio. This is an unexpected result as mass specific mechanical work is independent of load ratio in humans (Bastien et al., 2016). It is thus mechanically more costly for ants to move one unit of mass on one unit of distance during loaded locomotion than during unloaded locomotion. Independent of load ratio, the mass specific mechanical work also increased with ant mass, which means that the mechanical work big ants have to perform in order to raise their CoM is greater than that of small ants.

None of the gait parameters we studied was discontinuously modified by load transport in loaded locomotion compared to unloaded locomotion. We conclude that ants do not use a specific gait in order to carry a load. Rather, they modify their locomotion proportionally to the mass of the load they transport.

In this study we focused only on the external mechanical work ants have to perform in order to rise and accelerate their CoM. Therefore, we did not take into account the internal mechanical work that ants have to perform in order to accelerate their legs relative to their CoM. Kram et al. (1997) found in the cockroach *Blaberus discoidalis* that this internal work represents about 13% of the external mechanical work generated to lift and accelerate the CoM. Considering that the stride frequency of *M. barbarus* (mean \pm SD: 4.8 ± 0.9 Hz, Merienne et al. 2019) is lower than that of *B. discoidalis* (mean \pm SD: 6.8 ± 0.8 Hz, Kram et al. 1997) and that the mass of the legs of the workers represents the same percentage of total body mass (10-12% for *M. barbarus*, unpublished data; 13% for *B. discoidalis*, Kram et al. 1997), we would expect the internal mechanical work to represent a smaller part of the total mechanical work in *M. barbarus* compared to *B. discoidalis*. Despite the technical difficulties of tracking the 3D displacement of insect legs (but see: Uhlmann et al. 2017), this aspect could constitute an interesting perspective for further studies.

4 Energétique de la locomotion et du transport de charge

4.1 Introduction

Les fourmis sont réputées pour leur capacité à porter des charges. Elles peuvent porter différents types de charges comme du matériel pour la construction du nid (Aleksiev *et al.*, 2007; Maák *et al.*, 2017), du couvain, d'autres fourmis, vivantes (Dahbi *et al.*, 1997; Kneitz, 1964) ou mortes (Diez *et al.*, 2011), des débris divers qu'elles trouvent sur leurs pistes de fourragement et qui constituent des obstacles à leur déplacement (Cevallos *et al.*, 2017) et, bien sûr, des items alimentaires de diverses natures (graines, proies, fragments de végétation chez les fourmis coupeuses de feuilles). Chez toutes les fourmis l'activité de fourragement à l'extérieur du nid est essentielle pour la survie de la colonie car elle permet d'assurer son approvisionnement en nourriture et donc l'apport énergétique aux individus qui la composent (larves, fourmis adultes). Cependant, cet apport énergétique est contrebalancé par les coûts énergétiques induits par la locomotion, et plus encore par le transport de charge. Ces coûts augmentent avec la température (Holm-Jensen *et al.*, 1980; Lighton & Bartholomew, 1988; Nielsen & Baroni-Urbani, 1990), la vitesse de la fourmi (Full & Tullis, 1990; Lighton *et al.*, 1993) et lors du transport de charge (Nielsen *et al.*, 1982; Lighton *et al.*, 1987; Bartholomew *et al.*, 1988; Duncan & Lighton, 1994; Weier *et al.*, 1995; Schilman & Roces, 2005; Moll *et al.*, 2012). Ils augmentent également avec la masse de la fourmi mais les coûts énergétiques spécifiques (donc ramenés à la masse de la fourmi) diminuent pour des masses de fourmis croissantes (Lighton *et al.*, 1987; Lighton & Bartholomew, 1988) comme cela est le cas chez tous les animaux, des insectes aux plus gros vertébrés (loi de Kleiber : Schmidt-Nielsen, 1984). Cette relation, qui peut être décrite par une loi de puissance dont l'exposant est approximativement égal à $-1/4$ (loi de Kleiber), s'applique aussi bien aux insectes qu'aux vertébrés (Full *et al.*, 1990). Cependant, on ne sait pas si elle est aussi valable pour des individus de la même espèce mais de différentes taille/morphologie.

Chez les espèces de fourmis présentant un polymorphisme de la caste ouvrière, il se pourrait que certains individus soient plus économes que d'autres pour le transport de charges et donc que ces individus aient un comportement de fourragement plus efficace. Chez les animaux dont le domaine vital est organisé autour d'un point central (terrier, nid), comme les insectes sociaux, cette efficacité peut être mesurée de deux façons différentes (Stephens & Krebs 1986). On peut soit la mesurer par l'efficacité énergétique, qui ne tient pas compte de la contrainte de temps, soit par le taux énergétique net (*net rate energetic intake*) qui en tient

compte. La première mesure correspond au ratio entre la quantité d'énergie contenue l'item alimentaire et l'énergie dépensée pour sa récolte (manipulation et locomotion). La deuxième mesure correspond au ratio entre la quantité d'énergie contenue dans l'item alimentaire moins l'énergie dépensée pour la locomotion non chargée (pour se rendre à la source de nourriture) et chargée (pour revenir au terrier ou au nid), le tout divisé par le temps mis par l'animal pour effectuer l'aller-retour entre son terrier ou son nid et la source de nourriture. Chez les fourmis qui récoltent des graines (*Pogonomyrmex occidentalis* : Fewell, 1988), contrairement à ce qui se passe chez l'abeille domestique par exemple (Schmid-Hempel *et al.*, 1985), il semblerait que les ouvrières au cours de leur activité de fourragement maximisent le taux énergétique net et non pas l'efficacité énergétique.

Quelle que soit la mesure d'efficacité du fourragement utilisée, il est nécessaire pour la calculer de pouvoir estimer à la fois le contenu énergétique de l'item alimentaire récolté et le coût énergétique lié à la récolte, c'est-à-dire l'énergie dépensée par la fourmi lors de la locomotion (non chargée et chargée). Le contenu énergétique de l'item alimentaire peut être déterminé par calorimétrie (Fewell, 1988). Le coût énergétique de la locomotion quant 'à lui peut être estimé par la mesure du taux métabolique de la fourmi via l'utilisation d'un respiromètre. Cet appareil permet de mesurer la quantité de O₂ consommée par la fourmi (et/ou la quantité de CO₂ produite) et d'utiliser cette valeur comme proxy de l'énergie métabolique dépensée lors de la locomotion. Le taux métabolique a été mesuré pour de nombreuses espèces de fourmis au moyen de deux méthodes différentes : la respirométrie à volume constant (*stop flow respirometry*) et la respirométrie à flux continu (*flow through respirometry*) (Lighton, 2008; Lighton & Halsey, 2011). Dans le premier cas, la fourmi est enfermée dans une chambre respirométrique parfaitement étanche pendant un certain temps. A l'issue de ce temps, l'air de la chambre est conduit à un analyseur qui détermine le surplus de CO₂ (ou la diminution d'O₂) par rapport à l'air d'une chambre respirométrique vide utilisée comme contrôle. On accède alors au taux métabolique moyen de la fourmi en divisant cette quantité par la durée de l'expérience. L'autre méthode consiste à placer la fourmi dans une chambre respirométrique et de faire passer à travers celle-ci un flux d'air continu dont la teneur en CO₂ (ou O₂) est mesurée en permanence. Cette méthode nécessite des appareils bien plus précis mais permet de lier le taux métabolique de la fourmi à son activité.

Dans ce chapitre, nous avons mesuré par respirométrie à flux constant le taux métabolique de fourmis chargées et non chargées pour des individus représentant l'éventail de masses corporelles trouvées dans les colonies de *M. barbarus*, ainsi que pour des charges dont les masses représentaient des *load ratio* entre 1.4 et 5.2. Ceci nous a permis de tester si le taux métabolique variait de la même façon chez des fourmis de différentes tailles portant des charges de masses relatives équivalentes. La locomotion étant plus instable chez les grosses ouvrières que chez les petites ouvrières de *M. barbarus*, celles-ci doivent s'accrocher davantage au substrat afin de ne pas tomber (voir chapitre I). On peut donc se poser la question de savoir si cela entraîne un coût supplémentaire pour ces individus. Enfin, on ne connaît pas bien chez les insectes l'impact de la dessiccation sur le métabolisme énergétique des individus. Pour répondre à toutes ces questions nous avons réalisé nos expériences à deux températures différentes et sur plusieurs heures successives. Les données ont été ensuite analysées avec un modèle statistique permettant d'étudier l'impact sur le taux métabolique de la masse corporelle de la fourmi, de son activité, de sa colonie d'origine, de la température ambiante, du temps écoulé depuis le début de l'expérience et, le cas échéant, de la masse relative de la charge portée par la fourmi. Nous avons ensuite utilisé ce modèle, ainsi que les résultats du chapitre 1 concernant la vitesse des fourmis, pour prédire le taux énergétique net des fourmis en fonction de leur masse et de la masse de la charge transportée ainsi que de paramètres propres à la source de nourriture considérée.

4.2 Matériel et méthodes

4.2.1 Espèce étudiée

Le travail a été réalisé sur l'espèce *Messor barbarus*, une espèce de fourmi granivore fréquemment rencontrée sur la côte méditerranéenne. Elle est caractérisée par un polymorphisme important de la caste ouvrière, la masse corporelle des individus pouvant varier entre 1,5 et 40 milligrammes. Toutes les expériences ont eu lieu à l'université de Copenhague entre octobre 2018 et janvier 2019. Pour ces expériences nous avons utilisé deux colonies de *M. barbarus*. La première colonie a été récoltée à St Hippolyte (Pyrénées Orientales) dans le sud de la France en septembre 2018 et a été transportée à Copenhague par avion. La seconde a été élevée au laboratoire à Copenhague à partir d'une reine récoltée lors d'un essaimage qui a eu lieu en Espagne en 2017.

Les deux colonies étaient placées dans des boîtes en plastique (longueur*largeur*hauteur : 35*25*20 cm) dans lesquelles étaient placés des tubes recouverts de papier opaque comportant un réservoir d'eau à leur extrémité. Les fourmis étaient nourries avec un mélange de graines pour canaris et avaient accès *ad libitum* à de l'eau. La température de la salle d'expérimentation, où étaient conservées les colonies et où avaient lieu les expériences, était régulée à 27°C (± 1 °C) ou 34°C (± 1 °C) en fonction de l'expérience en cours.

4.2.2 Principe de la respirométrie à volume constant

La méthode que nous avons utilisée pour la mesure du coût métabolique des fourmis est la méthode de respirométrie à volume constant (*stop-flow respirometry*). Cette méthode consiste à enfermer la fourmi dans une chambre respirométrique parfaitement étanche et à mesurer au bout d'un certain temps la quantité cumulée de CO₂ qu'elle a produit sur cette période. La chambre respirométrique est d'abord remplie d'air dont a été éliminé le CO₂. Puis, après un certain intervalle de temps, on chasse l'air contenu dans la chambre et celui-ci, une fois asséché, est envoyé vers une sonde qui mesure sa teneur en CO₂. On peut alors calculer la quantité d'O₂ consommée par la fourmi en divisant la quantité de CO₂ rejetée par le quotient respiratoire (i.e. le ratio entre la production de CO₂ et la consommation d'O₂). La valeur du quotient respiratoire dépend de la nature des aliments dont se nourrissent les fourmis. La valeur de 0.77, correspondant à la valeur calculée pour l'espèce *Messor capitatus* (Baroni-Urbani & Nielsen, 1990) a été utilisée dans nos expériences. La quantité d'O₂ peut être ensuite convertie en unités énergétique (Joules) en utilisant la correspondance établie par calorimétrie par Brody (1945, table 12-1). Nous obtenions alors l'équivalence 1 ml(CO₂) = 6.187 cal et en considérant que 1 cal = 4.184 J nous avons utilisé : 1 ml(CO₂) = 25.89 J.

4.2.3 Système expérimental (Figure 4.1)

Le système que nous avons utilisé a été conçu par Sable System International (SSI ; Las Vegas, Nevada, <https://www.sablesys.com/>). Il comprend tout d'abord une pompe aspirant de l'air de la salle d'expérimentation et l'injectant dans un tube avec un débit de 50ml/min (± 1 ml/min). Ce débit est contrôlé à l'aide d'une valve de précision (SideTrak 840, Sierra Instruments, Monterey, California, contrôlé par MFC2 *mass flow control unit*, SSI). L'air aspiré traverse ensuite une colonne contenant trois couches de produits (Drierite/Ascarite/Drierite)

qui vont absorber et ainsi retirer le CO₂ (Ascarite) et l'eau (Drierite) présents dans l'air puisé dans la salle. Puis, le flux d'air passe à travers un système humidifiant permettant de régler précisément son taux d'humidité (RH-300 *water vapor analyser*, SSI). L'air arrive ensuite à un multiplexer (MUX Flow multiplexer, SSI) qui permet de l'orienter vers une des sept chambres respirométriques (tubes cylindriques de 80mm de long et 22mm de diamètre, volume de 30ml) dans lesquelles se trouvent les fourmis ou bien de lui laisser simplement continuer son chemin. Le multiplexer et les différents appareils de mesures sont contrôlés par un logiciel (ExpeData, version 1.7.5, SSI) à l'aide d'un appareil d'interface (UI-2 *universal interface*, SSI). A la sortie des chambres l'air traverse un cylindre contenant du perchlorate de magnésium qui permet d'éliminer l'eau qu'il contient. Il est envoyé ensuite vers un analyseur de CO₂ (CA-10 *carbon dioxide analyser*, SSI) qui mesure sa concentration en CO₂ avec une résolution de 1ppm.

Les chambres respirométriques étaient placées dans des boîtiers (AD2 activity detector, SSI) permettant, grâce à un système de laser, de détecter les mouvements des fourmis dans la chambre et donc d'estimer leur activité. Durant toute la durée de l'expérience, la température, le taux d'humidité, la concentration en CO₂ de l'air envoyé dans les chambres et l'activité de chaque fourmi étaient mesurés et enregistrés.

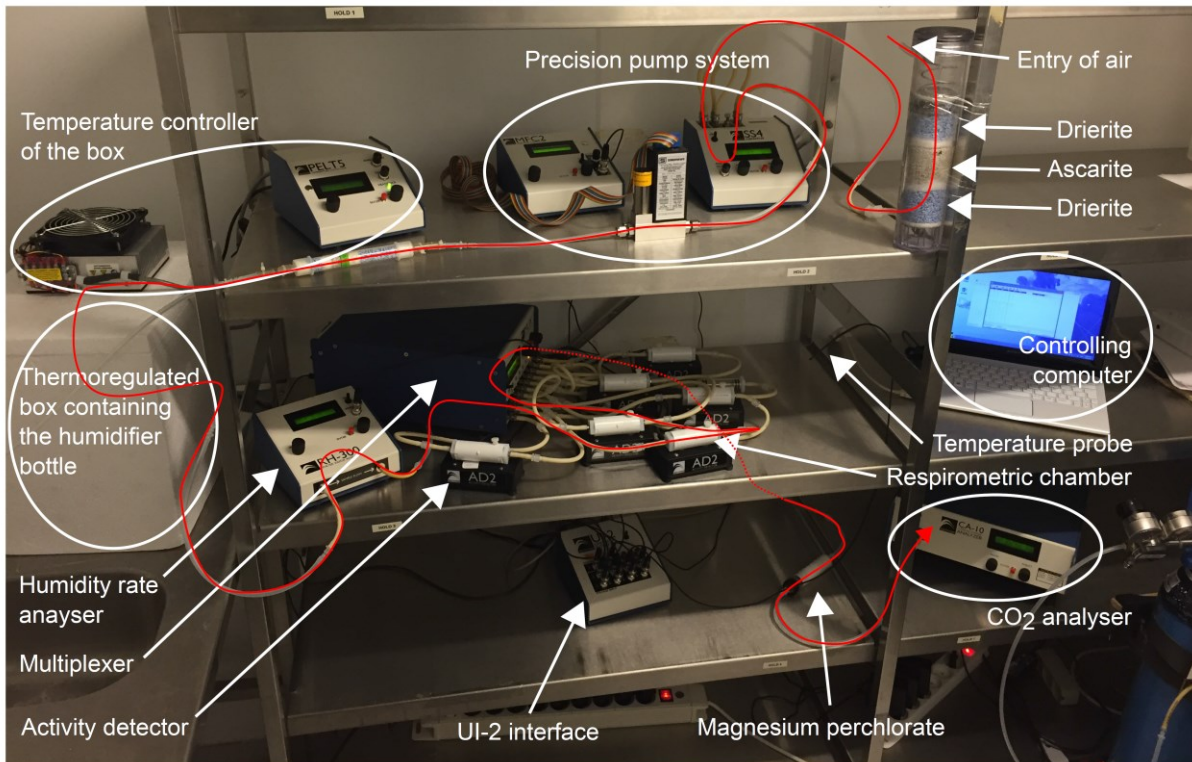


Figure 4.1 : Photo du système expérimental. Le trait rouge correspond au trajet de l'air traversant une des chambres respirométriques.

4.2.4 Protocole expérimental

Au début des expériences, six fourmis étaient pesées au moyen d'une balance de précision (AG285 Mettler Toledo, Columbus, Ohio, US). Les fourmis étaient choisies de manière à représenter la gamme des différentes masses des individus dans la colonie. Pour les fourmis chargées, les charges étaient choisies de manière à couvrir une gamme de *load ratio* allant de 1.4 à 5.2. Les charges consistaient en des poids de pêche calibrés collés sur les mandibules des fourmis en suivant le même protocole que celui décrit dans les chapitres précédents. Chacune des fourmis était alors placée dans l'une des six chambres respirométriques, la septième servant de contrôle. En effet, les chambres n'étaient pas parfaitement étanches et une petite quantité de CO₂ s'infiltrait à l'intérieur de celles-ci durant l'expérience. La quantité de CO₂ s'infiltrant pendant une heure était déterminée au moyen de la chambre vide et soustraite de la mesure réalisée dans les autres chambres. Avant chaque expérience, l'analyseur de CO₂ était étalonné grâce à un gaz de diazote pur et un gaz de concentration en CO₂ connu (1000 ppm CO₂ dans N₂). Chaque chambre était traversée par le flux d'air pendant 200 secondes avant d'être scellée pendant une heure. Lorsqu'une chambre était vidée de son air, le logiciel

ExpeData convertissait la mesure en continu de la concentration de CO₂ présent dans l'air (en ppm) en volume de CO₂ (en μL) produite par la fourmi sur l'heure écoulée (μl(CO₂).h⁻¹). L'expérience durait six heures mais les données obtenues pour la première heure de l'expérience n'étaient pas considérées étant donné que l'air qui se trouvait initialement dans la chambre contenait le CO₂ présent dans l'air de la pièce. Les fourmis étaient pesées à nouveau à la fin de l'expérience afin de déterminer le pourcentage de masse corporelle perdue par dessiccation. Elles étaient ensuite placées au congélateur et séchées ensuite pendant 12 heures dans une étuve à 60°C avant d'être repesées pour obtenir leur poids sec.

Les expériences ont été conduites à deux températures différentes : 27°C et 34°C.

4.2.5 Calibration des boîtiers détecteurs d'activité

Les boîtiers dans lesquels étaient placées les chambres respirométriques mesurent l'activité des fourmis au moyen d'un système d'émission et de réception de lumière infrarouge (longueur d'onde : 900nm). Le boîtier dans lequel est placée la chambre respirométrique est constitué d'une surface réfléchissante qui diffracte les ondes électromagnétiques dans l'ensemble de la chambre et envoie un signal unique au capteur. Lorsque la fourmi se déplace ce signal est modifié et le boîtier enregistre le changement. Cependant, la mesure d'activité donnée par le boîtier pour chaque heure consiste en un score unique (valeur comprise pour nos expériences entre 50 et 750) et nous avons deux interrogations à propos de cette valeur : 1- à quel pourcentage de temps d'activité correspond le score donné par les boîtiers ? 2- existe-t-il un biais lié à la taille de la fourmi dans la mesure observée ? On pourrait penser en effet que les fourmis plus grosses génèrent un score d'activité plus important que les fourmis plus petites. Afin de calibrer ces valeurs, l'idéal aurait été de pouvoir associer la valeur donnée par le boîtier au pourcentage de temps d'activité de la fourmi que nous aurions pu obtenir en la filmant et en effectuant une poursuite automatique de son déplacement. Or, le boîtier était opaque et il était donc impossible d'observer la fourmi à l'intérieur de celui-ci. Pour résoudre ce problème nous avons donc filmé pendant une heure, à 27°C, des fourmis de toutes tailles placées dans des chambres respirométriques – hors des boîtiers d'activité – et nous avons quantifié ensuite leur déplacement au moyen du logiciel de poursuite automatique Tosia développé au CRCA par Maud Combe. Pour reproduire au mieux les conditions de l'expérience, les fourmis étaient placées dans la pénombre, avec juste suffisamment de

lumière pour pouvoir les distinguer. Pour chaque fourmi, la trajectoire était lissée au moyen d'un filtre de Savitsky-Golay ($p=2$, $n=5$: Savitzky & Golay, 1964) afin de réduire le bruit lié à la poursuite automatique. Pour éliminer les micromouvements enregistrés par le logiciel de poursuite automatique lorsque la fourmi est à l'arrêt nous considérons que la fourmi était en déplacement lorsque sa vitesse dépassait 4 mm/s et nous calculons alors le pourcentage de temps pendant lequel la fourmi était en déplacement sur l'heure écoulée.

4.2.6 Analyse statistique

Le taux métabolique mesuré a été ramené à la masse de la fourmi en divisant sa valeur par la masse fraîche initiale de la fourmi. Nous avons ainsi obtenu un taux métabolique spécifique (exprimé en $\mu\text{L}(\text{CO}_2).\text{h}^{-1}.\text{mg}^{-1}$) dont nous avons étudié les variations à l'aide d'un modèle linéaire à effets mixtes en utilisant le package *nlme* de R (Pinheiro et al., 2018). Les variables explicatives considérées pour les fourmis non chargées étaient les suivantes : logarithme décimal de la masse fraîche initiale de la fourmi (variable continue), température à laquelle s'est déroulée l'expérience (variable catégorielle à deux niveaux : 27°C et 34°C), colonie d'appartenance de la fourmi (variable catégorielle à deux niveaux), logarithme décimal du score d'activité (variable continue) et heure de l'expérience (variable discrète prenant des valeurs entières de 1 à 5). Pour les fourmis chargées les mêmes variables explicatives ont été considérées dans le modèle auxquelles nous avons rajouté le logarithme décimal du *load ratio* (variable continue). L'identité de la fourmi a été rentrée dans les deux cas en variable aléatoire.

Dans un premier temps nous avons comparé sur la base de la valeur de l'AIC un modèle mixte avec intercept aléatoire et un modèle mixte avec intercept et pente aléatoire et nous avons choisi le modèle ayant la valeur d'AIC la plus basse (Schielzeth & Forstmeier, 2009). Puis, nous avons examiné la qualité du modèle sélectionné en représentant la valeur des résidus du modèle en fonction des valeurs prédites et en fonction des valeurs prises par chaque variable explicative (vérification de l'hétéroscédasticité des résidus) et en utilisant un *qqplot* pour vérifier la normalité des résidus (Zuur et al., 2009). Suite à cet examen la variable réponse (taux métabolique spécifique) a été transformée en log pour améliorer la qualité du modèle. Nous avons utilisé les fonctions disponibles dans le package *visreg* de R (Breheny & Burchett, 2017) pour explorer graphiquement les prédictions du modèle. Enfin, pour chaque modèle

nous avons calculé à l'aide de la fonction *r.squaredGLMM* du package R *MuMin* (Barton, 2018) la proportion de variance de la variable réponse expliquée par les effets fixes uniquement (*R² marginal*) et par les effets fixes et aléatoires (*R² conditionnel*) (Nakagawa & Schielzeth, 2013).

4.2.7 Calcul du taux énergétique net

Le taux énergétique net, ζ , correspond au taux auquel une fourmi pratiquant une activité de fourragement donnée apporte (si ce taux est positif) de l'énergie à la colonie. Pour une fourmi réalisant une activité de fourragement donnée, il s'obtient par définition par l'équation :

$$\zeta = \frac{E_C^F - E_S^F}{t^F}$$

où E_C^F correspond à l'énergie contenue dans la graine ramenée par la fourmi, E_S^F au surplus d'énergie dépensée par la fourmi lors du fourragement par rapport à une fourmi inactive et t^F au temps total nécessaire pour récolter l'item alimentaire. L'exposant F (*Field*) fait référence à l'activité de fourragement effectivement réalisée par la fourmi sur le terrain, il sera plus tard opposé à l'exposant L (*Laboratory*), correspondant aux variables déterminées en laboratoire. Nous détaillerons ici le mode de calcul de ce taux en nous basant sur une activité de fourragement donnée. Nous noterons d_u^F la longueur du trajet effectué par la fourmi pour se rendre depuis le nid vers la source de nourriture (indice u pour « *unloaded* ») et d_l^F la longueur du trajet effectué par la fourmi pour revenir au nid (indice l pour « *loaded* »). La température sera considérée constante et égale à 27°C, correspondant à la température pour laquelle on observe sur le terrain l'activité maximale chez *M. barbarus* (Azcárate et al., 2007).

On peut calculer E_C^F si on connaît la masse de la graine et la valeur énergétique par unité de masse C de celle-ci. On peut l'exprimer en fonction de la masse fraîche initiale m de la fourmi et du *load ratio* LR avec l'équation :

$$E_C^F = E_C^F(m, LR, C) = m * (LR - 1) * C$$

Le fourragement se décompose en deux phases : l'aller au cours duquel la fourmi est non chargée, et le retour, lorsqu'elle transporte la graine à la colonie. On peut donc écrire :

$$E_S^F = E_{S,u}^F + E_{S,l}^F$$

$$t^F = t_u^F + t_l^F$$

Avec $E_{S,u}^F$ (respectivement $E_{S,l}^F$) et t_u^F (respectivement t_l^F), l'énergie dépensée et la durée de la phase aller (respectivement retour). Le surplus d'énergie dépensée lors de la phase aller par rapport à une fourmi inactive, $E_{S,u}^F$, peut s'exprimer par l'équation:

$$E_{S,u}^F = E_{S,u}^F(m, v_u^F(m, t), t_u^F) = m * \int_0^{t_u^F} Y_{S,u}^F(m, v_u^F(m, t), t) dt - m * t_u^F(m) * Y_{S,0}^F(m)$$

où $Y_{S,u}^F(m, v_u^F(m, t), t)$ est le taux métabolique spécifique (en $J.s^{-1}.mg^{-1}$) de la fourmi non chargée de masse m marchant à la vitesse $v_u^F(m, t)$ au temps t de la locomotion et $Y_{S,0}^F(m)$ est le taux métabolique spécifique au repos de la fourmi (en $J.s^{-1}.mg^{-1}$). Nous ferons l'hypothèse que la vitesse des fourmis sur le terrain (v_u^F) est constante, et ne dépend que de leur masse (et du *load ratio* pour le transport de charge).

$$v_u^F(m, t) = v_u^F(m)$$

De plus, nous ferons l'hypothèse que la vitesse de la fourmi est la même lors des expériences de respirométrie et sur le terrain et que le taux métabolique spécifique de la fourmi à cette vitesse en laboratoire est identique à celui du terrain :

$$Y_{S,u}^F(m, v_u^F(m), t) = Y_{S,u}^L(m, t)$$

$$Y_{S,0}^F(m) = Y_{S,0}^L(m)$$

De même nous considérerons que cette vitesse est identique à celle observée lors de l'expérience présentée au chapitre 1 (v_u^L), ce qui se traduit par :

$$\frac{d_u^F}{t_u^F(m)} = v_u^F(m) = v_u^L(m)$$

Bien que nous observions une légère diminution du taux métabolique associé à la locomotion au cours du temps, nous ferons l'hypothèse qu'il est constant sur la durée du fourragement, c'est-à-dire que nous considérons que la fatigue musculaire, si elle existe pour les fourmis, n'a pas d'effet sur le taux métabolique. On obtient alors :

$$Y_{S,u}^F(m, t) = Y_{S,u}^F(m)$$

Et donc :

$$E_{S,u}^F(m, t_u^F) = m * t_u^F(m) * (Y_{S,u}^L(m) - Y_{S,0}^F(m))$$

Nous avons considéré que le taux métabolique spécifique correspondait aux prédictions des deux modèles statistiques présentés plus haut pour les fourmis non chargées et chargées de la colonie 1, en fixant la température à 27°C et en considérant la première heure de l'expérience pour laquelle le taux métabolique était calculé. Nous avons considéré que le taux métabolique spécifique lors de la locomotion (non chargée $Y_{S,u}^L(m)$ ou chargée $Y_{S,l}^L(m, LR)$) correspondait aux prédictions du modèle pour un score d'activité de 100% et que le taux métabolique spécifique au repos ($Y_{S,0}^L(m)$) correspondait à la prédiction du modèle en locomotion non chargée pour un score d'activité de 0%.

De plus, nous avons fait l'hypothèse que, dans le cas d'une piste de fourrage établie, les trajets aller et retour sont identiques et donc que l'on a :

$$d_u^F = d_l^F = d^F$$

On peut donc exprimer $E_{S,u}^F$ par l'équation :

$$E_{S,u}^F = E_{S,u}^F(m, d^F) = m * (Y_{S,u}^L(m) - Y_{S,0}^L(m)) * \frac{d^F}{v_u^L(m)}$$

Avec le même raisonnement et les mêmes hypothèses, on peut écrire :

$$E_{S,l}^F = E_{S,l}^F(m, LR, d^F) = m * (LR * Y_{S,l}^L(m, LR) - Y_{S,0}^L(m)) * \frac{d^F}{v_l^L(m, LR)}$$

Le taux énergétique net s'écrit alors :

$$\zeta(m, LR, C, d^F)$$

$$= \frac{(m * (LR - 1) * C) - m * (Y_{S,u}^L(m) - Y_{S,0}^L(m)) * \frac{d^F}{v_u^L(m)} - m * (LR * Y_{S,l}^L(m, LR) - Y_{S,0}^L(m)) * \frac{d^F}{v_l^L(m, LR)}}{\frac{d^F}{v_u^L(m)} + \frac{d^F}{v_l^L(m, LR)}}$$

Ce qui peut s'exprimer ainsi :

$$\zeta(m, LR, C, d^F)$$

$$= \frac{\frac{C}{d^F} * (m * (LR - 1)) - m * \left(\frac{Y_{S,u}^L(m) - Y_{S,0}^L(m)}{v_u^L(m)} + \frac{LR * Y_{S,l}^L(m, LR) - Y_{S,0}^L(m)}{v_l^L(m, LR)} \right)}{\frac{1}{v_u^L(m)} + \frac{1}{v_l^L(m, LR)}}$$

Nous avons estimé les fonctions v_u^L et v_l^L à partir des données de l'expérience présentée au chapitre 1. La vitesse v_u^L (en $mm.s^{-1}$) lors de la locomotion non chargée est indépendante de la masse de la fourmi :

$$v_u^L(m) = v_u^L = 29.08 \text{ mm.s}^{-1} \pm 4.47 \text{ mm.s}^{-1} \text{ (moyenne } \pm \text{ écart type)}$$

Lors de la locomotion chargée, la vitesse v_l^L s'obtient par l'équation:

$$v_l^L(m, LR) = 31.61 - 0.1854 * m - 28.91 * \log_{10}(LR) \text{ mm.s}^{-1}$$

Cette équation provient du modèle linéaire utilisé pour prédire la vitesse en locomotion chargée en fonction de la masse de la fourmi et du LR ($P < 0.001$, $F_{2,49} = 49.82$).

On remarque dans la formule de ζ que le taux énergétique net dépend de deux facteurs propres à la fourmi (sa masse m et le *load ratio* LR) et de deux paramètres définissant la source de nourriture (sa distance à la colonie d^F et la valeur énergétique massique des graines C). Or on s'aperçoit que ces deux derniers paramètres interviennent au même endroit dans l'équation. La source de nourriture peut donc être définie par le seul rapport $\frac{C}{d^F}$. Les graines récoltées par *M. barbarus* sont issues de diverses espèces de plantes (Azcarate et al., 2005) et leur valeur énergétique massique est donc différente. En nous basant sur la détermination de l'énergie par calorimétrie pour certaines de ces graines ou des graines de la même famille (Kelrick *et al.*, 1986; Nielsen & Baroni-Urbani, 1990; Tian & Zhu, 1992), nous avons pu déterminer que C devait varier entre $10 J.mg^{-1}$ et $40 J.mg^{-1}$. Quant à la longueur de la piste entre le nid et la source de nourriture, elle peut atteindre plusieurs dizaines de mètres. Tout d'abord nous avons calculé la valeur du taux énergétique net pour un rapport $\frac{C}{d^F}$ typique ($C = 20 J.mg^{-1}$ et $d^F = 10 m$) en fonction de la masse de la fourmi (variant entre $1mg$ et $35mg$) et du LR (variant entre 1.4 et 5). Puis, pour un rapport $\frac{C}{d^F}$ donné et une masse de graine donnée, nous avons exprimé la fonction ζ en fonction de la masse de la fourmi uniquement. Nous avons ensuite appliqué une fonction d'optimisation (fonction *optimize* du package *R stats*) afin de trouver le maximum de cette fonction ainsi que la masse de la fourmi correspondante. Nous avons ainsi déterminé la masse de la fourmi menant au taux énergétique net maximal pour des graines dont la masse variait de 1 à 50 mg et dont le rapport $\frac{C}{d^F}$ variait de 0.2 (correspondant au cas le plus défavorable : $C = 10 J.mg^{-1}$ et $d^F = 50 m$) à

20 (correspondant au cas le plus favorable : $C = 40 \text{ J} \cdot \text{mg}^{-1}$ et $d^F = 2 \text{ m}$), ainsi que la valeur du taux énergétique net maximal et le LR correspondants.

4.3 Résultats

4.3.1 Calibration des boitiers d'activités

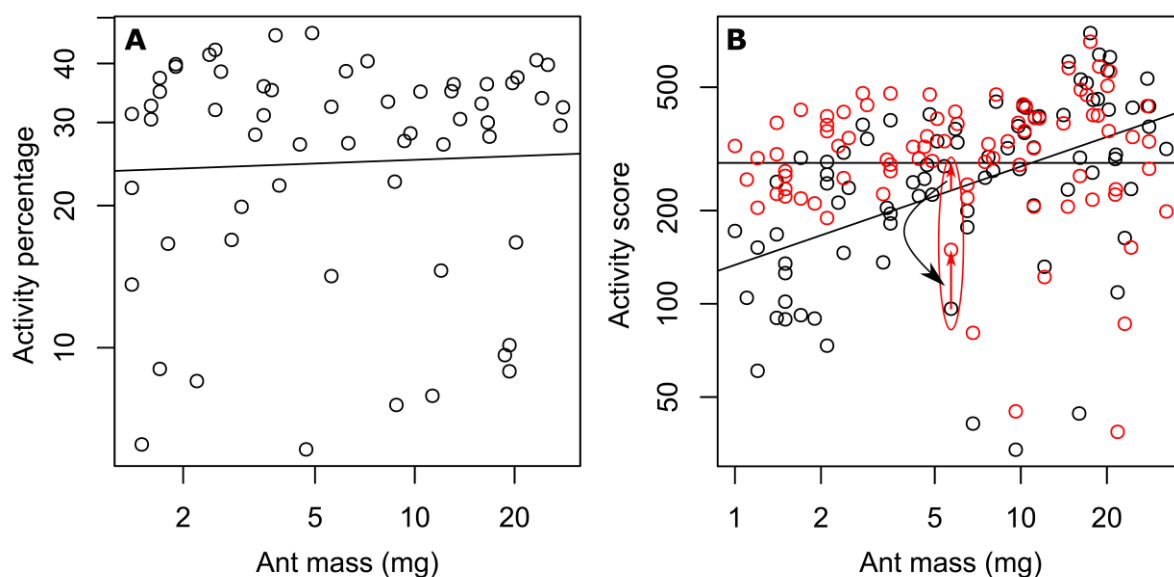


Figure 4.2: Activité de la fourmi en une heure en fonction de sa masse initiale fraîche. **A** : Valeurs provenant de la poursuite automatique des fourmis dans les chambres respirométriques hors des boitiers d'activité ; la droite représente un modèle linéaire du \log_{10} (pourcentage d'activité sur une heure) en fonction de \log_{10} (masse fourmi) ($P=0.731$, $R^2=0$, $F_{1,58}=0.1192$). **B** : En noir, les scores d'activité provenant des boitiers d'activité pour des fourmis non chargées pendant la première heure de l'expérience, la droite horizontale correspond à la moyenne, l'autre droite correspond à un modèle linéaire entre \log_{10} (score d'activité donné par le boitier) et \log_{10} (masse fourmi) d'équation \log_{10} (valeur du détecteur d'activité) = $2.12 + 0.32 * \log_{10}$ (masse fourmi) ($P<0.001$, $R^2=0.23$, $F_{1,82}=25.24$). En rouge les scores d'activité corrigés.

Lors des tests complémentaires où nous filmions les fourmis, l'activité des fourmis ne semblait pas dépendre de leur masse initiale fraîche et se situait entre 6% et 47% (Figure 4.2A ; moyenne \pm écart type : 27.8 ± 11.3 %).

Pourtant, les valeurs données par les boitiers d'activité lors de la première heure de l'expérience à 27°C montraient une augmentation de l'activité avec la taille de la fourmi (Figure 4.2B). Il semble donc que le boitier d'activité surévalue l'activité des grosses fourmis.

Pour corriger ce biais, nous avons appliqué une transformation à nos scores d'activité. Cette transformation consiste à rajouter à chaque valeur de score d'activité la différence entre la moyenne du score d'activité et la valeur du score prédite par le modèle (Figure 4.2B). Nous avons fait l'hypothèse que cet effet constaté pour la première heure d'expérience pour les fourmis non chargées à 27°C était identique pour toutes les autres conditions (chargée / non chargée, température, heure) et nous avons appliqué cette transformation à tous les scores d'activité. Enfin, nous avons exprimé ces scores d'activité corrigés en pourcentage en considérant que le score maximal donné par les boitiers pour les fourmis non chargées lors de la première heure à 27°C correspondait à la valeur maximale de pourcentage de temps d'activité trouvée en filmant les fourmis dans les mêmes conditions. Ce sont ces dernières valeurs que nous utiliserons pour la suite de l'analyse.

4.3.2 Dessiccation des fourmis

Privées de sources d'eau pendant les six heures de l'expérience, les fourmis se desséchaient et perdaient de la masse (Figure 4.3A). Cette perte était proportionnellement plus importante pour les petites fourmis ($F_{1,145} = 72.03$, $P < 0.001$) alors même que la proportion totale de masse sèche était la même pour toutes les tailles de fourmis (Figure 4.3B). Plusieurs fourmis étaient retrouvées mortes ou inertes à la fin de l'expérience. C'est pour réduire cette dessiccation que nous avons humidifié l'air introduit dans les chambres pour atteindre un taux d'humidité constant de 67%. De plus, parce que les fourmis pouvaient mourir durant les expériences, nous n'avons pas retenu les heures de l'expérience où l'activité était quasi nulle, ni l'heure précédent celle-ci et toutes celles la suivant.

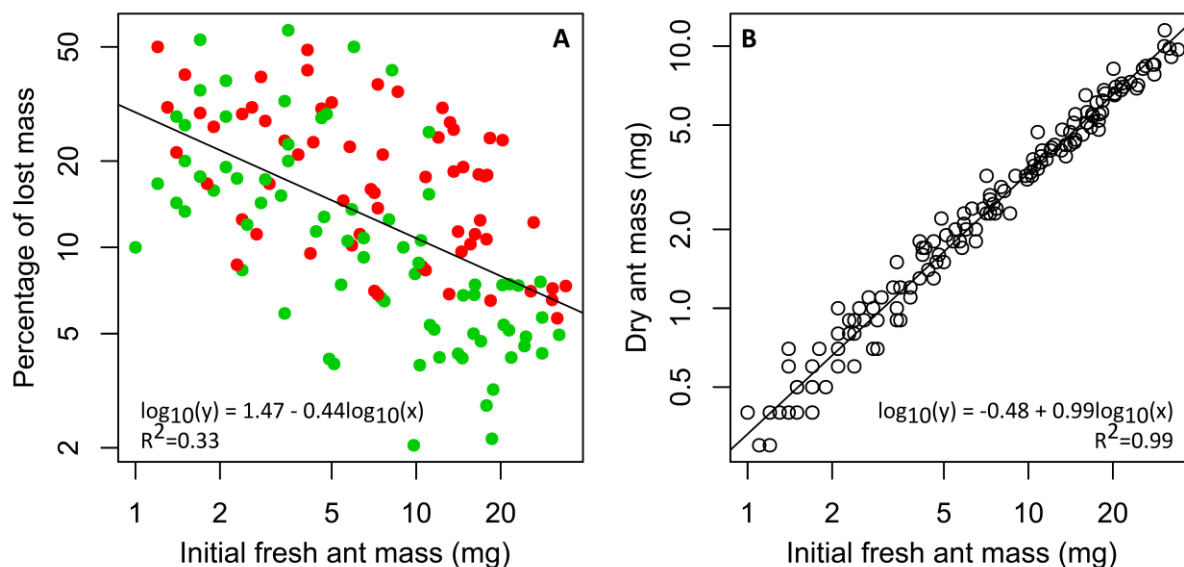


Figure 4.3 : Variation de la masse de la fourmi. **A** : Variation du pourcentage de masse perdue durant les six heures de l'expérience à 27°C (en vert) et 34°C (en rouge) en fonction de la masse fraîche initiale de la fourmi ($P < 0.001$, $F_{1,145} = 72.03$). **B** : Variation de la masse sèche de la fourmi en fonction de sa masse fraîche initiale ($P < 0.001$, $F_{1,148} = 7125$).

4.3.3 Fourmis non chargées

La proportion de variance du taux métabolique spécifique (ramené à la masse initiale fraîche de la fourmi) des fourmis non chargées expliquée par les effets fixes considérés dans le modèle statistique est de 0,514 (*R2 marginal*) et par les effets fixes et les effets aléatoires combinés de 0,918 (*R2 conditionnel*), ce qui est tout à fait satisfaisant. Le taux métabolique spécifique ne diffère pas significativement entre les deux colonies (Figure 4.4A : $t = 0,133$, $P = 0,895$). Toutes choses étant égales par ailleurs, il augmente significativement lorsque la température à laquelle se déroule l'expérience passe de 27°C à 34°C (Figure 4.4 : $t = 3.329$, $P = 0,0011$) et lorsque le score d'activité augmente (Figure 4.4.C : $t = 5.683$, $P < 0,001$). Par contre, il diminue significativement au cours de l'expérience (Figure 4.4D : $t = -5.193$, $P < 0,001$) et lorsque la masse fraîche initiale de la fourmi augmente (Figure 4.4B : $t = -13.121$, $P < 0,001$).

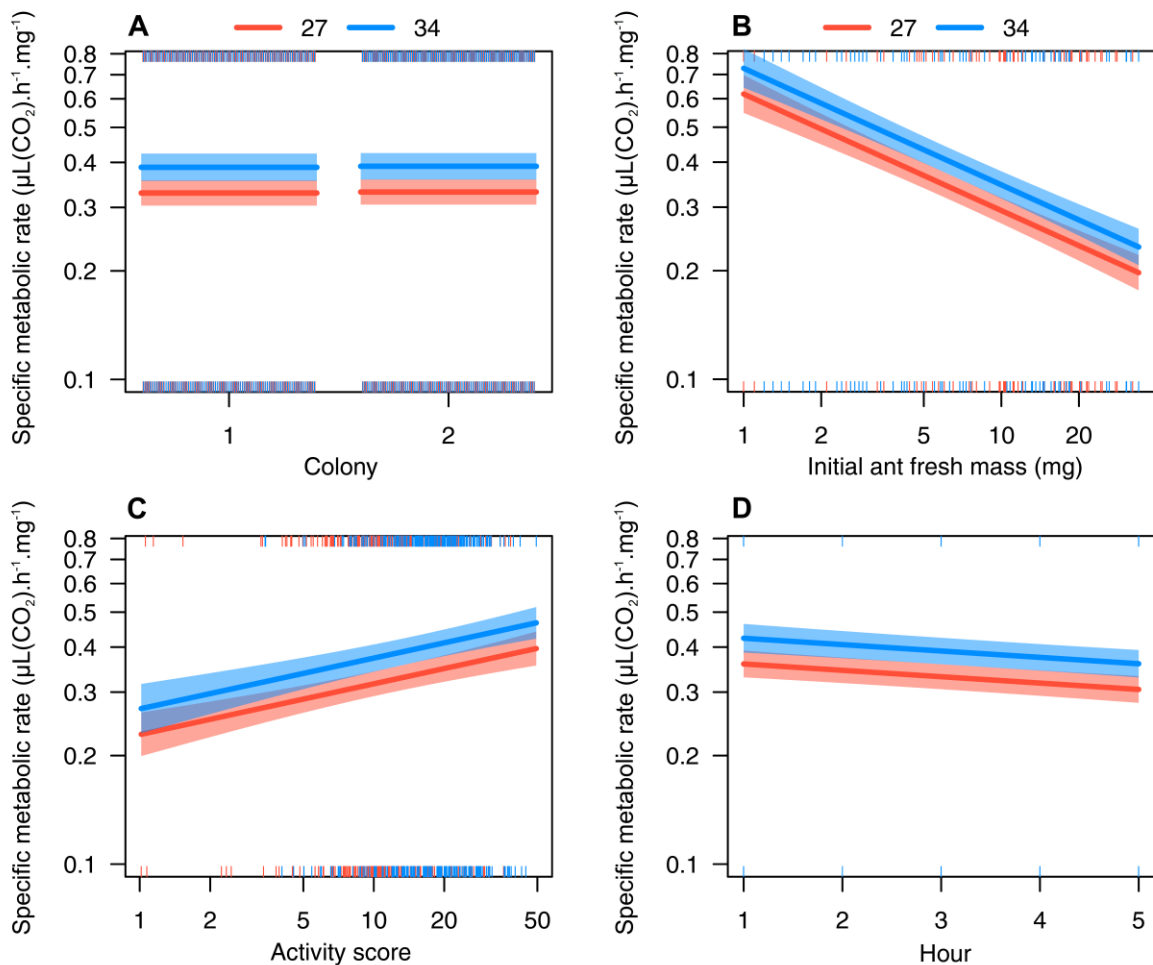


Figure 4.4: Effets de la colonie (A), de la masse fraîche initiale de la fourmi (B), de son score d'activité (C) et du temps écoulé depuis le début de l'expérience (D) sur le taux métabolique spécifique des fourmis non chargées. Chaque représentation donne les valeurs du taux métabolique spécifique prédites (avec l'intervalle de confiance à 95% représenté par la zone de couleur) par un modèle statistique prenant en compte la colonie d'appartenance de la fourmi, les effets de la masse fraîche initiale de la fourmi, de son score d'activité, et du temps écoulé depuis le début de l'expérience. Pour chaque représentation les valeurs des variables non représentées sont les valeurs médianes, soit : masse fraîche initiale de la fourmi= 6.9 mg, score d'activité= 13.8%, heure= 3. Les représentations B, C et D correspondent aux fourmis de la colonie 2 (N= 77).

4.3.4 Fourmis chargées

La proportion de variance du taux métabolique spécifique (ramené à la masse totale : fourmi plus charge) des fourmis chargées expliquée par les effets fixes considérés dans le modèle statistique est de 0,798 (R^2 marginal) et par les effets fixes et les effets aléatoires combinés de 0,933 (R^2 conditionnel), ce qui est tout à fait satisfaisant. Comme pour les fourmis non chargées, le taux métabolique spécifique augmente significativement (toutes choses étant égales par ailleurs) lorsque la température à laquelle se déroule l'expérience passe de 27°C à

34°C (Figure 4.5 : $t= 12.609$, $P<0.001$) et lorsque le score d'activité augmente (Figure 4.5C : $t= 5.323$, $P<0,001$) et il diminue significativement au cours de l'expérience (Figure 4.5D : $t= -11.862$, $P<0,001$) et lorsque la masse fraîche initiale de la fourmi diminue (Figure 4.5B: $t= -15.006$, $P<0,001$). Par contre, on observe cette fois ci un taux métabolique spécifique significativement plus élevé pour la colonie 2 par rapport à la colonie 1 (Figure 4.5A : $t= 5.922$, $P<0.001$). Le taux métabolique spécifique diminue également significativement lorsque le *load ratio* augmente (Figure 4.5E : $t= -19.828$, $P<0.001$).

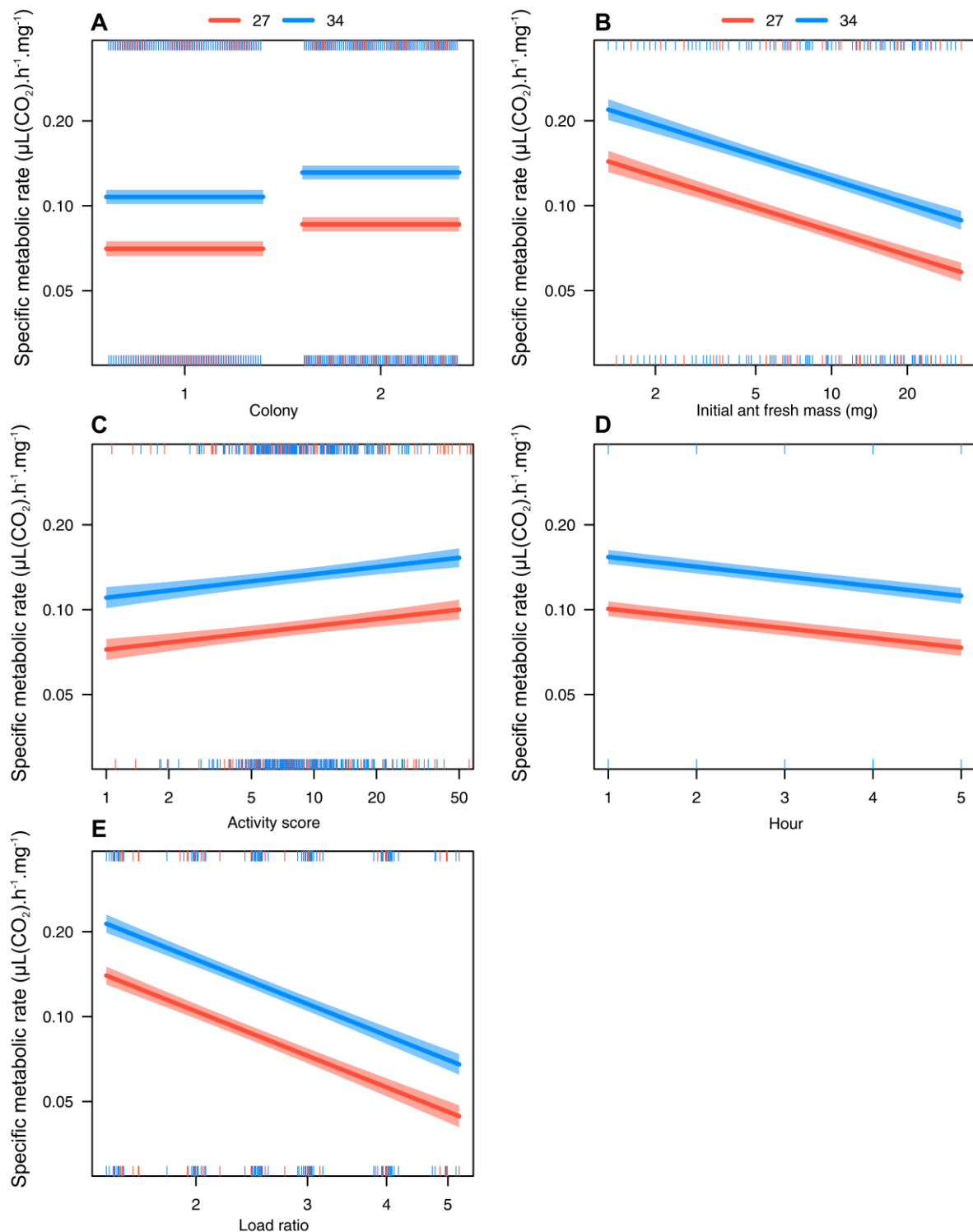


Figure 4.5 : Effets de la colonie (A), de la masse fraiche initiale de la fourmi (B), de son score d'activité (C), du temps écoulé depuis le début de l'expérience (D) et du load ratio (E) sur le taux métabolique spécifique des fourmis chargées. Chaque représentation donne les valeurs du taux métabolique spécifique prédites (avec l'intervalle de confiance à 95% représenté par la zone de couleur) par un modèle statistique prenant en compte la colonie d'appartenance de la fourmi, les effets de la masse fraiche initiale de la fourmi, de son score d'activité, et du temps écoulé depuis le début de l'expérience. Pour chaque représentation les valeurs des variables non représentées sont les valeurs médianes, soit : masse fraiche initiale de la fourmi= 6.9 mg, load ratio=2.49, score d'activité= 13.8%, heure= 3. Les représentations B, C, D et E correspondent aux fourmis de la colonie 2 (N= 77).

4.3.5 Taux énergétique net

Le taux énergétique net dépend de deux variables propres à la fourmi (sa masse et la masse relative de la charge transportée) et d'un paramètre définissant l'activité de fourragement considérée (la valeur énergétique massique de la graine récoltée divisée par la distance à laquelle elle se trouve du nid). La Figure 4.6 montre les valeurs du taux énergétique net en fonction de la masse de la fourmi et de la masse relative de la charge transportée pour une activité de fourragement type (Figure 4.6 ; $C = 20 \text{ J.mg}^{-1}$ et $d^F = 10 \text{ m}$).

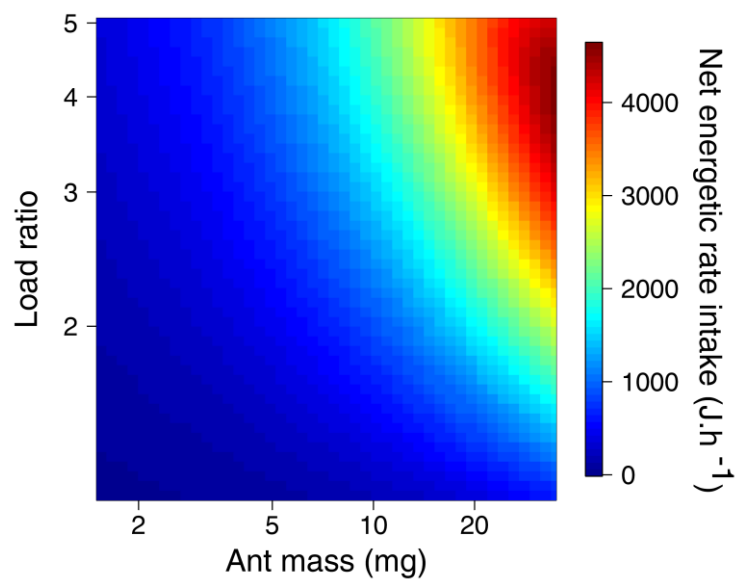


Figure 4.6 : Taux énergétique net (J.h^{-1}) en fonction de la masse de la fourmi et du load ratio pour des graines de valeur énergétique $C = 20 \text{ J.mg}^{-1}$ situées à 10 mètres du nid.

Le taux énergétique net augmente à *load ratio* constant lorsque la taille des fourmis augmente et il augmente également à masse de fourmi constante pour des masses relatives plus importantes.

Nous avons étudié ensuite l'influence du paramètre caractérisant la source de nourriture (la valeur énergétique massique de la graine divisée par la distance entre le nid et la source de nourriture : $\frac{C}{d^F}$) et les masses des charges disponibles auprès des fourmis. Nous avons calculé la masse de fourmi qui maximiserait le taux énergétique net (Figure 4.7A) ainsi que le LR (Figure 4.7B) et la valeur de ce taux (Figure 4.7C) associés en fonction de $\frac{C}{d^F}$ et de la masse de la charge.

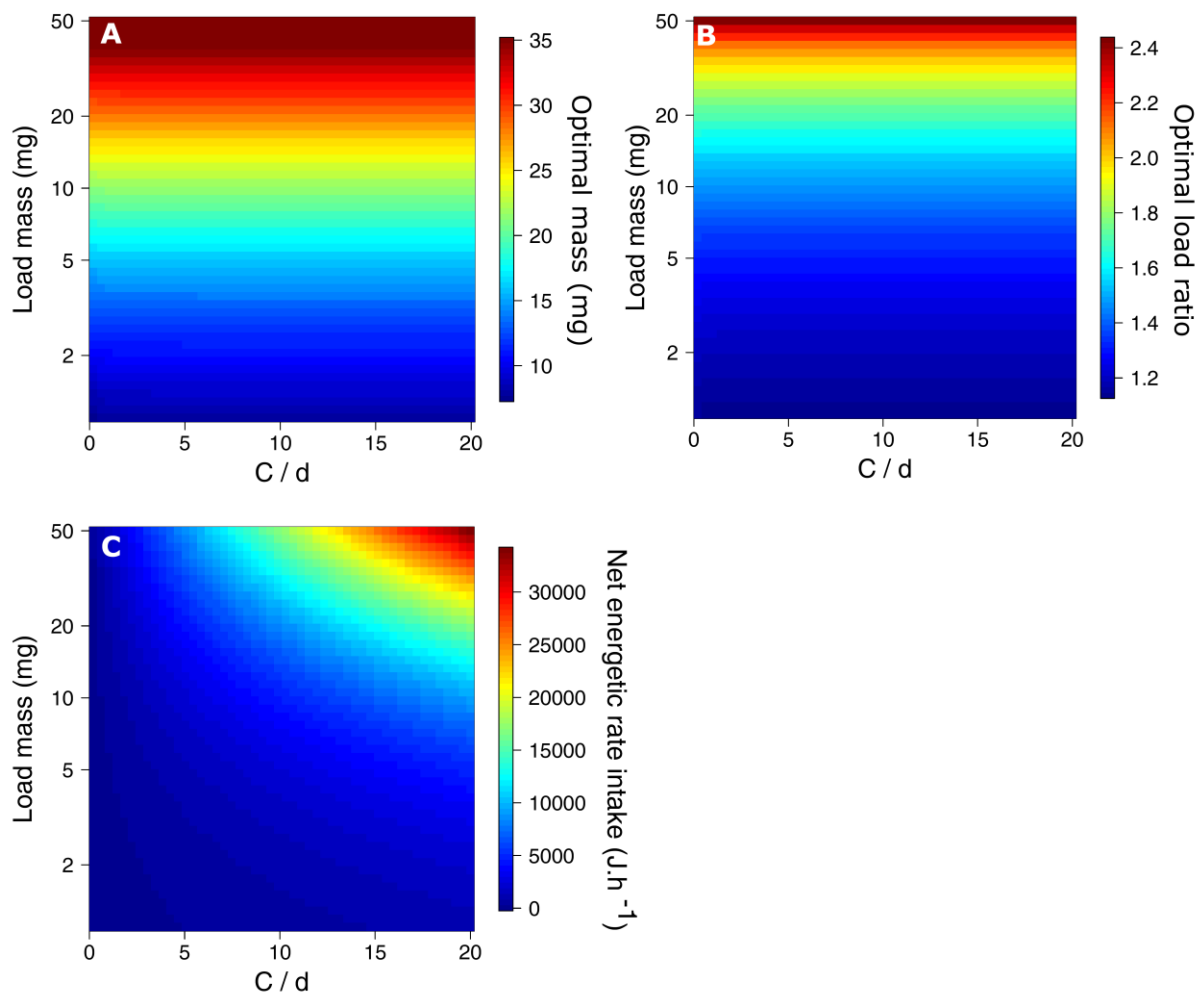


Figure 4.7 : Masse de la fourmi maximisant le taux énergétique net (A), du LR correspondant (B) et la valeur de ce taux associé (C) en fonction du paramètre caractérisant le fourragement $\frac{C}{d}$ (en $J \cdot mg^{-1} \cdot m^{-1}$) et de la masse de la charge (en mg).

Les plus petites fourmis maximisent le taux énergétique net pour les petites graines et les grosses fourmis pour les plus grosses graines (Figure 4.7A). Pour maximiser ce taux, les grosses fourmis ont intérêt à prendre des graines de masse relative plus importante (Figure 4.7B). Et la valeur maximale atteinte par le taux énergétique net augmente en fonction de la masse de la graine et du rapport $\frac{C}{d}$.

4.4 Discussion

Dans ce chapitre, nous avons étudié le taux métabolique de fourmis *M. barbarus* chargées et non chargées au moyen de la technique de respirométrie à flux constant. Durant ces expériences, la fourmi était laissée dans un tube pendant six heures et perdait de la masse. Ce phénomène était plus important pour les plus petites fourmis. Nous avons trouvé que, lors de la locomotion non chargée, le taux métabolique spécifique augmentait avec la température et l'activité de la fourmi et diminuait avec sa masse et avec le temps. Lorsque les fourmis étaient chargées, ces relations étaient maintenues et le taux métabolique spécifique (ramené à la masse totale : masse initiale fraîche plus masse de la charge) diminuait avec la masse relative de la charge. Enfin, nous avons calculé le taux énergétique net en fonction de la masse de la fourmi et de la masse de sa graine, pour différentes sources de nourriture. Nous avons montré que pour maximiser ce taux, la colonie devrait laisser les petites fourmis transporter les petites graines et les grosses fourmis les grosses graines.

4.4.1 Dessiccation des fourmis

La dessiccation est plus importante pour les petites fourmis en raison de leur plus faible rapport surface / masse par rapport aux grosses fourmis. Cette relation a déjà été identifiée pour plusieurs espèces de fourmis (*Messor pergandei* : Feener & Lighton, 1991; Lighton *et al.*, 1994 ; *Cataglyphis cursor* : Clémencet *et al.*, 2010). Cependant, chez les *Messor*, cela ne semble pas être un frein au fourragement pour les petites fourmis étant donné que le temps passé hors du nid pour la récolte d'un item alimentaire est plus faible que le temps nécessaire pour que la dessiccation mène à la mort de l'individu (Feener & Lighton, 1991; Lighton *et al.*, 1994).

4.4.2 Fourmis non chargées

Les valeurs trouvées pour le taux métabolique spécifique sont assez proches de celles précédemment observées pour *M. barbarus* ($\sim 1 \mu\text{L}(\text{O}_2)$ par heure et par milligramme de masse sèche à 27°C ; Nielsen & Baroni-Urbani, 1990) et légèrement inférieures à celles constatées pour *Messor pergandei* ($\sim 3.2 \mu\text{L}(\text{CO}_2) \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ pour une ouvrière de 6.6mg ; Lighton & Berrigan, 1995). De plus, l'évolution du taux métabolique en fonction de la température est cohérente avec les résultats de la littérature sur d'autres espèces de fourmis (*Formica rufa* : Holm-Jensen *et al.* 1980; *Pogonomyrmex rugosus* : Lighton & Bartholomew, 1988; *M. barbarus*

: Nielsen & Baroni-Urbani, 1990). Enfin, le coefficient du modèle log-log exprimant l'influence de la masse de la fourmi sur le taux métabolique (toutes choses étant égales par ailleurs) est égal à -0.323 $[-0.372 ; -0.275]$ (moyenne et intervalle de confiance à 95%). Cette valeur est très proche de celles déterminées pour d'autres espèces de fourmis (-0.311 pour *Pogonomyrmex rugosus* : Lighton & Bartholomew, 1988 ; -0.382 pour *Atta colombica* Lighton *et al*, 1987) mais assez éloignée de certaines autres (-0.160 pour *Eciton hamatum* ; Bartholomew *et al.*, 1988).

Dans la littérature, le taux métabolique spécifique n'est généralement pas étudié en tant que tel mais plutôt via une quantité en dérivant et prenant en compte l'influence de la vitesse de l'individu. On calcule alors soit le coût brut de la locomotion (le taux métabolique spécifique divisé par la vitesse : GCOT pour « *Gross Cost of Transport* », Figure 4.8A), soit le coût net de la locomotion (le taux métabolique spécifique moins le taux métabolique spécifique au repos, le tout divisé par la vitesse: NCOT pour « *Net Cost of Transport* », Figure 4.8B), soit le coût minimal de la locomotion (la pente de la relation entre le taux métabolique spécifique et la vitesse: MCOT pour « *Minimal Cost of Transport* », Figure 4.8C).

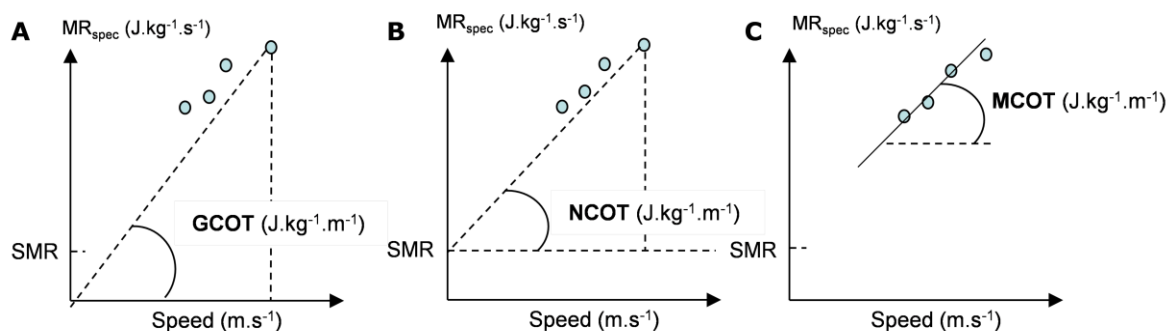


Figure 4.8 : Illustration des différentes manières de calculer le coût de la locomotion. MR_{spec} représente le taux métabolique spécifique de l'individu. **A** : GCOT représente le taux métabolique spécifique divisé par la vitesse. **B** : NCOT représente le taux métabolique spécifique moins le taux métabolique spécifique au repos, le tout divisé par la vitesse. **C** : MCOT représente la pente de la relation entre le taux métabolique spécifique et la vitesse.

En étudiant le coût minimal de la locomotion chez un grand nombre d'espèces animales, Taylor *et al.* (1982) ont montré que la relation entre le logarithme décimal du coût minimal de la locomotion et le logarithme décimal de la masse des individus est linéaire pour tous les

animaux étudiés (incluant des insectes, des reptiles et des mammifères, entre autres). La valeur de cette pente est de -0.316 [-0.293 ; -0.339] (intervalle de confiance à 95%). Malheureusement, nous n'avons pas pu réaliser les expériences de respirométrie à flux continu qui nous auraient permis de calculer ces quantités en liant directement le taux métabolique des fourmis à leur vitesse. On remarquera tout de même que l'influence de la masse sur le coût minimal de la locomotion est très similaire à celle de la masse sur le taux métabolique spécifique.

4.4.3 Fourmis chargées

Concernant les fourmis chargées, l'influence de la température, de l'activité et de l'heure sur le taux métabolique spécifique est similaire à celle constatée pour les fourmis non chargées. En revanche, nous avons observé une différence significative du taux métabolique spécifique entre les deux colonies lors du transport de charge qui était absente lors la locomotion non chargée. Cette différence est surprenante et délicate à interpréter. Une explication possible serait que la colonie 1 (qui a des taux métaboliques spécifiques plus faibles toutes choses étant égales par ailleurs) est une colonie que nous avons récoltée sur le terrain un mois avant le début des expériences alors que la colonie 2 a été élevée en captivité au laboratoire. Il se pourrait donc que les individus de la colonie 2, qui n'ont pas eu à fourrager dans leur environnement, n'aient pas développé les mêmes capacités que des individus réalisant du transport de charge régulièrement. En raison de ce manque « d'entraînement », ils devraient alors dépenser davantage d'énergie lors du transport de charge que les individus de la colonie 1, toutes choses étant égales par ailleurs. D'autre part, bien que leur alimentation ait été identique durant l'expérience, celle préalable à la capture de la colonie 1 était différente de celle de la colonie 2, ce qui pourrait également avoir un impact sur le taux métabolique des fourmis.

Le taux métabolique spécifique diminue avec le *load ratio* avec un coefficient de -0.895 ± 0.045 (moyenne \pm écart type). Cette valeur est extrêmement faible, en effet si on regarde l'équation du modèle on a :

$$\frac{MR^l}{m_{ant} + m_{load}} = A * LR^b$$

avec MR^l le taux métabolique du la fourmi chargée, m_{ant} la masse de la fourmi, m_{load} celle de la charge, LR le *load ratio*, b le coefficient du *load ratio* déterminée par le modèle, A un

coefficient dépendant des autres variables du modèle (température, colonie d'appartenance, activité, masse de la fourmi) et de son intercept mais qui ne dépend pas du *load ratio*. Cette équation peut se réécrire :

$$MR^l = A' * LR^{1+b}$$

avec $A' = A * m_{ant}$ qui ne dépendent pas du *load ratio*. Par conséquent, un coefficient b pour le *load ratio* proche de 0 signifie que le taux métabolique augmente linéairement avec la masse relative de la charge. Alors qu'un coefficient proche de -1 signifie que le taux métabolique n'augmente pas lorsque la masse relative de la charge augmente. Dans notre cas, la charge entraîne bien une augmentation du taux métabolique total, mais celle-ci est très faible par rapport au taux métabolique de la locomotion non chargée (environ 10%). Cependant, à nouveau, cette mesure ne prend pas en compte l'influence de la vitesse sur le taux métabolique, or ce dernier augmente lorsque la vitesse augmente (Full & Tullis, 1990; Lighton *et al.*, 1993). C'est pourquoi dans la littérature, on préfère, quand c'est possible, calculer le coût du transport (CLC pour « *Cost of Load Carriage* ») défini par l'équation :

$$CLC = \frac{NCOT_{laden\ ant} - NCOT_{unladen\ ant}}{LR}$$

Un CLC de 1 signifie que l'énergie nécessaire pour déplacer un milligramme de charge sur un mètre est identique à l'énergie nécessaire pour déplacer un milligramme de masse corporelle sur un mètre durant une locomotion non chargée. Un CLC inférieur à 1 signifie que l'énergie nécessaire pour déplacer un milligramme de masse totale sur un mètre est inférieur à l'énergie nécessaire pour déplacer un milligramme de masse corporelle sur la même distance durant une locomotion non chargée. Le CLC a été calculé pour différentes espèces de fourmis et peut être inférieur à 1 (0.61 pour *Camponotus rufipes* : Schilman & Roces, 2005) ou à peu près égal à 1 (*Atta colombica* : Lighton *et al.*, 1987). Bien que nous n'ayons pu le calculer, il semblerait, au vue de la très faible augmentation du taux métabolique avec la masse de la fourmi, que le CLC soit inférieur à 1 pour *M. barbarus* également. Le transport de charge semble donc très économique chez *M. barbarus* car il ne conduit pas à une importante augmentation du taux métabolique.

4.4.4 Taux énergétique net

En calculant le taux énergétique net en fonction des caractéristiques de la source de nourriture et de la masse des graines disponibles, on s'aperçoit que les petites fourmis maximisent ce taux pour des petites graines et les grosses fourmis pour de plus grosses graines. De plus, les grosses fourmis ont intérêt à se charger davantage que les petites, ce qui conduit à des taux énergétiques net plus importants. Dans le cadre de la théorie de l'*optimal foraging*, on s'attendrait donc à observer sur la piste des fourmis de petites tailles portant de petites graines et des fourmis plus grosses portant de plus grosses charges. Or, lorsque la longueur de la piste augmente, on observe à proximité du nid une corrélation entre masse de la fourmi et masse de la graine pour les fourmis *Messor*. En effet, les petites fourmis sont plus nombreuses à la source de nourriture mais elles transfèrent les graines les plus lourdes qu'elles récupèrent à de plus grosses fourmis le long de la piste (Reyes & Fernández Haeger, 1999; Reyes-López & Fernández-Haeger, 2001; Arnan *et al.*, 2011). Nos résultats montrent que ce mécanisme d'échanges a pour conséquence d'augmenter le taux énergétique net des fourmis lors du fourragement.

Cependant, lorsqu'on regarde l'importance respective de l'énergie ramenée et de l'énergie dépensée, on s'aperçoit que, dans le cas le plus défavorable, l'énergie dépensée est cent fois plus faible que l'énergie ramenée. C'est également ce qu'avait constaté Weier et Feener (1995) pour *Pogonomyrmex maricopa* et *P. rugosus*. Le taux énergétique net peut donc raisonnablement s'assimiler à l'énergie ramenée divisée par le temps nécessaire au fourragement. Dans ces conditions l'énergie dépensée par la fourmi est négligeable et le taux énergétique net peut s'écrire :

$$\zeta(m, LR, C, d^F) = \frac{\frac{C}{d^F} * (m * (LR - 1))}{\frac{1}{v_u^L(m)} + \frac{1}{v_l^L(m, LR)}}$$

et la fourmi a juste intérêt à transporter la graine dont la masse et la vitesse en résultant maximise cette équation, sans s'occuper de l'énergie dépensée. On peut également écrire ce taux de la façon suivante :

$$\zeta(m, LR, C, d^F) = \frac{\frac{C}{d^F} * v_l^L(m, LR) * m_{load}}{\frac{v_l^L(m, LR)}{v_u^L(m)} + 1}$$

Avec m_{load} la masse de la charge. On reconnaît alors au numérateur le produit entre la masse de la charge et la vitesse de la fourmi chargée. Cette quantité, nommée « *gross material transport rate* » (GMTR) ou « *prey delivery rate* » (PDR) est régulièrement étudiée dans les travaux sur le fourragement (Burd, 2000, 2001; Röschard & Roces, 2002; Cerdá *et al.*, 2009; Bernadou *et al.*, 2016). La différence entre la signification du taux énergétique net présenté ainsi et celle du GMTR/PDR provient de la prise en compte de la phase aller. Par conséquent, il pourrait être plus pertinent, pour comparer les individus de différentes tailles et différents *load ratio*, d'utiliser ce taux plutôt que le GMTR/PDR pour de futures recherches (la détermination de C et d^F n'est pas utile pour cette comparaison). Cependant, le calcul de l'énergie ramenée par la fourmi s'est fait en considérant la valeur énergétique de la graine déterminée par calorimétrie, or il se pourrait que les fourmis n'emmagasinent pas la totalité de l'énergie de la graine lorsqu'elle la mange, ni même ne la mangent en entier. Des études plus détaillées sur ce sujet seront nécessaires pour affiner cet aspect.

Pour conclure nous avons montré que le taux métabolique des fourmis chargées n'augmentait que peu par rapport aux fourmis non chargées. Dans les deux cas, l'évolution du taux métabolique avec la masse de la fourmi, la température, le temps et l'activité était cohérente avec les résultats déjà obtenus dans la littérature. De plus, le calcul du taux énergétique net a permis de montrer que, dans le cadre de la théorie de l'*optimal foraging*, on s'attendrait à ce que les petites fourmis transportent les petites graines et les grosses fourmis les grosses graines. C'est en effet ce qu'on retrouve sur le terrain, grâce à l'échange des graines entre fourmis de différentes tailles.

5 Discussion générale

Au cours de ma thèse j'ai étudié la locomotion et le transport de charge chez la fourmi *Messor barbarus*. J'ai porté un intérêt particulier à l'influence de la taille de la fourmi sur ces deux aspects ainsi qu'à l'impact de la masse relative de la charge transportée. Mon travail a couvert trois aspects de la locomotion : la cinématique des pattes, la dynamique du centre de masse et le coût énergétique associé à la locomotion et au transport de charge.

Dans le premier chapitre, nous avons étudié la cinématique des pattes en exploitant des vidéos réalisées pour des fourmis de différentes tailles, non chargées et chargées avec des charges de différentes masses. Nous avons montré que la locomotion non chargée des fourmis est très proche de la démarche en tripode alternée décrite chez de nombreux autres insectes (Delcomyn, 1981). La synchronisation des trois pattes de chaque tripode est très bonne malgré un léger déphasage pour les plus grosses fourmis. En revanche, nous observons des différences notables entre petites et grosses fourmis en ce qui concerne la position des pattes au moment où celles-ci décollent du sol. En effet, les plus grosses fourmis soulèvent leurs pattes dans une position plus avancée que les petites fourmis. Leurs pattes avant sont également placées plus latéralement par rapport à l'axe du corps. De plus, au cours d'une foulée, les pattes des plus grosses fourmis passent plus de temps au sol que celles des petites fourmis (augmentation du *duty factor*), ce qui a pour effet de réduire la fréquence de leurs foulées. La longueur des pas (« *step amplitude* ») augmente avec la masse de la fourmi mais lorsque celle-ci est rapportée à la longueur de leur corps, on constate au contraire qu'elle diminue. La diminution de la fréquence des foulées se combine à l'augmentation de leur longueur de telle manière que la vitesse absolue des fourmis est constante et ne dépend pas de leur masse (moyenne \pm écart type : $29.08 \pm 4.47 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$). Finalement, la locomotion non chargée est la plupart du temps statiquement stable, bien que le centre de masse puisse quelquefois sortir du polygone de support quelques instants avant que la patte avant ne touche le sol. Le temps pendant lequel la fourmi est en instabilité statique augmente avec la masse de la fourmi, mais d'une valeur moindre que ce que prédit notre modèle de tripode idéal. Il semble donc que les ajustements du patron locomoteur des grosses fourmis permettent de diminuer l'instabilité statique de leur locomotion.

Lorsque la fourmi transporte une charge, son centre de masse est déplacé vers l'avant. Par conséquent la proportion de temps au cours d'une foulée pendant laquelle le centre de masse est hors du polygone de support augmente avec la masse relative de la charge transportée.

Pour éviter de tomber, les fourmis posent davantage de pattes au sol et s'agrippent au substrat grâce à leurs tarsi. Par conséquent chacune des pattes passent plus de temps au sol durant une foulée, ce qui réduit leur fréquence. La longueur des pas étant globalement identique chez les fourmis chargées et non chargées, ceci conduit à ce que la vitesse des fourmis chargées diminue avec la masse de l'objet transporté. Le patron locomoteur est quant à lui grandement altéré par la charge. Tout d'abord la synchronisation des trois pattes de chaque tripode se détériore. En effet, malgré une grande variabilité, les pattes d'un tripode semblent se balancer dans l'ordre suivant : patte du milieu, patte avant puis patte arrière. Par ailleurs, la position des pattes par rapport au corps de la fourmi change également. Les pattes avant se posent et décollent à partir d'une position qui est légèrement plus proche de l'axe du corps chez les fourmis chargées par rapport aux fourmis non chargées. Les pattes du milieu sont également dans une position plus frontale et plus latérale pour les charges les plus massives et les pattes arrières se posent plus en arrière et plus loin de l'axe du corps de la fourmi. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Zollikofer (1994) pour *Cataglyphis fortis* (Figure 1Bi). En effet, poser les pattes avant plus proches de l'axe du corps permet de diminuer l'effet de levier lié au poids de la charge transportée. De même, poser les pattes du milieu et les pattes arrières plus latéralement (et plus loin pour les pattes arrières) permet d'augmenter l'effet de levier des forces de réaction au sol de ces pattes. Concernant la capacité de transport, les petites fourmis peuvent transporter des charges de masse relative plus importante que les grosses fourmis. Ces différences sont raisonnablement expliquées par un effet d'échelle et ne semblent pas provenir des différences de morphologies ou de comportement lors du transport de charge.

Dans le second chapitre, nous avons étudié la dynamique du centre de masse de la fourmi, chargée et non chargée, pour des individus de différentes tailles. La trajectoire verticale du centre de masse est sinusoïdale durant la locomotion non chargée, tout comme la norme de sa vitesse pour des fourmis de différentes tailles. Cependant, la hauteur moyenne du centre de masse est relativement plus importante pour les plus petites fourmis, tout comme l'amplitude de ses oscillations. Nous n'avons pas pu expliquer ces différences par une inclinaison différente du corps de la fourmi et il semble donc que les plus petites fourmis soient plus dressées sur leurs pattes que les grosses fourmis. Les énergies cinétiques et potentielles du centre de masse sont majoritairement en phase durant la locomotion, surtout

pour les plus petites fourmis. Cet aspect est caractéristique de la course chez de nombreux animaux. Pourtant la fourmi a toujours au moins trois pattes en contact avec le sol et ne montre donc aucune phase aérienne durant sa locomotion. Ce type de démarche a déjà été observée chez la blatte à faible vitesse (*Blaberus discoidalis* : Full & Tu, 1991) et aussi chez une espèce de fourmi (*Formica polyctena* : Reinhardt & Blickhan, 2014). Le travail mécanique spécifique nécessaire pour soulever et accélérer le centre de masse sur un mètre est constant et ne dépend pas de la masse des fourmis. Or, on sait que cette valeur est à peu près la même pour des animaux d'espèces très différentes (mammifères, reptiles, oiseaux, insectes, entre autres). La valeur que nous avons trouvée (moyenne \pm écart type : $1.082 \pm 0.175 \text{ J.m}^{-1}.\text{kg}^{-1}$) est en effet similaire à celle mentionnée dans la littérature (Figure 5.1). Lors du transport de charge, la trajectoire verticale du centre de masse est grandement altérée. A *load ratio* élevé, elle devient erratique et ne suit plus des cycles répétés lors des foulées consécutives. Cependant, l'amplitude des oscillations du centre de masse et sa hauteur moyenne restent inchangées par rapport à la locomotion non chargée. Or, on aurait pu penser qu'en portant une charge de masse importante, la fourmi essaierait de diminuer l'amplitude des oscillations de son CoM, comme le fait de l'araignée *Cupiennius salei* lors de sa locomotion (Weihmann, 2013). En effet, cette araignée articule les différents segments de ses pattes de manière à maintenir la hauteur de son CoM constante. La fourmi n'est donc pas « écrasée » par la charge. Les énergies cinétiques et potentielles sont toujours majoritairement en phase, même si l'augmentation de la masse de l'objet transporté a pour effet de diminuer la corrélation entre ces deux énergies. Nous n'avons pas identifié de changement net dans la dynamique du centre de masse entre locomotion non chargée et chargée. La modification de la démarche semble se faire de manière continue sur tous les paramètres étudiés. Il semble donc que la charge n'entraîne pas un comportement locomoteur spécifique mais plutôt que la locomotion chargée ne soit qu'un cas particulier de la locomotion non chargée. De plus, lors du transport de charge, le travail mécanique spécifique nécessaire pour soulever et accélérer le centre de masse sur un mètre (aussi appelé « *mechanical cost of transport* » ; Alexander, 2005) augmente avec la masse relative de la charge. Or, on sait que lors du transport de charge chez l'humain, le travail mécanique externe spécifique par unité de distance n'évolue pas avec l'augmentation de la masse transportée, quelle que soit la vitesse (Figure 2 de Bastien *et al.*, 2016). Pour les fourmis, cela signifie que le travail mécanique nécessaire pour accélérer le

centre de masse et le soulever est plus important pour un milligramme de charge que pour un milligramme de masse corporelle.

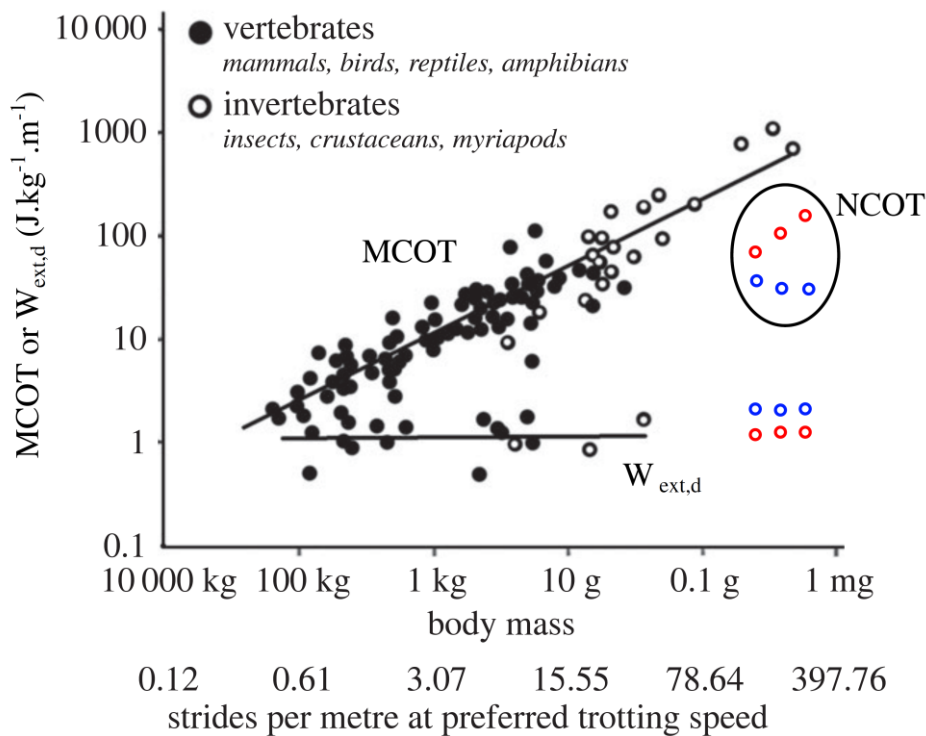


Figure 5.1 : Figure représentant le coût minimum du transport (MCOT) et le travail mécanique externe par unité de distance ($W_{ext,d}$). Figure de Pontzer (2016) réadaptée de Full & Tu (1991) ; les points en couleur représentent nos données. Les points rouges correspondent aux valeurs de la locomotion non chargée et les points bleus au transport de charge. Comme nous n'avons pas pu calculer le coût minimum du transport à partir des résultats de nos expériences, nous montrons ici les valeurs du coût net du transport (NCOT) calculé par la différence entre le taux métabolique à 100% d'activité et celui à 0% déterminés par le modèle présenté au chapitre 4, le tout divisé par la vitesse de la fourmi mesurée dans les expériences du chapitre 2. Les fourmis sont divisées en trois catégories de taille en fonction de leur masse : inférieures à 5 mg (moyenne 3.3mg), comprises entre 5 mg et 15 mg (moyenne 8.9mg) et supérieures à 15 mg (moyenne 22 mg).

Enfin, dans le troisième chapitre, nous avons mesuré le taux métabolique pour des fourmis de différentes tailles, non chargées et chargées avec des charges de différentes masses relatives. Nous avons utilisé la méthode de respirométrie à flux constant afin de mesurer la quantité de CO_2 produite par la fourmi pendant une heure. Les valeurs du taux métabolique spécifique que nous avons mesuré sont similaires à celles déterminées pour d'autres espèces de fourmis (*Messor pergandei* : Lighton & Berrigan, 1995; *M. barbarus* : Nielsen & Baroni-Urbani, 1990).

De plus, ce taux diminue lorsque la masse de la fourmi augmente de la même manière que chez d'autres espèces de fourmis (*Pogonomyrmex rugosus* : Lighton & Bartholomew, 1988; *Atta colombica* : Lighton *et al.*, 1987) et de façon similaire à ce qui est trouvé dans l'ensemble du règne animal (Figure 5.1 ; Taylor *et al.*, 1982 ; Full & Tu, 1991 ; Alexander, 2005 ; Pontzer, 2016). Lorsque la fourmi est chargée, nous n'observons qu'une faible augmentation du taux métabolique avec l'augmentation de la masse relative de la charge, ce qui signifie que la quantité d'énergie nécessaire pour déplacer un milligramme de charge est bien moindre que celle nécessaire pour déplacer un milligramme de masse corporelle sur la même distance. A partir de ces mesures nous avons calculé le taux pour lequel une fourmi granivore ramenant une graine à son nid augmentait l'apport énergétique total de la colonie. Ce taux est défini comme l'énergie ramenée au nid par la fourmi (contenue dans la graine) moins l'énergie nécessaire à la locomotion et au transport de charge, le tout divisé par le temps total nécessaire à la récolte. Nous avons montré que pour maximiser ce taux, la colonie devrait allouer les grosses fourmis au transport des grosses graines et les petites fourmis au transport des petites graines. Or, bien que les fourmis ne semblent pas choisir les graines en fonction de leur taille au moment où elles les récoltent (Reyes-López & Fernández-Haeger, 2001; Rissing & Pollock, 1984), une corrélation positive entre la masse des graines transportées et la masse des fourmis apparaît sur la piste à l'approche du nid (Detrain *et al.*, 2000; Reyes & Fernández Haeger, 1999; Reyes-López & Fernández-Haeger, 2001). Grâce à des échanges de graines (directs ou indirects si la graine est laissée sur la piste) entre fourmis de différentes tailles sur la piste de fourragement, les fourmis augmentent donc le taux énergétique net de la colonie. Par ailleurs, l'énergie contenue dans la graine est toujours au moins cent fois plus importante que l'énergie dépensée durant le fourragement, ce qui nous a amené à postuler que l'énergie dépensée n'est pas un critère limitant lors du fourragement. Pour maximiser ce taux, les fourmis doivent simplement choisir le couple masse de la graine / vitesse en locomotion chargée le plus adapté. Weier *et al.* (1995) arrivaient à la même conclusion pour les espèces *Pogonomyrmex maricopa* et *P. rugosus*. A noter cependant que ces conclusions doivent être nuancées pour deux raisons principales. Premièrement la fourmi n'utilise pas la totalité de la graine. En effet l'enveloppe de celle-ci, qui peut être importante pour certaines graines, n'est pas consommée et est rejetée hors du nid. Deuxièmement, la fourmi ne consomme peut-être pas la totalité de la graine et elle n'utilise peut-être pas l'intégralité des macronutriments présents dans celle-ci. Ceci pourrait conduire à diminuer la valeur de

l'énergie effectivement ramenée par la fourmi au point, éventuellement, de rendre les coûts énergétiques associés à la récolte de nourriture non négligeables.

On pourra regretter de n'avoir pu réaliser des expériences en respirométrie à flux continu. Cela n'a pas été possible car l'analyseur de CO₂ du respiromètre utilisé à l'Université de Copenhague n'avait pas une précision suffisante pour mesurer en temps réel la quantité de CO₂ produite par une seule fourmi. Ce qui est particulièrement intéressant avec cette technique, c'est que l'on peut en même temps filmer la fourmi qui se déplace dans la chambre respirométrique (en général il s'agit d'un long tube transparent) et en déduire sa vitesse. Cela permet ensuite d'établir une relation entre son taux métabolique et sa vitesse (Duncan & Lighton, 1994; Weier *et al.*, 1995; Moll *et al.*, 2012). On aurait pu ensuite calculer les métriques généralement utilisées en respirométrie pour estimer le coût du transport lors de la locomotion chargée et non chargée (NCOT, MCOT, CLC, CLCC). A contrario, nous avons dû faire des hypothèses fortes, en particulier lors du calcul du taux énergétique net dans lequel nous utilisons dans le même temps les mesures du taux métabolique obtenues en respirométrie à une vitesse inconnue et les vitesses déterminées au chapitre 2 dans un contexte complètement différent (bien que, tout de même, à même température). Cela introduit une approximation dans nos calculs, que nous sommes malheureusement incapables de quantifier.

Une autre critique que l'on peut adresser à ce travail concerne la méthode utilisée pour tester les fourmis chargées. On peut se demander dans quelle mesure le fait que les charges soient collées sur les mandibules de la fourmi plutôt que saisies spontanément et portées librement par celles-ci entre leurs mandibules, ne modifie pas leur comportement. Les raisons qui nous ont amené à adopter cette méthode sont avant tout d'ordre pratique. Tout d'abord, il est assez difficile au laboratoire de déclencher chez *M. barbarus* des sorties massives d'ouvrières pour la récolte de nourriture qui ressemblent à celles que l'on peut observer sur les pistes d'approvisionnement en milieu naturel. En effet, bien que nous ayons testé des colonies de tailles importantes ayant subies des jeûnes pouvant aller jusqu'à une dizaine de jours et auxquelles nous proposons des items alimentaires très variés, nous n'avons pas réussi à obtenir de façon répétée au laboratoire des sorties massives d'ouvrières pour la récolte de nourriture. De plus, lorsque les fourmis sortaient en masse, le trafic sur la piste ne se maintenait pas plus d'une demi-heure avant que les fourmis ne se désintéressent de la source

de nourriture. Par ailleurs, pour pouvoir tester la même fourmi chargée et non chargée, il aurait fallu marquer la fourmi chargée au moment où elle revenait au nid et attendre qu'elle ressorte à nouveau pour se rendre sur la source de nourriture. De plus, en choisissant nous-mêmes les fourmis et leur charge, nous pouvions très facilement nous arranger pour tester des fourmis couvrant tout l'éventail de taille des ouvrières présentes dans la colonie, et de même pour le *load ratio*. Nous aurions eu beaucoup de mal à faire la même chose en sélectionnant des fourmis transportant spontanément des items alimentaires entre leur nid et une source de nourriture. Enfin, l'utilisation de poids de pêche calibrés avait également un avantage pour notre étude : le positionnement de la charge étant réalisé par l'expérimentateur toujours au même emplacement sur les mandibules, le déplacement du centre de masse de la fourmi qui en découlait était à peu près équivalent pour toutes les fourmis. Or, les observations réalisées en milieu naturel montrent que lorsque les fourmis saisissent les graines (ou un autre item alimentaire) elles-mêmes, certaines les portent plutôt en avant de leur corps, et d'autres plutôt au-dessus ou en dessous de leur corps, ce qui induit une certaine variabilité dans les déplacements du centre de masse. En utilisant des poids de pêche, nous pouvions donc nous focaliser sur l'influence de la masse de la charge uniquement, sans nous soucier du mode de transport, bien que cela puisse constituer une piste très intéressante pour des futures recherches. Enfin, pour les expériences de respirométrie à flux constant, le choix de coller la charge s'imposait. En effet, les chambres respirométriques étant opaques nous n'aurions pas pu vérifier si la fourmi portait effectivement sa charge pendant toute la durée de l'expérience ou pas.

La méthode consistant à coller une charge sur les mandibules des fourmis pour étudier leur locomotion lors du transport de charge a déjà été utilisée par plusieurs auteurs (Lighton *et al.*, 1993; Nielsen, 2001; Nielsen *et al.*, 1982). Il n'en reste pas moins que la question subsiste de savoir dans quelle mesure la modification du comportement locomoteur observée entre fourmis non chargée et chargée dépend de la charge transportée elle-même ou de la façon dont celle-ci est portée par la fourmi. Nous avons voulu contrôler l'impact de cette méthode sur la locomotion des fourmis chargées lors de nos expériences de respirométrie en procédant à un *sham control* qui consistait à faire subir à certaines fourmis le même protocole que celui utilisé pour leur coller une charge (soit : endormissement, fixation et point de colle sur les mandibules) mais sans effectivement coller de charge sur leurs mandibules. Il s'est avéré que

les taux métaboliques de ces fourmis avant et après l'opération étaient identiques, suggérant que ce procédé n'avait pas d'impact significatif sur leur locomotion.

Pour aller plus loin dans cette étude, il serait sans doute nécessaire d'accéder à la cinématique complète de la locomotion, en particulier aux déplacements des différents segments composant les pattes. Cela permettrait de comprendre l'origine des différences de postures constatées au chapitre 3 entre fourmis de différentes tailles. De plus, cela permettrait une détermination plus fine du centre de masse et la prise en compte de l'énergie de gesticulation dans le calcul du travail mécanique. Pour ce faire il serait aussi nécessaire d'accéder aux caractéristiques inertielles (masse, centre de masse, rayon de giration) des différents segments des pattes de la fourmi. Cela pourrait se faire en utilisant la micro tomographie à rayon X. Cette technique d'imagerie 3D permet d'accéder à la morphologie externe et interne de l'individu. De plus, elle permet, en s'aidant d'atlas et de coupes anatomiques, d'identifier les différents tissus de la fourmi (Walker *et al.*, 2014 ; Khalife *et al.*, 2018;) et de leur assigner des propriétés mécaniques (Nguyen *et al.*, 2014) et/ou inertielles, comme la masse volumique. Ce travail supposerait également de pouvoir disposer de systèmes d'imagerie ayant une très bonne résolution et de logiciels de poursuite automatique adaptés pour pouvoir suivre les articulations du corps de l'insecte, par exemple des logiciels basés sur des algorithmes d'apprentissage profond (Uhlmann *et al.*, 2017).

Nous avons tenté d'utiliser cette approche au cours de ma première année de thèse. Tout d'abord, pour déterminer les caractéristiques inertielles des différents membres du corps de la fourmi, nous avons établi une collaboration avec Rémi Delille du Laboratoire d'Automatique, de Mécanique et d'Informatique Industrielles et Humaines (LAMIH - UMR 8201) de Valenciennes. Ce laboratoire dispose en effet d'un microtomographe à rayon X (modèle Skyscan 1172).

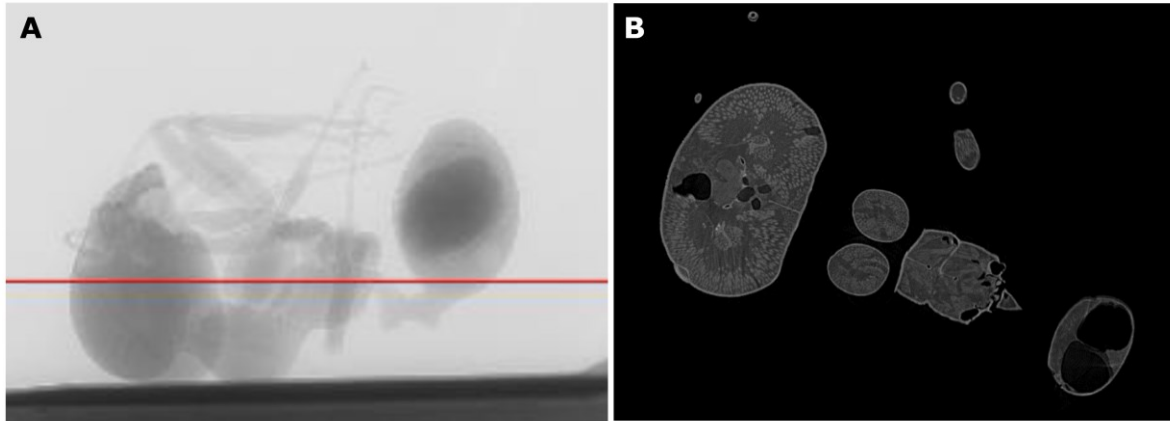


Figure 5.2 : Image d'une fourmi obtenue par microtomographie à rayon X (modèle Skyscan 1172). A : Image scanner de la fourmi. B : Coupe horizontale de la fourmi (suivant la ligne rouge en A) reconstruite à partir des images scanner prises sous différents angles. Images réalisées par Rémi Delille au LAMIH, Valenciennes.

Notre objectif était d'imager la fourmi par microtomographie (Figure 5.2A) et d'établir une relation entre le niveau de gris des images obtenus (Figure 5.2B) et la masse volumique du matériau imagé (cuticule, muscles, système nerveux, hémolymphe). Puis, nous aurions pu séparer les différents membres et calculer leurs caractéristiques inertielles grâce au plug in Bone J d'Image J (Doube *et al.*, 2010). Malheureusement, nous avons dû faire face à deux difficultés majeures. La première était liée à la dessiccation des fourmis. En effet, pour obtenir des images suffisamment précises, le scan réalisé par le microtomographe devait durer plusieurs heures et la fourmi se desséchait, laissant apparaître des espaces vides dans son corps. Nous avons essayé de fixer les tissus de la fourmi et de la conditionner dans différents liquides afin de pallier ce problème mais cela détériorait systématiquement la qualité du scan. La seconde difficulté était liée à la calibration entre le niveau de gris de l'image et la masse volumique du matériau imagé. Nous disposons de plusieurs échantillons de densité connue et proches de celles attendues pour les matériaux constituant le corps de la fourmi. Nous les avons imagés dans les mêmes conditions afin de lier leur masse volumique à leurs niveaux de gris. Cependant, le niveau de gris des images dépend aussi de la largeur de l'échantillon imagé (Figure 5.3A).

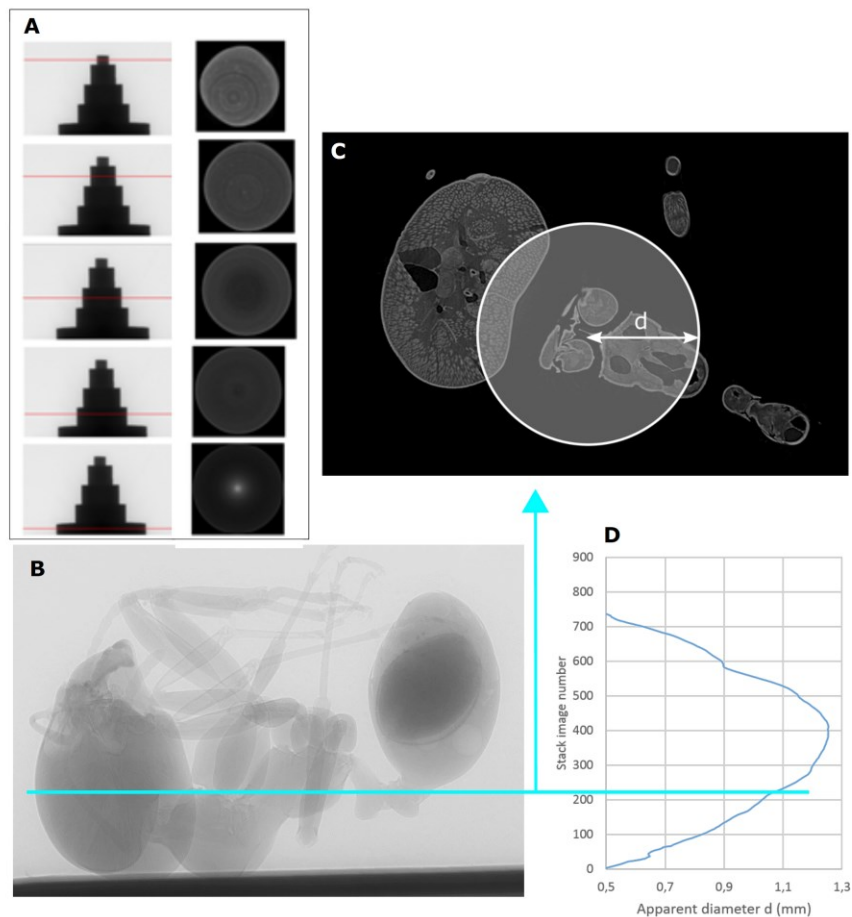


Figure 5.3 : Principe de la méthode prenant en compte l'influence de la taille de l'objet imagé sur la relation entre le niveau de gris des images et la masse volumique du matériau. **A** : Matériau de densité connue et homogène imagé par microtomographie à rayon X. Le niveau de gris de coupes horizontale (à droite) dépend du diamètre de l'objet imagé (traits rouges, à gauche). **B** : Image scanner de la fourmi. Le trait de couleur cyan mène à la coupe horizontale correspondante (**C**) pour laquelle nous avons calculé le diamètre du cercle dont la surface est égale à la surface de la fourmi sur cette coupe. **D** : Evolution de ce « diamètre apparent » d en fonction de la hauteur de la coupe horizontale correspondante.

Nous avons donc imagé des échantillons de différents diamètres et nous souhaitons corriger ce biais en prenant en compte le diamètre apparent pour chaque coupe horizontale des fourmis (Figure 5.3B, 5.3C et 5.3D). Malheureusement, pour les très faibles diamètres des objets imagés, nous n'avons pas pu obtenir de relation cohérente entre le niveau de gris d'un côté et le diamètre de l'objet imagé et sa masse volumique de l'autre. D'autres paramètres, que nous n'avons pas réussi à identifier, semblaient agir sur le niveau de gris des images. Nous avons contacté le constructeur du micro tomographe mais, bien qu'il nous ait confirmé que cette relation pouvait s'établir pour des objets de tailles plus importantes, nous étions les

premiers à sa connaissance à tenter de l'établir à l'échelle millimétrique et il ignorait d'où venaient les incohérences constatées.

C'est également pour suivre la cinématique 3D des pattes des fourmis que nous avons filmé celles-ci avec cinq caméras afin de pouvoir ensuite utiliser le logiciel Vicon Peak Motus (<http://www.motus10.com/>) pour suivre automatiquement les différents segments du corps de la fourmi au cours de son déplacement. Mais nous avons rencontré des difficultés pour calibrer l'espace filmé et, ceci s'ajoutant à l'échec de la détermination des caractéristiques inertielles des segments par microtomographie, à l'incertitude concernant la faisabilité de la poursuite automatique (plutôt que manuelle) des différentes articulations des pattes et aux contraintes de temps, nous avons finalement abandonné cette voie et choisi de ne suivre que les segments principaux du corps de la fourmi (tête, thorax et abdomen). Les vidéos restent cependant exploitables et pourraient constituer une intéressante piste pour de futures recherches.

Une autre piste très intéressante serait de pouvoir quantifier les forces de réaction au sol des pattes de la fourmi durant la locomotion. Cela permettrait de déterminer comment le poids se répartit entre les pattes et de distinguer la contribution de chaque patte à la propulsion. Ces forces ont déjà été mesurées chez les phasmes (Dallmann *et al.*, 2016) et les blattes (Full & Tu, 1991) et également pour certaines fourmis (Endlein & Federle, 2015; Reinhardt & Blickhan, 2014b; Takahashi *et al.*, 2014). Combiné à la cinématique et à la détermination des caractéristiques inertielles des segments, les mesures de ces forces permettraient de caractériser les contraintes articulaires par dynamique inverse. Cette méthode permet en effet de calculer les forces et les moments au niveau de chaque articulation, quantifiant ainsi la répartition des efforts entre les membres. Si cette méthode a principalement été utilisée pour l'étude de la locomotion chez l'humain (Buchanan *et al.*, 2005; Cahouët *et al.*, 2002; Latella *et al.*, 2016), une étude récente l'applique à un insecte (phasme : Dallmann *et al.*, 2016). Cependant, les plateformes de force développées jusqu'à présent pour des fourmis permettent soit de mesurer la force de réaction au sol d'une seule patte dans deux (Endlein & Federle, 2015) ou trois directions (Reinhardt & Blickhan, 2014b), soit des trois pattes d'un seul côté dans deux directions (Takahashi *et al.*, 2014). Réaliser une plateforme qui puisse enregistrer simultanément les forces de réactions au sol des six pattes de la fourmi dans les

trois directions est assurément un défi technique qui apporterait une contribution importante à la compréhension de la locomotion et du transport de charge chez la fourmi.

Pour conclure, notre travail a permis de caractériser de façon fine la cinématique des pattes de la fourmi lors de la locomotion, de comprendre comment les plus grosses fourmis compensaient le déséquilibre induit par leur tête relativement plus massive et de comprendre comment les fourmis chargées modifiaient leur locomotion en fonction de la masse de l'objet transportée. Nous avons également pu caractériser la démarche de la fourmi à travers l'étude de la dynamique de son centre de masse. Cela a permis de confirmer ce qui avait été trouvé pour une autre espèce de fourmi en locomotion non chargée et d'étudier pour la première fois l'influence de la charge sur cette dynamique. Enfin, nous avons déterminé le taux métabolique de *M. barbarus* durant la locomotion et le transport de charge et nous avons modélisé l'évolution de ce taux en fonction de la température, de la masse de la fourmi, de son activité et de la masse de la charge transportée le cas échéant. Ce modèle a permis le calcul du taux énergétique net dont les prédictions ont été appliquées à l'activité du fourrage de cette espèce granivore. Si nous devons poursuivre cette étude, nous choisirions de nous focaliser sur la détermination de la cinématique 3D des différents segments des pattes ainsi que sur la conception de plateformes de force pour mesurer les forces de réaction au sol des différentes pattes durant la locomotion non chargée ou chargée.

6 Bibliographie

- Acosta, F. J., López, F. and Serrano, J. M.** (1993). Branching angles of ant trunk trails as an optimization cue. *J. Theor. Biol.* **160**, 297–310.
- Ahmad, H. N. and Barbosa, T. M.** (2019). The effects of backpack carriage on gait kinematics and kinetics of schoolchildren. *Sci. Rep.* **9**, 1–6.
- Ahn, A. N., Furrow, E. and Biewener, A. A.** (2004). Walking and running in the red-legged running frog, *Kassina maculata*. *J. Exp. Biol.* **207**, 399–410.
- Aleksiev, A. S., Sendova-Franks, A. B. and Franks, N. R.** (2007). The selection of building material for wall construction by ants. *Anim. Behav.* **73**, 779–788.
- Alexander, R. M.** (1989). Optimization and gaits in the locomotion of vertebrates. *Physiol. Rev.* **69**, 1199–1227.
- Alexander, R. M.** (2003). *Principles of animal locomotion*. Princeton. Princeton and Oxford.
- Alexander, R. M.** (2005). Models and the scaling of energy costs for locomotion. *J. Exp. Biol.* **208**, 1645–1652.
- Alexander, R. M. N. and Vernon, A.** (1975). The mechanics of hopping by kangaroos (*Macropodidae*). *J. Zool.* **177**, 265–303.
- Alexander, R. M. N., Jayes, A. S. and Ker, R. F.** (1980). Estimates of energy cost for quadrupedal running gaits. *J. Zool.* **190**, 155–192.
- Andrada, E., Rode, C. and Blickhan, R.** (2013). Grounded running in quails: Simulations indicate benefits of observed fixed aperture angle between legs before touch-down. *J. Theor. Biol.* **335**, 97–107.
- Arnan, X., Ferrandiz-Rovira, M., Pladevall, C. and Rodrigo, A.** (2011). Worker size-related task partitioning in the foraging strategy of a seed-harvesting ant species. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **65**, 1881–1890.
- Azcárate, F. M., Arqueros, L., Sánchez, A. M. and Peco, B.** (2005). Seed and fruit selection by harvester ants, *Messor barbarus*, in Mediterranean grassland and scrubland. *Funct. Ecol.* **19**, 273–283.
- Azcárate, F. M., Kovacs, E. and Peco, B.** (2007). Microclimatic conditions regulate surface

- activity in harvester ants *Messor barbarus*. *J. Insect Behav.* **20**, 315–329.
- Baba, Y., Tsukada, A. and Comer, C. M.** (2010). Collision avoidance by running insects: antennal guidance in cockroaches. *J. Exp. Biol.* **213**, 2294–2302.
- Baroni-Urbani, C. and Nielsen, M. G.** (1990). Energetics and foraging behaviour of the European seed harvesting ant *Messor capitatus*: II. Do ants optimize their harvesting? *Physiol. Entomol.* **15**, 449–461.
- Bartholomew, G. A., Lighton, J. R. B. and Feener, D. H.** (1988). Energetics of trail laying running, load carriage, and emigration in the column-raiding army ant *Eciton hamatum*. *Physiol. Zool.* **61**, 57–68.
- Barton, K.** (2018). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.42.1. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.
- Bartsch, M. S., Federle, W., Full, R. J. and Kenny, T. W.** (2007). A Multiaxis Force Sensor for the Study of Insect Biomechanics. **16**, 709–718.
- Bastien, G. J., Willems, P. A., Schepens, B. and Heglund, N. C.** (2016). The mechanics of head-supported load carriage by Nepalese porters. *J. Exp. Biol.* **219**, 3626–3634.
- Batschelet, E.** (1981). *Circular Statistics in Biology*. Academic P. London.
- Bender, J. A., Simpson, E. M., Tietz, B. R., Daltorio, K. A., Quinn, R. D. and Ritzmann, R. E.** (2011). Kinematic and behavioral evidence for a distinction between trotting and ambling gaits in the cockroach *Blaberus discoidalis*. *J. Exp. Biol.* **214**, 2057–2064.
- Bernadou, A., Espadaler, X., Dos-Reis, V. and Fourcassié, V.** (2011). Effect of substrate roughness on load selection in the seed-harvester ant *Messor barbarus* L. (Hymenoptera, Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* **65**, 1763–1771.
- Bernadou, A., Felden, A., Moreau, M., Moretto, P. and Fourcassié, V.** (2016). Ergonomics of load transport in the seed harvesting ant *Messor barbarus* : morphology influences transportation method and efficiency. *J. Exp. Biol.* **219**, 2920–2927.
- Beutel, R. G. and Gorb, S. N.** (2001). Ultrastructure of attachment specializations of hexapods (Arthropoda): Evolutionary patterns inferred from a revised ordinal phylogeny. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* **39**, 177–207.

- Biancardi, C. M., Fabrica, C. G., Polero, P., Loss, J. F. and Minetti, A. E.** (2011). Biomechanics of octopedal locomotion: kinematic and kinetic analysis of the spider *Grammostola mollicoma*. *J. Exp. Biol.* **214**, 3433–3442.
- Bidaye, S. S., Bockemühl, T. and Büschges, A.** (2017). Six-legged walking in insects: how CPGs, peripheral feedback, and descending signals generate coordinated and adaptive motor rhythms. *J. Neurophysiol.* **119**, 459-475.
- Blickhan, R.** (1989). The Spring-Mass Model for Running and Hopping. *J. Biomech.* **22**, 1217–1227.
- Bonner, J. T.** (2006). *Why size matters: from bacteria to blue whales*. Princeton. Princeton.
- Breheny, P. and Burchett, W.** (2017). Visualization of Regression Models Using visreg. *R J.* **9**, 56–71.
- Brody, S.** (1945). *Bioenergetics and growth*. Reinhold. New York.
- Buchanan, T. S., Lloyd, D. G., Manal, K. and Besier, T. F.** (2005). Estimation of muscle forces and joint moments using a forward-inverse dynamics model. *Med. Sci. Sports Exerc.* **37**, 1911–1916.
- Burd, M.** (2000). Body size effects on locomotion and load carriage in the highly polymorphic leaf-cutting ants *Atta colombica* and *Atta cephalotes*. *Behav. Ecol.* **11**, 125–131.
- Burd, M.** (2001). Leaf tissue transport as a function of loading ratio in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Ecol. Entomol.* **26**, 551–556.
- Buschmann, T., Ewald, A., Twickel, A. Von and Büschges, A.** (2015). Controlling legs for locomotion - Insights from robotics and neurobiology. *Bioinspiration and Biomimetics* **10**, 1-38.
- Cahouët, V., Luc, M. and David, A.** (2002). Static optimal estimation of joint accelerations for inverse dynamics problem solution. *J. Biomech.* **35**, 1507–1513.
- Cavagna, G. A.** (1975). Force platforms as ergometers. *J. Appl. Physiol.* **39**, 174–179.
- Cavagna, G. A. and Kaneko, M.** (1977). Mechanical work and efficiency in level walking and running. *J. Physiol.* **268**, 467–481.

- Cavagna, G. A., Thys, H. and Zamboni, A.** (1976). The source of external work in level walking and running. *J. Physiol.* **262**, 639–657.
- Cavagna, G. A., Heglund, N. C. and Taylor, C. R.** (1977). Mechanical work basic mechanisms in terrestrial locomotion : two for minimizing energy expenditure. *Am. J. Physiol.* **233**, 243–261.
- Cavagna, G. A., Willems, P. A., Franzetti, P. and Detrembleur, C.** (1991). Two power limits conditioning step frequency. *J. Physiol.* **437**, 95–108.
- Cerdá, X., Angulo, E., Boulay, R. and Lenoir, A.** (2009). Individual and collective foraging decisions: A field study of worker recruitment in the gypsy ant *Aphaenogaster senilis*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **63**, 551–562.
- Cerdan, F.** (1989). Etude de la biologie, de l'écologie et du comportement des fourmis moissonneuses du genre *Messor* (Hymenoptera, Formicidae).
- Cevallos Dupuis, E. and Harrison, J. F.** (2017). Trunk trail maintenance in leafcutter ants: caste involvement and effects of obstacle type and size on path clearing in *Atta cephalotes*. *Insectes Soc.* **64**, 189–196.
- Clémencet, J., Cournault, L., Odent, A. and Doums, C.** (2010). Worker thermal tolerance in the thermophilic ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Soc.* **57**, 11–15.
- Czaczkas, T. J. and Ratnieks, F. L. W.** (2013). Cooperative transport in ants (Hymenoptera: Formicidae) and elsewhere. *Myrmecological News* **18**, 1–11.
- Dahbi, A., Cerdá, X., Hefetz, A. and Lenoir, A.** (1997). Adult transport in the ant *Cataglyphis iberica*: A means to maintain a uniform colonial odour in a species with multiple nests. *Physiol. Entomol.* **22**, 13–19.
- Dallmann, C. J., Dürr, V. and Schmitz, J.** (2016). Joint torques in a freely walking insect reveal distinct functions of leg joints in propulsion and posture control. *Proc. Biol. Sci.* **283**, 1–9.
- De Leva, P.** (1996). Joint center longitudinal positions computed from a selected subset of Chandler's data. *J. Biomech.* **29**, 1231–1233.
- Delcomyn, F.** (1981). *Locomotion and Energetics in Arthropods*. (ed. Herreid, C. F.) Springer

US.

- Detrain, C. and Tasse, O.** (2000). Seed drops and caches by the harvester ant *Messor barbarus*: Do they contribute to seed dispersal in Mediterranean grasslands? *Naturwissenschaften* **87**, 373–376.
- Detrain, C., Tasse, O., Versaen, M. and Pasteels, J. M.** (2000). A field assessment of optimal foraging in ants: Trail patterns and seed retrieval by the European harvester ant *Messor barbarus*. *Insectes Soc.* **47**, 56–62.
- Dial, K. P., Greene, E. and Irschick, D. J.** (2008). Allometry of behavior. *Trends Ecol. Evol.* **23**, 394–401.
- Dickinson, M. H.** (2000). How animals move: an integrative view. *Science*. **288**, 100–106.
- Diederich, B.** (2006). Stick Insects Walking Along Inclined Surfaces. *Integr. Comp. Biol.* **42**, 165–173.
- Dietz, V.** (2003). Spinal cord pattern generators for locomotion. *Clin. Neurophysiol.* **114**, 1379–1389.
- Diez, L., Deneubourg, J. L., Hoebeker, L. and Detrain, C.** (2011). Orientation in corpse-carrying ants: Memory or chemical cues? *Anim. Behav.* **81**, 1171–1176.
- Doke, J., Donelan, J. M. and Kuo, A. D.** (2005). Mechanics and energetics of swinging the human leg. *J. Exp. Biol.* **208**, 439–445.
- Doube, M., Klosowski, M. M., Arganda-Carreras, I., Cordelières, F. P., Dougherty, R. P., Jackson, J. S., Schmid, B., Hutchinson, J. R. and Shefelbine, S. J.** (2010). BoneJ: Free and extensible bone image analysis in ImageJ. *Bone* **47**, 1076–1079.
- Duncan, F. D.** (1995). A reason for division of labor in ant foraging. *Naturwissenschaften* **82**, 293–296.
- Duncan, F. D.** (1999). The ponerine ant *Pachycondyla* (=Ophthalmopone) *berthoudi* forel carries loads economically. *Physiol. Biochem. Zool.* **72**, 71–77.
- Duncan, F. D. and Lighton, J. R. B.** (1994). The burden within : the energy cost of load carriage in the honeypot ant, *myrmecocystus*. *Physiol. Zool.* **67**, 190–203.

- Dupeyroux, J., Serres, J. R. and Viollet, S.** (2019). AntBot: A six-legged walking robot able to home like desert ants in outdoor environments. *Sci. Robot.* **4**, 1–13.
- Ehler, E. and Gautel, M.** (2008). *The sarcomere and skeletal muscle disease. Chapter 1 : The sarcomere and sarcomerogenesis.* Springer S. (ed. Laing, N.).
- Endlein, T. and Federle, W.** (2008). Walking on smooth or rough ground: passive control of pretarsal attachment in ants. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sensory, Neural, Behav. Physiol.* **194**, 49–60.
- Endlein, T. and Federle, W.** (2015). On heels and toes: How ants climb with adhesive pads and tarsal friction hair arrays. *PLoS One* **10**, 1–16.
- Escalante, I., Badger, M. A. and Elias, D. O.** (2019). Variation in movement : multiple locomotor gaits in Neotropical harvestmen. *Biol. J. Linn. Soc.* **20**, 1–15.
- Farley, C. T. and Ko, T. C.** (1997). Mechanics of locomotion in lizards. *J. Exp. Biol.* **200**, 2177–2188.
- Farley, C. T., Glasheen, J. and McMahon, T. a** (1993). Running springs: speed and animal size. *J. Exp. Biol.* **185**, 71–86.
- Federle, W. and Labonte, D.** (2019). Dynamic biological adhesion: mechanisms for controlling attachment during locomotion. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **374**, 1-12.
- Federle, W., Brainerd, E. L., McMahon, T. A. and Holldobler, B.** (2001). Biomechanics of the movable pretarsal adhesive organ in ants and bees. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 6215–6220.
- Feener, D. H. and Lighton, J. R. B.** (1991). Is foraging in the desert ant, *Messor pergandei* (Hymenoptera: Formicidae), limited by water? *Ecol. Entomol.* **16**, 183–191.
- Fenn, W.** (1930). Frictional and kinetic factors in the work of sprint running. *Am. Physiol. Soc.*
- Fleming, P. A. and Bateman, P. W.** (2007). Just drop it and run: the effect of limb autotomy on running distance and locomotion energetics of field crickets (*Gryllus bimaculatus*). *J. Exp. Biol.* **210**, 1446–1454.
- Full, R. J. and Koehl, M. a R.** (1993). Drag and lift on running insects. *J. Exp. Biol.* **176**, 89–

101.

Full, R. J. and Tu, M. S. (1990). Mechanics of six-legged runners. *J. Exp. Biol.* **148**, 129–146.

Full, R. J. and Tu, M. S. (1991). Mechanics of a rapid running insect: two-, four- and six-legged locomotion. *J. Exp. Biol.* **231**, 215–231.

Full, R. J. and Tullis, A. (1990). Capacity for Sustained Terrestrial Locomotion in an Insect - Energetics, Thermal-Dependence, and Kinematics. *J Comp Physiol B* **160**, 573–581.

Full, R. J., Zuccarello, D. and Tullis, A. (1990). Effect of variation in form on the cost of terrestrial locomotion. *J. Exp. Biol.* **150**, 233–246.

Fumery, G., Claverie, L., Fourcassié, V. and Moretto, P. (2018). Walking pattern efficiency during collective load transport. *Gait Posture* **64**, 244–247.

Genin, J. J., Willems, P. A., Cavagna, G. A., Lair, R. and Heglund, N. C. (2010). Biomechanics of locomotion in Asian elephants. *J. Exp. Biol.* **213**, 694–706.

Geyer, H., Seyfarth, A. and Blickhan, R. (2006). Compliant leg behaviour explains basic dynamics of walking and running. *Proc. Biol. Sci.* **273**, 2861–2867.

Gleiss, A. C., Wilson, R. P. and Shepard, E. L. C. (2011). Making overall dynamic body acceleration work: On the theory of acceleration as a proxy for energy expenditure. *Methods Ecol. Evol.* **2**, 23–33.

Gorb, S. N., Beutel, R. G., Gorb, E. V, Jiao, Y., Kastner, V., Niederegger, S., Popov, V. L., Scherge, M., Schwarz, U. and Vötsch, W. (2002). Structural design and biomechanics of friction-based releasable attachment devices in insects. *Integr. Comp. Biol.* **42**, 1127–1139.

Gottschall, J. S. and Kram, R. (2005). Energy cost and muscular activity required for leg swing during walking. *J. Appl. Physiol.* **99**, 23–30.

Grabowska, M., Godlewska, E., Schmidt, J. and Daun-Gruhn, S. (2012). Quadrupedal gaits in hexapod animals - inter-leg coordination in free-walking adult stick insects. *J. Exp. Biol.* **215**, 4255–4266.

Green, J. A., Halsey, L. G., Wilson, R. P. and Frappell, P. B. (2009). Estimating energy

expenditure of animals using the accelerometry technique: activity, inactivity and comparison with the heart-rate technique. *J. Exp. Biol.* **212**, 471–482.

Griffin, T. M., Roberts, T. J. and Kram, R. (2003). Metabolic cost of generating muscular force in human walking: Insights from load-carrying and speed experiments. *J. Appl. Physiol.* **95**, 172–183.

Griffin, T. M., Main, R. P. and Farley, C. T. (2004). Biomechanics of quadrupedal walking: how do four-legged animals achieve inverted pendulum-like movements? *J. Exp. Biol.* **207**, 3545–3558.

Gruhn, M., Zehl, L. and Buschges, A. (2009). Straight walking and turning on a slippery surface. *J. Exp. Biol.* **212**, 194–209.

Guertin, P. A. (2009). The mammalian central pattern generator for locomotion. *Brain Res. Rev.* **62**, 45–56.

Halsey, L. G. (2016). Terrestrial movement energetics: current knowledge and its application to the optimising animal. *J. Exp. Biol.* **219**, 1424–1431.

Harkness, R. and Wehner, R. Cataglyphis. *Endevavour* **1**, 115–121.

Heglund, N. C., Cavagna, G. a and Taylor, C. R. (1982). Energetics and mechanics of terrestrial locomotion. III. Energy changes of the centre of mass as a function of speed and body size in birds and mammals. *J. Exp. Biol.* **97**, 41–56.

Heglund, N. C., Willems, P. A., Penta, M. and Cavagna, G. A. (1995). Energy-saving gait mechanics with head-supported loads. *Lett. to Nat.* **375**, 52–53.

Heredia, A. and Detrain, C. (2000). Worker size polymorphism and ethological role of sting associated glands in the harvester ant *Messor barbarus*. *Insectes Soc.* **47**, 383–389.

Heredia, A. and Detrain, C. (2005). Influence of seed size and seed nature on recruitment in the polymorphic harvester ant *Messor barbarus*. *Behav. Processes* **70**, 289–300.

Herreid, C. F. and Full, R. J. (1986). Energetics of hermit crabs during locomotion: The cost of carrying a shell. *J. Exp. Biol.* **120**, 297–308.

Hölldobler, B. and Wilson, E. O. (1990). *The ants*. Harvard Un. Cambridge.

- Holm-Jensen, I., Jensen, T. F. and Nielsen, M. G.** (1980). The influence of temperature upon the rate of CO₂ production in enflurane anaesthetized worker ants of *Formica rufa* L. *Insectes Soc.* **27**, 180–185.
- Hoyt, D. F. and Taylor, C. R.** (1981). Gait and the energetics of locomotion in horses. *Nature* **292**, 239–240.
- Hughes, G. M.** (1952). The co-ordination of insect movements. *J. Exp. Biol.* **29**, 267–285.
- Hughes, W. O. H. and Goulson, D.** (2001). Polyethism and the importance of context in the alarm reaction of the grass-cutting ant, *Atta capiguara*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **49**, 503–508.
- Ijspeert, A. J.** (2008). Central pattern generators for locomotion control in animals and robots: A review. *Neural Networks* **21**, 642–653.
- Jagnandan, K. and Higham, T. E.** (2018). How rapid changes in body mass affect the locomotion of terrestrial vertebrates: Ecology, evolution and biomechanics of a natural perturbation. *Biol. J. Linn. Soc.* **124**, 279–293.
- Jindrich, D. L. and Full, R. J.** (2002). Dynamic stabilization of rapid hexapedal locomotion. *J. Exp. Biol.* **205**, 2803–23.
- Kar, D. C., Kurien Issac, K. and Jayarajan, K.** (2003). Gaits and energetics in terrestrial legged locomotion. *Mech. Mach. Theory* **38**, 355–366.
- Kelrick, M., MacMahon, J., Parmenter, R. and Sisson, D.** (1986). Native seed preferences of shrub-steppe rodents, birds and ants: the relationships of seed attributes and seed use. *Oecologia* **68**, 327–337.
- Khalife, A., Keller, R. A., Billen, J., Hita Garcia, F., Economo, E. P. and Peeters, C.** (2018). Skeletomuscular adaptations of head and legs of *Melissotarsus* ants for tunnelling through living wood. *Front. Zool.* **15**, 30.
- Kiehn, O.** (2016). Decoding the organization of spinal circuits that control locomotion. *Nat. Rev. Neurosc.* **17**, 1–15.
- Kneitz, V. G.** (1964). Saisonales trageverhalten bei *Formica polyctena* foerst. *Insectes Soc.* **11**, 105–130.

- Koditschek, D. E., Full, R. J. and Buehler, M.** (2004). Mechanical aspects of legged locomotion control. *Arthropod Struct. Dev.* **33**, 251–272.
- Kram, R. and Taylor, C. R.** (1990). Energetics of running: a new perspective. *Nature* **346**, 265–267.
- Kram, R., Wong, B. and Full, R. J.** (1997). Three-dimensional kinematics and limb kinetic energy of running cockroaches. *J. Exp. Biol.* **200**, 1919–29.
- Lagos, P. A.** (2017). A review of escape behaviour in orthopterans. *J. Zool.* **303**, 165–177.
- Latella, C., Kuppuswamy, N., Romano, F., Traversaro, S. and Nori, F.** (2016). Whole-body human inverse dynamics with distributed micro-accelerometers, gyros and force sensing. *Sensors* **16**, 1-17.
- Lemke, S. B. and Schnorrer, F.** (2017). Mechanical forces during muscle development. *Mech. Dev.* **144**, 92–101.
- Lighton, J. R. B.** (2008). *Measuring metabolic rates*. Oxford uni. New York.
- Lighton, J. R. B. and Bartholomew, G. A.** (1988). Standard energy metabolism of a desert harvester ant, *Pogonomyrmex rugosus*: Effects of temperature, body mass, group size, and humidity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85**, 4765–4769.
- Lighton, J. and Berrigan, D.** (1995). Questioning paradigms: caste-specific ventilation in harvester ants, *Messor pergandei* and *M. julianus* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Exp. Biol.* **198**, 521–30.
- Lighton, J. R. B. and Halsey, L. G.** (2011). Flow-through respirometry applied to chamber systems: Pros and cons, hints and tips. *Comp. Biochem. Physiol. - A Mol. Integr. Physiol.* **158**, 265–275.
- Lighton, J. R. B., Bartholomew, G. A. and Feener, D. H.** (1987). Energetics of locomotion and load carriage and a model of the energy cost of foraging in the leaf cutting ant *Atta colombica guer*. *Physiol. Zool.* **60**, 524–537.
- Lighton, J. R. B., Weier, J. a and Feener, D. H.** (1993). The energetics of locomotion and load carriage in the desert harvester ant *Pogonomyrmex rugosus*. *J. Exp. Biol.* **181**, 49–61.

- Lighton, J. R. B., Quinlan, Michael, C. and Feener, D. H.** (1994). Is bigger better ? Water balance in the polymorphic desert harvester ant *Messor pergandei*. *Physiol. Entomol.* **19**, 325–334.
- Lopez, A. F., Acosta, F. J., Serrano, J. M., Journal, S. and Jan, N.** (1994). Guerilla vs phalanx strategies of resource capture : growth and structural plasticity in the trunk trail system of the harvester ant *Messor barbarus*. *Br. Ecol. Soc.* **63**, 127–138.
- López, F., Acosta, F. J. and Serrano, J. M.** (1993). Responses of the trunk routes of a harvester ant to plant density. *Oecologia* **93**, 109–113.
- Lozano, A., Peters, G. and Liu, D.** (2011). Analysis of an arthropodal system for design of a climbing robot. *Proc. 28th ISARC* 832–838.
- Maák, I., Lőrinczi, G., Le Quinquis, P., Módra, G., Bovet, D., Call, J. and d’Ettorre, P.** (2017). Tool selection during foraging in two species of funnel ants. *Anim. Behav.* **123**, 207–216.
- Marek, P. and Bond, J.** (2006). Rediscovery of the world’s leggiest animal. *Nat. Br. Commun.* **441**, 707.
- Marsh, R. L., Ellerby, D. J., Carr, J. A., Henry, H. T. and Buchanan, C. I.** (2004). Partitioning the energetics of walking and running: swinging the limbs is expensive. *Science (80-)*. **303**, 80–83.
- Mendes, C. S., Bartos, I., Akay, T., Márka, S. and Mann, R. S.** (2013). Quantification of gait parameters in freely walking wild type and sensory deprived *Drosophila melanogaster*. *Elife* **2013**, 1–24.
- Mendes, C. S., Rajendren, S. V., Bartos, I., Márka, S. and Mann, R. S.** (2014). Kinematic responses to changes in walking orientation and gravitational load in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One* **9**, 1–14.
- Modica, J. R. and Kram, R.** (2005). Metabolic energy and muscular activity required for leg swing in running. *J. Appl. Physiol.* **98**, 2126–2131.
- Moll, K., Roces, F. and Federle, W.** (2010). Foraging grass-cutting ants (*Atta vollenweideri*) maintain stability by balancing their loads with controlled head movements. *J. Comp. Physiol.* **196**, 471–480.

- Moll, K., Federle, W. and Roces, F.** (2012). The energetics of running stability: costs of transport in grass-cutting ants depend on fragment shape. *J. Exp. Biol.* **215**, 161–168.
- Moll, K., Roces, F. and Federle, W.** (2013). How load-carrying ants avoid falling over: mechanical stability during foraging in *Atta vollenweideri* grass-cutting ants. *PLoS One* **8**, 1–9.
- Moretto, P., Villegger, D., Costes, A. and Watier, B.** (2016). Elastic energy in locomotion: Spring-mass vs. poly-articulated models. *Gait Posture* **48**, 183–188.
- Nakagawa, S. and Schielzeth, H.** (2013). A general and simple method for obtaining R² from generalized linear mixed-effects models. *Methods Ecol. Evol.* **4**, 133–142.
- Nguyen, V., Lilly, B. and Castro, C.** (2014). The exoskeletal structure and tensile loading behavior of an ant neck joint. *J. Biomech.* **47**, 497–504.
- Nielsen, M. G.** (2001). Energetic cost of foraging in the ant *Rhytidoponera aurata* in tropical Australia. *Physiol. Entomol.* **26**, 248–253.
- Nielsen, M. G. and Baroni-Urbani, C.** (1990). Energetics and foraging behaviour of the European seed harvesting ant *Messor capitatus*: I. Respiratory metabolism and energy consumption of unloaded and loaded workers during locomotion. *Physiol. Entomol.* **15**, 441–448.
- Nielsen, M. G., Jensen, T. F. and Holm-Jensen, I.** (1982). Effect of load carriage on the respiratory metabolism of running worker ants of *Camponotus herculeanus* (Formicidae). *Oikos* **39**, 137–142.
- Norman, V. C., Hoppé, M. and Hughes, W. O. H.** (2014). Old and wise but not size: Factors affecting threat response behaviour and nestmate recognition in *Acromyrmex echinator* leaf-cutting ants. *Insectes Soc.* **61**, 289–296.
- Nye, S. W. and Ritzmann, R. E.** (1992). Motion analysis of leg joints associated with escape turns of the cockroach, *Periplaneta americana*. *J. Comp. Physiol. A* **171**, 183–194.
- Pfeffer, S. E., Wahl, V. L. and Wittlinger, M.** (2016). How to find home backwards? Locomotion and inter-leg coordination during rearward walking of *Cataglyphis fortis* desert ants. *J. Exp. Biol.* **219**, 2110–2118.

- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S. and Sarkar, D.** (2018). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-137. <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- Plowes, N. J. R., Johnson, R. and Holldobler, B.** (2013). Foraging behavior in the ant genus *Messor* (Hymenoptera : Formicidae : Myrmicinae). *Myrmecological News* **18**, 33–49.
- Pollard, T., Earnshaw, W., Lippincott-Schwartz, J. and Jonhson, G.** (2017). *Cell Biology*. Elsevier I. Philadelphia.
- Pontzer, H.** (2016). A unified theory for the energy cost of legged locomotion. *Biol. Lett.* **12**, 1-5.
- Reilly, S. M., McElroy, E. J. and Biknevicius, A. R.** (2007). Posture, gait and the ecological relevance of locomotor costs and energy-saving mechanisms in tetrapods. *Zoology* **110**, 271–289.
- Reinhardt, L. and Blickhan, R.** (2014a). Level locomotion in wood ants: evidence for grounded running. *J. Exp. Biol.* **217**, 2358–2370.
- Reinhardt, L. and Blickhan, R.** (2014b). Ultra-miniature force plate for measuring triaxial forces in the micronewton range. *J. Exp. Biol.* **217**, 704–10.
- Reinhardt, L., Weihmann, T. and Blickhan, R.** (2009). Dynamics and kinematics of ant locomotion: do wood ants climb on level surfaces? *J. Exp. Biol.* **212**, 2426–2435.
- Reyes, J. L.** (1986). Adaptability of foraging trails in *Messor barbarus*. *Insectes Soc.* **33**, 249–257.
- Reyes, J. L. and Fernández Haeger, J.** (1999). Sequential co-operative load transport in the seed-harvesting ant *Messor barbarus*. *Insectes Soc.* **46**, 119–125.
- Reyes-López, J. L. and Fernández-Haeger, J.** (2001). Some factors determining size-matching in the harvester ant *Messor barbarus*: Food type, transfer activity, recruitment rate and size-range. *Insectes Soc.* **48**, 118–124.
- Reyes-López, J. L. and Fernández-Haeger, J.** (2002). Food storage in the nest and seed selectivity in the harvester ant *Messor barbarus* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* **39**, 123–128.

- Ridgel, A. L. and Ritzmann, R. E.** (2005). Insights into age-related locomotor declines from studies of insects. *Ageing Res. Rev.* **4**, 23–39.
- Rissing, S. W.** (1982). Foraging Velocity of Seed-Harvester Ants, *Veromessor pergandei* (Hymenoptera: Formicidae). *Environ. Entomol.* **11**, 905–907.
- Rissing, S. W. and Pollock, G. B.** (1984). Worker size variability and foraging efficiency in *Veromessor pergandei* (Hymenoptera: Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* **15**, 121–126.
- Robilliard, J. J., Pfau, T. and Wilson, A. M.** (2007). Gait characterisation and classification in horses. *J. Exp. Biol.* **210**, 187–197.
- Rome, L., Funke, R., Alexander, R. M., Lutz, G., Aldridge, H., Scottt, F. and Freadman, M.** (1988). Why animals have different muscles fibre type. *Nature* **335**, 824–827.
- Röschard, J. and 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. and Roces, F.** (2003). Fragment-size determination and size-matching in the grass-cutting ant *Atta vollenweideri* depend on the distance from the nest. *J. Trop. Ecol.* **19**, 647–653.
- Rubenson, J., Heliams, D. B., Lloyd, D. G. and Fournier, P. A.** (2004). Gait selection in the ostrich: mechanical and metabolic characteristics of walking and running with and without an aerial phase. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **271**, 1091–1099.
- Savitzky, A. and Golay, M. J. E.** (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Anal. Chem.* **36**, 1627–1639.
- Schiaffino, S. and Reggiani, C.** (2011). Fiber types in Mammalian skeletal muscles. *Physiol. Rev.* **91**, 1447–1531.
- Schielzeth, H. and Forstmeier, W.** (2009). Conclusions beyond support: Overconfident estimates in mixed models. *Behav. Ecol.* **20**, 416–420.
- Schilman, P. E. and Roces, F.** (2005). Energetics of locomotion and load carriage in the nectar feeding ant, *Camponotus rufipes*. *Physiol. Entomol.* **30**, 332–337.
- Schmid-Hempel, P., Kacelnik, A. and Houston, A. I.** (1985). Honeybees maximize efficiency

- by not filling their crop. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **17**, 61–66.
- Schmidt-Nielsen, K.** (1984). *Scaling: Why is animal size so important?* Cambridge.
- Schönbauer, C., Distler, J., Jährling, N., Radolf, M., Dodt, H. U., Frasch, M. and Schnorrer, F.** (2011). Spalt mediates an evolutionarily conserved switch to fibrillar muscle fate in insects. *Nature* **479**, 406–409.
- Segre, P. S. and Taylor, E. D.** (2019). Large ants do not carry their fair share: maximal load-carrying performance of leaf-cutter ants (*Atta cephalotes*). *J. Exp. Biol.* **222**, 1-4.
- Seidl, T. and Wehner, R.** (2008). Walking on inclines: How do desert ants monitor slope and step length. *Front. Zool.* **5**, 1–15.
- Sensenig, A. T. and Shultz, J. W.** (2007). Mechanical Energy Oscillations During Locomotion in the Harvestman *Leiobunum Vittatum* (Opiliones). *J. Arachnol.* **34**, 627–633.
- Spence, A. J., Revzen, S., Seipel, J., Mullens, C. and Full, R. J.** (2010). Insects running on elastic surfaces. *J. Exp. Biol.* **213**, 1907–1920.
- Spletter, M. L. and Schnorrer, F.** (2014). Transcriptional regulation and alternative splicing cooperate in muscle fiber-type specification in flies and mammals. *Exp. Cell Res.* **321**, 90–98.
- Sponberg, S. and Full, R. J.** (2008). Neuromechanical response of musculo-skeletal structures in cockroaches during rapid running on rough terrain. *J. Exp. Biol.* **211**, 433–446.
- Takahashi, H., Thanh-Vinh, N., Jung, U. G., Matsumoto, K. and Shimoyama, I.** (2014). MEMS two-axis force plate array used to measure the ground reaction forces during the running motion of an ant. *J. Micromechanics Microengineering* **24**, 1-9.
- Taylor, D. and Dirks, J.-H.** (2012). Shape optimization in exoskeletons and endoskeletons: a biomechanics analysis. *J. R. Soc. Interface* **9**, 3480–3489.
- Taylor, C. R., Shkolnik, A., Dmi’el, R., Baharav, D. and Borut, A.** (1974). Running in cheetahs, gazelles, and goats: energy cost and limb configuration. *Am. J. Physiol.* **227**, 848–850.
- Taylor, C. R., Heglund, N. C., McMahon, T. a and Looney, T. R.** (1980). Energetic cost of generating muscular force during running: A comparison of large and small animals. *J*

Exp Biol **86**, 9–18.

Taylor, C. R., Heglund, N. C. and Maloiy, G. M. (1982). Energetics and mechanics of terrestrial locomotion. I. Metabolic energy consumption as a function of speed and body size in birds and mammals. *J. Exp. Biol.* **97**, 1–21.

Theunissen, L. M. and Dürr, V. (2013). Insects use two distinct classes of steps during unrestrained locomotion. *PLoS One* **8**, 1–18.

Tian, G. and Zhu, X. (1992). Harvester ant foraging and shrub-steppe speeds: interaction of seed resources and seed use. *Ecology* **73**, 1768–1779.

Ting, L. H., Blickhan, R. and Full, R. J. (1994). Dynamic and static stability in hexapedal runners. *J. Exp. Biol.* **197**, 251–269.

Uhlmann, V., Ramdya, P., Delgado-Gonzalo, R., Benton, R. and Unser, M. (2017). FlyLimbTracker: An active contour based approach for leg segment tracking in unmarked, freely behaving *Drosophila*. *PLoS One* **12**, 1–21.

Vereecke, E. E., D’Août, K. and Aerts, P. (2006). The dynamics of hylobatid bipedalism: evidence for an energy-saving mechanism? *J. Exp. Biol.* **209**, 2829–2838.

Vincent, J. F. V and Wegst, U. G. K. (2004). Design and mechanical properties of insect cuticle. *Arthropod Struct. Dev.* **33**, 187–199.

Wahl, V., Pfeffer, S. E. and Wittlinger, M. (2015). Walking and running in the desert ant *Cataglyphis fortis*. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sensory, Neural, Behav. Physiol.* **201**, 645–656.

Walker, S. M., Schwyn, D. A., Mokso, R., Wicklein, M., Müller, T., Doube, M., Stampanoni, M., Krapp, H. G. and Taylor, G. K. (2014). In Vivo Time-Resolved Microtomography Reveals the Mechanics of the Blowfly Flight Motor. *PLoS Biol.* **12**, 1–12.

Watson, J. T., Ritzmann, R. E., Zill, S. N. and Pollack, A. J. (2002). Control of obstacle climbing in the cockroach, *Blaberus discoidalis*. I. Kinematics. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sensory, Neural, Behav. Physiol.* **188**, 39–53.

Wehner, R. (2009). The architecture of the desert ant’s navigational toolkit (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* **12**, 85–96.

- Weier, J. A. and Feener, D. H.** (1995). Foraging in the seed-harvester ant genus *Pogonomyrmex*: are energy costs important? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **36**, 291–300.
- Weier, J. A., Feener, D. H. and Lighton, J. R. B.** (1995). Inter-individual variation in energy cost of running and loading in the seed-harvester ant, *Pogonomyrmex maricopa*. *J. Insect Physiol.* **41**, 321–327.
- Weihmann, T.** (2013). Crawling at high speeds: steady level locomotion in the spider *Cupiennius salei* - global kinematics and implications for centre of mass dynamics. *PLoS One* **8**, 1-16.
- Weihmann, T., Brun, P.-G. and Pycroft, E.** (2017). Speed dependent phase shifts and gait changes in cockroaches running on substrates of different slipperiness. *Front. Zool.* **14**, 1-15.
- Widmaier, E., Raff, H. and Strang, K.** (2016). *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function (14th ed.)*. McGraw Hil. New York.
- Willems, P. A., Cavagna, G. A. and Heglund, N. C.** (1995). External, internal and total work in human locomotion. *J. Exp. Biol.* **198**, 379–393.
- Wilson, R. P., White, C. R., Quintana, F., Halsey, L. G., Liebsch, N., Martin, G. R. and Butler, P. J.** (2006). Moving towards acceleration for estimates of activity-specific metabolic rate in free-living animals: The case of the cormorant. *J. Anim. Ecol.* **75**, 1081–1090.
- Wöhrl, T., Reinhardt, L. and Blickhan, R.** (2017). Propulsion in hexapod locomotion: how do desert ants traverse slopes? *J. Exp. Biol.* **220**, 1618–1625.
- Wosnitza, a., Bockemuhl, T., Dubbert, M., Scholz, H. and Buschges, A.** (2012). Inter-leg coordination in the control of walking speed in *Drosophila*. *J. Exp. Biol.* **216**, 480–491.
- Yoda, K., Naito, Y., Sato, K., Takahashi, A., Nishikawa, J., Ropert-Coudert, Y., Kurita, M. and Le Maho, Y.** (2001). A new technique for monitoring the behaviour of free-ranging Adélie penguins. *J. Exp. Biol.* **204**, 685–690.
- Zani, P. A.** (2005). Giant Galapagos tortoises walk without inverted pendulum mechanical-energy exchange. *J. Exp. Biol.* **208**, 1489–1494.
- Zollikofer, C. P. E.** (1994a). Stepping patterns in ants - Part III - Influence of load. *J. Exp. Biol.*

192, 119–127.

Zollikofer, C. P. E. (1994b). Stepping patterns in ants - Part I - Influence of speed and curvature. *J. Exp. Biol.* **192**, 119–27.

Zollikofer, C. P. E. (1994c). Stepping patterns in ants - Part II - Influence of body morphology. *J. Exp. Biol.* **192**, 107–118.

Zuur, A., Ieno, E., Walker, N., Saveliev, A. and Smith, G. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer. New York.

7 Annexe

Cette annexe est le rapport de stage M2 de Guillaume Buisset sur la biomécanique du transport de charge chez la fourmi *Formica Rufa*.

Encadré par Vincent Fourcassié et co-encadré par moi-même.

**Biomécanique du transport de charge chez la
fourmi rousse des bois (groupe *Formica rufa*)**

Gillaume Bouisset



CRCA

**Centre de Recherche sur la Cognition
Animale - UMR 5169, CNRS
Université Paul Sabatier, Bât 4R3
118, route de Narbonne
F - 31062 Toulouse cedex 09**

**Vincent Fourcassie
2018-2019**

J'adresse mes sincères remerciements aux personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.

Je remercie Vincent Fourcassié, mon directeur de mémoire, pour nos nombreux échanges, pour les conseils qu'il m'a prodigués et pour m'avoir guidé dans l'élaboration de mon travail.

Je remercie Hugo Merienne pour le temps consacré à mes recherches et pour l'ensemble des connaissances qu'il m'a apportées.

Je remercie également Gérard Latil pour la grande disponibilité de son soutien et ses précieux conseils.

Enfin, je remercie toute l'équipe Cab pour l'aide que j'ai pu recevoir de la part de chacun et pour l'ensemble des débats scientifiques que nous avons pu avoir.

Introduction

Il existe une grande diversité de systèmes locomoteurs chez les insectes. Chez les hexapodes, la locomotion se caractérise par une marche en tripode alterné (Hughes, 1952). Les six pattes constituent deux tripodes qui vont être posés alternativement sur le substrat. Le premier tripode est formé par la patte avant droite, la patte du milieu gauche et la patte arrière droite et le deuxième par la patte avant gauche, la patte du milieu droite et la patte arrière gauche. Ce schéma locomoteur en tripode alterné peut toutefois subir des modifications en fonction de différents paramètres, comme la vitesse, l'état de l'individu ou les caractéristiques de l'environnement physique dans lequel il se déplace. Dans la marche simple on observe une brève phase de contact simultané des deux tripodes avec le substrat lors du second pas d'une foulée (Moll *et al.*, 2013; Reinhardt & Blickhan, 2014) alors que dans la course à grande vitesse, on observe des phases aériennes où aucune des six pattes n'est en contact avec le substrat (par exemple chez *Periplaneta americana* pour une vitesse de 25 longueur de corps. s^{-1} : Full & Tu, 1991 et chez *Cataglyphis fortis* pour une vitesse de 50 longueur de corps. s^{-1} : Wahl *et al.*, 2015). Les hexapodes peuvent aussi diminuer la fréquence de leur foulée et leur vitesse lorsque la déclivité du terrain augmente afin de préserver la coordination entre les pattes lors de la marche en tripode (*Cataglyphis fortis*: Seidl & Wehner, 2008; *Blaberus discoidalis*: Goldman, 2006). La position des pattes d'un même tripode peut également être modifiée par le transport de charge, en restant plus proche du corps (Zollikofer, 1994). Ceci se traduit par une réduction de la longueur des foulées, ce qui entraîne une diminution de la vitesse mais permet en revanche d'améliorer la stabilité de la fourmi (Moll *et al.*, 2013).

D'un point de vue biomécanique, la cinématique de la locomotion est généralement étudiée via l'analyse de la trajectoire du centre de masse global de l'animal (CoM) et les échanges d'énergie cinétique et potentielle associée. La marche est caractérisée par des fluctuations de l'énergie cinétique et potentielle du CoM en opposition de phase. L'énergie potentielle est donc transformée en énergie cinétique, ce qui constitue le principe du modèle du pendule inversé (IP : *Inverted Pendulum*) (Cavagna *et al.*, 1976, 1977). Ces échanges énergétiques peuvent être quantifiés par ce que Cavagna *et al.* (1976) ont appelé le "percentage recovery" (PR) qui rend compte du mouvement pendulaire du CoM. Plus la valeur de PR s'approche de 100%, plus la locomotion est conforme au modèle IP. Cependant, le modèle IP ne semble pas s'appliquer à la locomotion des hexapodes chez lesquels l'énergie

cinétique et l'énergie potentielle sont plutôt en phase (Full & Tu, 1990, 1991; Reinhardt & Blickhan, 2014). Des modèles alternatifs de locomotion, dérivés du modèle du pendule inversé mais tenant compte de l'élasticité des tissus (SLIP: *Spring-Loaded Inverted Pendulum*) ont été également proposés pour décrire la locomotion de certains hexapodes comme la blatte *Blaberus discoidalis* (Schmitt *et al.*, 2002).

Parmi les hexapodes, les fourmis constituent un modèle d'étude intéressant pour la locomotion de par la grande diversité de leur morphologie (Hölldobler & Wilson, 1990) et la diversité des environnements physiques dans lesquels elles évoluent, mais aussi de par les différents types de nourriture qu'elles récoltent et transportent (Traniello, 2002; Lanan, 2014). De manière générale, la locomotion chez les fourmis est caractérisée par un tripode alterné sans phase aérienne (mais voir pour une exception chez les fourmis qui se déplacent à très grande vitesse: Wahl *et al.*, 2015) où le modèle IP n'est pas applicable, comme chez les autres hexapodes. Par analogie avec ce qui se passe au cours de la course chez les bipèdes et les quadrupèdes, certains auteurs ont proposé de qualifier ce type de locomotion de "*grounded running*" (Reinhardt & Blickhan, 2014). Ce schéma locomoteur peut être modifié par divers facteurs. Chez les fourmis qui transportent des charges par exemple, en fonction de la masse et de la taille de la charge transportée, on observe une réduction de la longueur des foulées (Zollikofer, 1994) ou une modification de la posture adoptée pour le transport de la charge (Moll *et al.*, 2013). Ceci permet aux fourmis d'améliorer leur stabilité.

La plupart du temps, les charges transportées par les fourmis sont de nature alimentaire. Selon le type de ressource récoltée, les fourmis peuvent alors transporter la nourriture entre leurs mandibules et la déposer à l'intérieur du nid ou, dans le cas de nourriture liquide, l'ingérer dans leur estomac (jabot social) et la redistribuer par trophallaxie à leurs congénères (Hölldobler & Wilson, 1990). Ces deux types de charge (externe ou interne) affectent probablement de manière différente la position du CoM des fourmis : déplacement vers l'avant pour les charges externes, déplacement vers l'arrière pour les charges internes. On peut donc faire l'hypothèse que les fourmis n'ajusteront pas de la même façon leur comportement locomoteur pour maintenir leur équilibre si la charge est transportée entre les mandibules ou si elle est transportée dans l'estomac.

Dans le travail présenté ici nous avons voulu tester cette hypothèse sur une espèce de fourmi qui transporte sa nourriture aussi bien sous forme de charge externe que de charge interne : la fourmi rousse des bois du genre *Formica*. L'alimentation de cette fourmi est en

effet constituée à environ 62% par du miellat de pucerons (Adlung, 1963), transporté à l'intérieur de l'estomac, mais elle comprend aussi de nombreuses petites proies qui sont récoltées autour du nid (Adlung, 1963; Cherix, 1986; Domisch *et al.*, 2009) et qui sont transportées jusqu'au nid entre les mandibules. Nous avons étudié les performances locomotrices des fourmis sur le plan biomécanique dans les deux conditions de transport. Le miellat de pucerons étant la base de l'alimentation des *Formica* et l'anatomie et la morphologie de celles-ci étant adaptée au transport de nourriture liquide (présence d'un jabot social, abdomen pouvant être distendu), nous faisons l'hypothèse que ces performances pourraient être meilleures lors du transport de charge interne que lors du transport de charge externe. Pour caractériser les performances locomotrices des fourmis, nous avons analysé la position des pattes (*stepping pattern*) et la cinématique tridimensionnelle du CoM des mêmes individus lorsque ceux-ci transportent une charge externe, une charge interne et lorsqu'ils ne transportent aucune charge. Nous avons analysé les fluctuations de l'énergie cinétique et potentielle du CoM dans chacune de ces conditions. Ces fluctuations nous ont permis d'évaluer le travail mécanique réalisé et la puissance mécanique déployée lors de la locomotion avec transport de charge.

Matériels et méthodes

Espèce étudiée

Nous avons utilisé pour notre étude l'espèce *Formica rufa*. Les espèces du complexe taxonomique *Formica rufa* sont au cœur des dynamiques écologiques des forêts. Tant du fait de l'impact bénéfique qu'elles ont sur les sols (Adlung, 1963) et les flux de carbone (Domish, 2009), que du fait de l'impact positif qu'elles ont sur la croissance des arbres, *via* le mutualisme qu'elles entretiennent avec les pucerons producteurs de miellat (Way, 1963) et leur action de prédation sur de nombreux insectes phytophages ou xylophages (Finnegan, 1997). Les individus testés proviennent d'une colonie récoltée en octobre 2018, au col de Menté (coordonnées GPS: 42.921320, 0.761521, Haute-Garonne, France). La colonie a été conservée dans un vivarium en PVC (75x50x25cm) (L*I*h) dont les parois ont été enduites de Fluon. Elle était disposée dans une pièce maintenue dans des conditions d'humidité (30%) et de température (25°C) constantes avec une photopériode artificielle (lumière:obscurité) de 12h:12h. Dans le vivarium, les fourmis utilisent le matériel prélevé sur le dôme du nid

(brindilles, aiguilles de conifères) pour construire leur nid. Ce matériel était humidifié régulièrement et les fourmis étaient nourries avec un mélange d'eau et de miel placé dans des tubes et retenu par une boule de coton ainsi qu'avec des asticots de l'espèce *Musca domestica*.

Dispositif expérimental

Le dispositif utilisé pour nos expériences est un dispositif construit par la compagnie R&D Vision, (<http://www.rd-vision.com>). Il est composé d'une plateforme (31x1,6cm) recouverte de papier noir (Canson, 160g/m²) et de 5 caméras à haute fréquence d'acquisition (JAI GO-5000M-PMCL: fréquence: 250Hz; résolution: 30µm/px pour la caméra du dessus et 20µm/px pour les caméras latérales) (Fig.1A). Nous avons utilisé pour nos expériences seulement deux caméras sur les cinq, à savoir celle du dessus et une en vue latérale. La taille du champ de la caméra du dessus est de 5x1,6cm (L*h) et celle du champ de la caméra latérale 4,3x0,7cm (L*h). La plateforme sur laquelle se déplacent les fourmis est placée au centre du champ de chacune des deux caméras. La calibration des caméras pour convertir les pixels en millimètres a été réalisée grâce à une règle sur laquelle était collé du papier millimétré. Quatre spots infrarouges ($\lambda= 850\text{nm}$) synchronisés avec les caméras sont utilisés pour obtenir un meilleur contraste sur les images. Au bout de la plateforme d'enregistrement, du côté opposé au nid, un rond noir de 10cm de diamètre se détachant sur un fond blanc et pouvant servir de repère aux fourmis est fixé à une hauteur de 7cm au-dessus de la plate-forme.

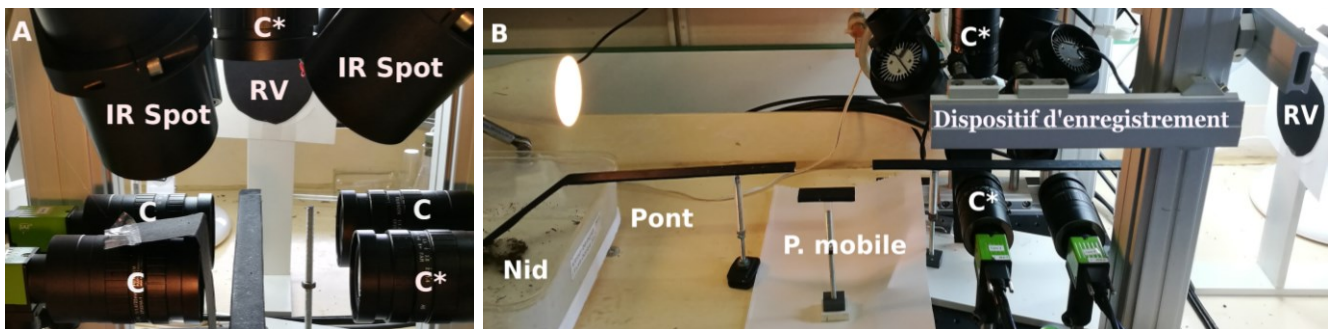


Fig.1. Dispositif d'enregistrement. (A) La zone d'enregistrement est entourée de cinq caméras (C). Les deux caméras utilisées sont celles notées C*. Les 4 spots IR sont dirigés vers la plateforme au bout de laquelle se trouve la source de nourriture N, placée en dessous du repère visuel (RV). (B) Le dispositif complet comportant le nid, le pont et la plateforme mobile utilisée comme un sas pour sélectionner les fourmis qui se dirigent vers le dispositif d'enregistrement.

Protocole expérimental

Une sous-colonie d'une cinquantaine d'individus est formée à partir de la colonie prélevée sur le terrain. Elle est placée avec un peu de matériel du nid dans une boîte (28,5x27,5x8cm) (L*1*h) dont les parois sont enduites de Fluon. Au début de l'expérience, un pont (43x1,6cm) (L*1) est placé dans la boîte qui abrite la sous-colonie en direction du dispositif. Une plateforme mobile (6x1,6cm) est placée au bout de ce pont et sert de connecteur vers la plateforme d'enregistrement (Fig.1B). Elle agit comme un sas et permet de laisser passer une seule fourmi vers le dispositif d'enregistrement. La première fourmi qui se présente sur la plateforme mobile est pesée (masse initiale) avec une balance de précision (Mettler Toledo MS105, précision: 0,01mg). Elle est ensuite marquée sur le gastre par un point blanc (Edding 750 blanc) et replacée sur la plateforme mobile. On lui donne alors accès à la plateforme d'enregistrement. Au bout de celle-ci, se trouve une lame porte-objet sur laquelle on dépose avec une pipette 50µl d'une solution d'eau sucrée à concentration 1 M. Le déplacement de la fourmi se dirigeant vers la source de nourriture est alors enregistré par les caméras (**condition non chargée**). Puis son déplacement au retour vers le nid après ingestion de l'eau sucrée est enregistré (**condition charge interne**). Lorsque la fourmi atteint la plateforme mobile, elle est prélevée, pesée et placée directement dans la boîte qui abrite la sous-colonie où elle peut alors distribuer à ses congénères, par trophallaxie, l'eau sucrée qu'elle a ingérée. Après avoir distribué le liquide ingéré, toutes les fourmis testées se sont présentées à nouveau sur la plate-forme mobile dans un délai inférieur à 20 minutes.

Le protocole décrit ci-dessus est réalisé trois fois successivement. On enregistre donc trois trajets aller en condition non chargée et trois trajets retour en condition charge interne. Lors de son quatrième et dernier trajet, nous remplaçons la source d'eau sucrée par des morceaux d'asticots (*Musca domestica*, masse des morceaux entre 2,20 et 7,05mg) que les fourmis doivent transporter vers le nid dans leurs mandibules (**condition charge externe**). Afin de comparer les conditions de transport, la masse des charges externes est du même ordre de grandeur que celle des charges internes (3,89 à 13,68mg).

A la fin de l'expérience, la fourmi est mise de côté pendant 30 minutes avant d'être pesée (masse fraîche). Elle est ensuite placée dans un tube en verre (diamètre : 1cm, longueur : 7cm) qui est plongé dans de la glace. Une fois la fourmi endormie celle-ci est disséquée sous une loupe binoculaire (Nikon SMZ 745T) afin de séparer les différents segments de son corps à savoir: la tête avec les antennes, le thorax avec le pétiote et les pattes et enfin le gastre. Chaque segment est découpé et pesé sur une lame porte-objet afin d'éviter les pertes de

liquide. Ces mesures nous permettent d'estimer la masse fraîche du gastre pour chacun des trois trajets réalisés en condition charge interne avant et après ingestion de liquide. Afin d'estimer la masse du gastre avant ingestion du liquide, nous soustrayons la masse de la tête et du thorax pesée à la fin de l'expérience après dissection à la masse totale de la fourmi mesurée au début de chaque trajet, avant que la fourmi ingère du liquide. La même opération est réalisée lorsque la fourmi revient vers le nid, ce qui nous permet d'estimer la masse du gastre après ingestion de liquide et donc la masse du liquide ingéré. Etant donné l'incertitude sur la quantité résiduelle de liquide dans l'abdomen au moment de la dissection, nous avons considéré la masse du thorax comme référence pour l'étude de la morphologie des fourmis, plutôt que celle de l'ensemble du corps.

Détermination et cinématique 3D du centre de masse

Au total, 40 individus ont été testés. Les individus conservés pour l'analyse doivent répondre à deux critères : (i) la fourmi doit effectuer au minimum deux foulées complètes lorsqu'elle traverse le champ des caméras. De façon arbitraire, une foulée commence lorsque la patte du milieu droite quitte le sol et se soulève et elle se termine lorsque cette même patte quitte le sol à nouveau (nombre moyen de foulée pour l'ensemble des fourmis testées = 3,72). (ii) la fourmi doit avoir une trajectoire suffisamment rectiligne. Ce paramètre est contrôlé par la mesure de la rectilinéarité de la trajectoire (distance réelle parcourue/distance en ligne droite entre le point de départ et d'arrivée). Une trajectoire est considérée comme rectiligne lorsque la valeur de la rectilinéarité est inférieure à 1,20 (moyenne de tous les trajets = 1,03).

Les enregistrements vidéos nous permettent de déterminer la position du centre de masse global (CoM) des fourmis. Pour déterminer la position de ce point, nous avons estimé la position du CoM des trois segments principaux de leur corps (tête et charge externe ou tête uniquement dans la condition non chargée et la condition charge interne, thorax et gastre). Pour cela, nous avons utilisé le logiciel Kinovea (version 0.8.15, <https://www.kinovea.org>) qui permet d'effectuer un suivi semi-automatique des points d'intérêt sur les vidéos (Fig.2). Sur la vue de la caméra du dessus, ces points correspondent à l'extrémité des mandibules, la base cou, du pétiole et l'extrémité du gastre (Fig.2A). Sur la vue de la caméra latérale, ces points correspondent à l'extrémité des mandibules, le haut de la tête, et aux points le plus haut et le plus bas du thorax et du gastre (Fig.2B). Lorsque la fourmi transporte une charge

externe, l'extrémité de celle-ci est ajoutée sur la vue dorsale (Fig.2C) et le point le plus haut et le plus bas de celle-ci sont suivis également sur la vue latérale (Fig.2D). La position de ces points permet de calculer la position du centre de gravité G_i de chaque segment. Avec la masse m_i de chaque segment, ceci nous permet de calculer la position G du CoM de la fourmi sur chaque image de la vidéo grâce à la formule du barycentre de masse :

$$\underline{OG^{\rightarrow}} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^3 m_i \underline{OG_i^{\rightarrow}}$$

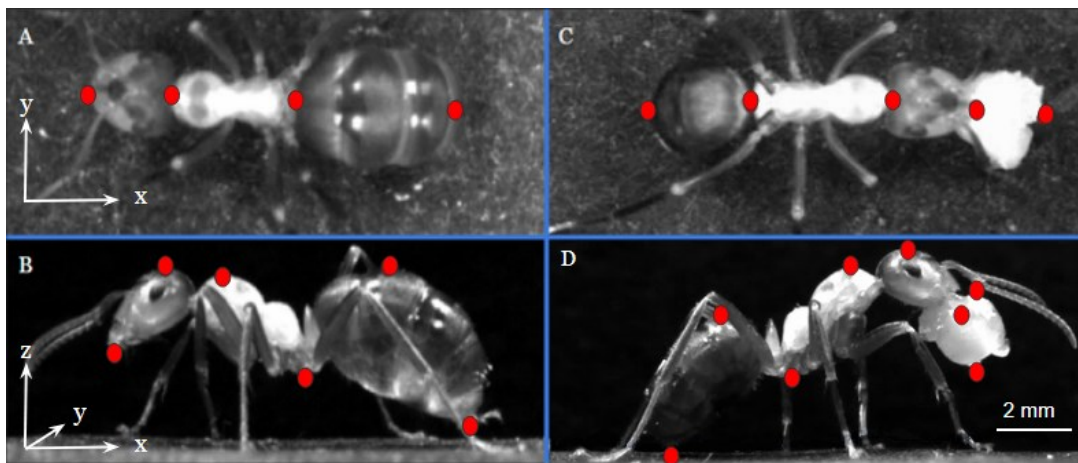
avec O l'origine du repère global dans le référentiel Galiléen. La position des pattes n'est pas prise en compte dans la détermination du centre de masse du thorax. La position verticale du CoM (axe z) de chaque segment est déterminée par le suivi effectué sur les enregistrements en vue latérale et sa position horizontale (axes x et y) est déterminée par le suivi effectué sur les enregistrements en vue dorsale. Sur chacun des axes, le centre de masse de chaque segment corporel se trouve à mi-distance des deux points suivis sur chaque segment. Le suivi des points d'intérêt nous permet également d'obtenir d'autres données, telles que la longueur de chacun des segments corporels des fourmis (projection de la longueur sur l'axe x, donnée par la vue dorsale, évitant les erreurs de parallaxe). La distance parcourue et la vitesse moyenne de déplacement ($\frac{\text{distance parcourue du CoM global}}{\text{durée du trajet}}$) des fourmis sont calculées à partir de la trajectoire de leur CoM global. La vitesse est normalisée par la longueur du thorax, calculée comme la moyenne des longueurs du thorax sur chaque image de tous les trajets réalisés par chaque fourmi (moyenne pour toutes les fourmis = $3,27 \pm 0,13$ mm). Nous avons également calculé l'angle d'inclinaison de l'axe du corps de la fourmi par rapport à l'horizontale lors de son déplacement. Celui-ci est donné par la moyenne des pentes de la droite de régression

linéaire calculée à partir des positions en x et en z du CoM de chaque segment corporel sur chaque image des vidéos réalisées dans chaque condition testée.

Fig.2. Suivi des points d'intérêt. Position des points d'intérêt suivis sur les vidéos pour les fourmis avec charge interne (A & B) et pour les fourmis portant une charge externe (C & D). Vue de dessus (A & C) et vue latérale (B & D). Orientations des axes x et y pour la vue de dessus et des axes x, y et z pour la vue latérale.

Travail mécanique du centre de masse

Pour estimer les performances locomotrices des fourmis, nous avons calculé le travail mécanique de leur centre de masse. Pour cela, nous avons d'abord calculé l'énergie mécanique comme la somme de l'énergie cinétique et potentielle. L'énergie cinétique (E_c) est calculée grâce à la formule $E_c = \frac{1}{2} mv(t)^2$ où m est la masse de la fourmi (mg) avec sa charge et v est la vitesse instantanée du CoM de la fourmi ($m \cdot s^{-1}$). L'énergie potentielle (E_p) est calculée grâce à la formule $E_p = mgz(t)$ où m est la masse de la fourmi avec sa charge (mg), g est l'accélération gravitationnelle ($9,806\ 65\ m \cdot s^{-2}$) et z la hauteur du CoM par rapport au sol à chaque pas de temps. L'énergie mécanique (E_m) correspond alors à la somme $E_m = E_p + E_c$. Enfin, nous calculons le travail mécanique externe (W_{ext}), c'est à dire l'énergie mécanique fournie par la force de poussée lorsque le corps de la fourmi se déplace d'un point à un autre, comme la somme des incréments positifs de l'énergie mécanique dans le plan sagittal en fonction du temps. Nous avons ensuite quantifié les transferts d'énergies au



CoM du corps des fourmis en utilisant la variable *Percentage Recovery* (PR) proposée par Cavagna *et al.* (1976) :

$$PR = \frac{W_{Ec} + W_{Ep} - W_{Em}}{W_{Ec} + W_{Ep}}$$

Ce paramètre reflète le comportement pendulaire du CoM d'un organisme en quantifiant la part d'énergie potentielle transformée en énergie cinétique. Plus la valeur du PR est élevée,

plus la part d'énergie potentielle transformée en énergie cinétique est importante, indiquant que la cinétique du CoM se rapproche du modèle du pendule inversé qui correspond à un optimum dans l'efficacité de la locomotion (Cavagna *et al.*, 1976). De plus, pour analyser le décalage de phase entre les variations d'énergie cinétique et potentielle, nous avons calculé la corrélation croisée entre les deux signaux grâce à la fonction *ccf* de R. Nous avons retenu ensuite le décalage temporel pour lequel la corrélation est maximale. Ce décalage est ensuite divisé par le nombre d'images dans une foulée et est rapporté comme une valeur en radians pouvant varier entre $-\pi$ et π .

Stepping Pattern

L'analyse du *stepping pattern*, n'a pu se faire que sur les enregistrements dans lesquels toutes les pattes des individus étaient visibles dans le champ de la caméra du dessus sur l'ensemble de la vidéo, soit $N_{vide} = 11$, $N_{interne} = 12$ et $N_{externe} = 5$ enregistrements. Pour chaque image de l'enregistrement, nous avons déterminé visuellement avec le logiciel ImageJ (version 2.0.0, <https://fiji.sc/>), l'état de chaque patte au cours de la locomotion (patte en phase d'appui sur le sol, patte en phase de balancement ou traînée) sur la vue latérale de la fourmi et enregistré la position spatiale (X,Y) du tarse de la patte pendant les phases d'appui sur la vue dorsale. Ces positions ont été exprimées dans un système de coordonnées centré sur le cou de la fourmi, l'axe x correspondant à l'axe longitudinal de son corps et l'axe y à l'axe transversal. Elles ont été ensuite normalisées par la longueur du thorax de la fourmi. Pour chaque patte, nous avons calculé la position relative moyenne lors du soulèvement (position extrême postérieure: PEP) et lors du contact avec le sol (position extrême antérieure: AEP) en calculant la moyenne des positions relatives de la patte par rapport aux foulées que nous avons filmées.

Nous avons étudié la coordination entre les pattes en calculant l'intervalle de temps écoulé entre le moment où chacune des pattes se soulève et le moment où la patte du milieu droite (R2) se soulève pour la dernière fois (Wahl *et al.*, 2015). Nous avons ensuite divisé la valeur de cet intervalle par le temps écoulé entre deux soulèvements successifs de R2. Cette valeur a été exprimée pour chaque patte sous la forme d'un angle de déphasage compris entre $-\pi$ et π . Le vecteur moyen de la distribution des angles de déphasages pour les différentes

conditions a ensuite été calculé en utilisant les statistiques circulaires (Batschelet, 1981). Des analyses complémentaires sont données en annexe du mémoire.

L'ensemble des données a été traité avec le logiciel R *Version 3.5.0* (R Core Team, 2019; <https://www.R-project.org/>) sous R studio *Version 1.2.1335* (RStudio Team, 2019; <https://www.rstudio.com/>). La majeure partie des graphiques sont générés à l'aide du package *ggplot2* (Wickham, 2016) et des packages associés (*gridExtra*, *ggpubr*, *ggExtra* et *scales*). La sélection de modèle selon le critère d'Akaike est réalisée avec le package MuMIn (Barton, 2018). Dans la partie résultats du mémoire, les estimations sont suivies de l'indication des valeurs des limites inférieures et supérieures de leur intervalle de confiance à 95%. L'intervalle de confiance du R^2 a été calculé à l'aide du package MBESS (Kelley, 2018).

Résultats

Le nombre de fourmis retenues pour les différents types d'analyses est donné en annexe du mémoire (Table.S1)

Comportement des fourmis lors du transport de charge

L'ingestion de liquide lors du transport d'une charge interne a pour effet d'augmenter le volume du gastre qui devient alors plus long ($Longueur\ du\ gastre = 2,21 [1,39 ; 3,03] + 0,79 [0,29 ; 1,28] * charge\ relative; F_{1,38} = 10,48; p = 0,003; R^2 = 0,20 [0,05 ; 0,42]$). Le calcul de la distance entre le CoM du thorax et le CoM global du corps sur l'axe x montre que l'écart entre les deux CoM augmente lors du transport de charge interne par rapport à la locomotion sans charge, ce qui signifie que le CoM global se déplace vers l'arrière du corps sous l'effet de l'augmentation du volume du gastre. ($écart\ CoM\ thorax-global\ avec\ charge\ interne = 0,81 [0,45 ; 1,17] - 1,80 [-1,30 ; -2,31] * écart\ CoM\ thorax-global\ sans\ charge; F_{1,78} = 50,14; p < 0,001; R^2 = 0,38 [0,12 ; 0,59]$). Ce décalage de 1,30 à 2,31mm lors du transport de charge interne représente en moyenne 16,10 à 28,70% de la longueur du corps de la fourmi qui se déplace sans charge.

Lors du transport de charge externe, on observe sur les vidéos que les fourmis changent de posture en se redressant sur leurs pattes (Fig.2D). Pour quantifier cela, nous avons calculé la position verticale du centre de masse du thorax ainsi que l'angle d'inclinaison de l'axe du corps de la fourmi par rapport au sol. L'analyse statistique confirme les observations et montre des différences dans la position verticale du CoM du thorax en fonction des conditions (Fig.3A, $F_{2,75} = 22,59$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,36$ [0,18; 0,52]). La position verticale du CoM du thorax est plus élevée lors du transport de charge externe (0,08 [0,06 ; 0,12]mm, $t = 6,033$; $p < 0,001$) que lors du déplacement sans charge, alors qu'elle ne varie pas par rapport au déplacement sans charge lors du transport de charge interne (0,007 [-0,020 ; 0,030]mm, $t = 0,451$; $p = 0,653$). L'angle d'inclinaison de l'axe du corps diffère également en fonction des conditions (Fig.3B, $F_{2,75} = 25,00$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,38$ [0,20; 0,54]). Si l'axe du corps des fourmis est légèrement plus incliné lorsqu'elles transportent une charge interne que lorsqu'elles se déplacent sans charge (3,42 [0,37 ; 6,45]°, $t = 2,240$ $p = 0,03$), l'effet est beaucoup plus important lorsqu'elles transportent une charge externe (10,56 [7,53 ; 13,60]°, $t = 6,928$; $p < 0,001$). Le transport de charge externe déplace également le centre de masse, mais vers l'avant du corps. En effet, le modèle statistique (*écart CoM thorax-global avec charge externe* = 0,81 [0,37 ; 1,24] - 1,83 [-1,15 ; -2,52] * *écart CoM thorax-global sans charge*; $F_{1,64} = 28,46$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,3$ [0,01 ; 0,56]). montre un décalage de 1,15 à 2,52mm lors du transport de charge externe, ce qui représente 14,25 à 31,32% de la longueur du corps

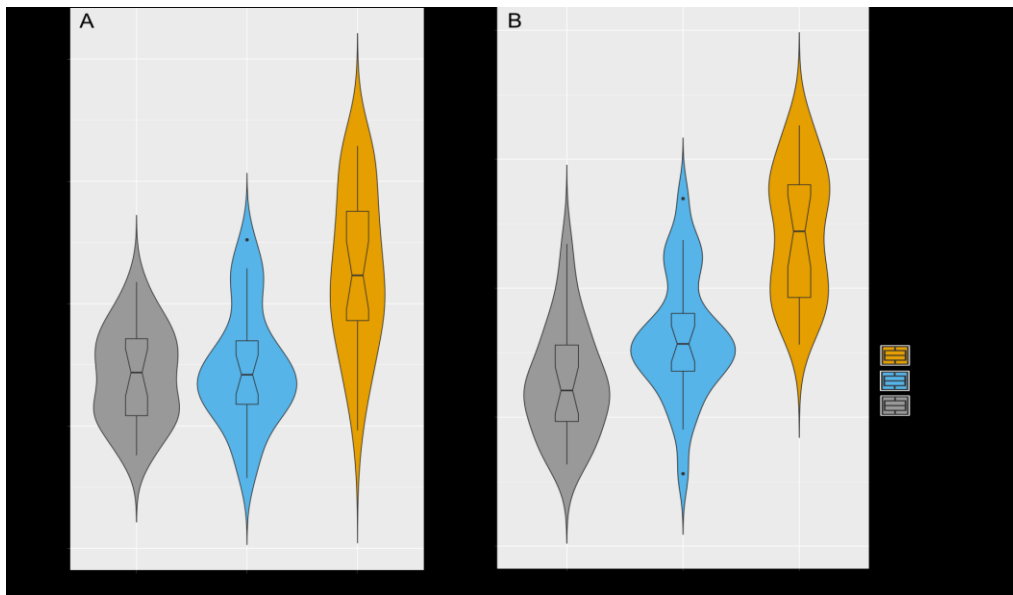


Fig.3. Changement de posture lors des conditions expérimentales. (A) Position verticale du CoM du thorax. (B) Angle d'inclinaison entre l'axe du corps et la surface du sol, exprimé en degrés. La densité de probabilité des valeurs pour chaque condition est représentée sous forme de *violin plot* et sa distribution sous forme de boîte à moustache. Les points noirs représentent les valeurs extrêmes, les barres noires verticales s'étendent jusqu'à 1,5 fois la valeur de l'interquartile. La médiane est représentée par le trait horizontal noir épais à l'intérieur de la boîte, les limites inférieures et supérieures de la boîte représentent le 2ème et 3ème quartile respectivement. Les indentations sur les côtés de la boîte montrent l'intervalle de confiance de la médiane. ($N = 26$).

de la fourmi qui se déplace sans charge. Le transport de charge, qu'elle soit interne ou externe induit également une réduction significative de la longueur des foulées ($F_{2,75} = 9,47$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,18$ [0,04 ; 0,34]) La longueur normalisée d'une foulée (unité de longueur de thorax. s^{-1}) diminue de -0,11 à -0,58 et de -0,27 à -0,74 unités de longueur de thorax. s^{-1} pour le transport de charge interne ($t = -2,949$; $p = 0,004$) et externe ($t = -4,245$; $p < 0,001$), respectivement.

Etude cinématique

Nous avons d'abord examiné l'effet des différentes conditions expérimentales sur la vitesse de déplacement des individus. La vitesse des fourmis est susceptible de varier en fonction de la masse des individus, de la condition testée (sans charge, charge interne et charge externe) et de la masse de la charge transportée par la fourmi. Pour examiner l'impact respectif de chacun de ces paramètres nous avons utilisé la méthode de sélection de modèle par critère d'Akaike (Burnham & Anderson, 2002). L'ensemble des modèles testés est indiqué sur la

Table 1. Deux modèles ont des $\Delta AICc < 4$ et sont donc tous deux susceptibles d'expliquer aussi bien

Table.1. Modèles testés pour expliquer les variations de vitesse des fourmis

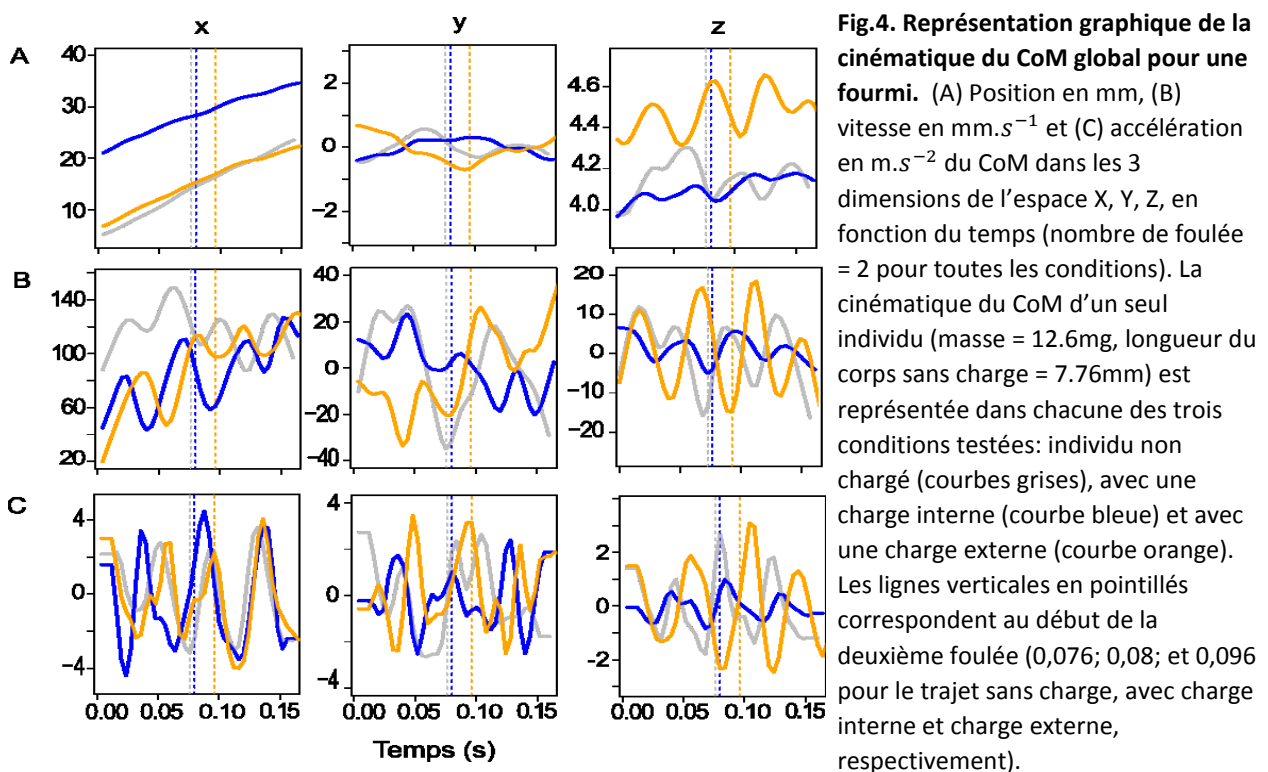
Modèles statistiques	Variables explicatives				AICc	$\Delta AICc$	Poids d'Akaike
	Masse thorax	Condition expérimentales testée	Charge relative	Interaction condition et charge relative			
3	×	×			532,5	0	0,62
4	×	×	×		533,7	1,19	0,34
5	×	×	×	×	538,1	5,64	0,04
2	×		×		546,6	14,13	0,00
1	×				549,0	16,56	0,00

$N=26$ pour chacun des modèles testés. Les modèles sont ordonnés par valeur d'AICc croissante. Le symbole × correspond aux variables explicatives présentes dans le modèle.

les variations de vitesse des fourmis. Le premier modèle comprend les variables masse fraîche du thorax de la fourmi et type de charge transportée et explique une proportion faible mais significative de la variance de la vitesse ($F_{3,74} = 7,65; p < 0,001; R^2 = 0,21 [0,06 ; 0,36]$). Le deuxième modèle qui tient compte également de la charge relative explique lui aussi une proportion faible de la variance de la vitesse ($F_{4,73} = 6,019; p < 0,001; R^2 = 0,21 [0,06 ; 0,36]$). Le premier modèle montre que la vitesse est significativement plus importante chez les individus non chargés (Fig.S2; 7,21 à 35,72 unités de longueur de thorax. s^{-1}) que chez les individus transportant une charge interne (4,59 à 29,50 unités de longueur de thorax. s^{-1} ; $t = -3,351; p < 0,001$) ou externe (4,94 à 27,85 unités de longueur de thorax. s^{-1} ; $t = -4,640; p < 0,001$). La vitesse diminue en moyenne de -6,54 [-2,65 ; -10,46] et de -9,05 [-5,16 ; -12,94] unités de longueur de thorax. s^{-1} lorsque le transport de charge se fait en interne et en externe, respectivement. Il n'y a pas de différence significative entre les

conditions charge interne et charge externe ($t = 1,289$; $p = 0,20$). Les fourmis se déplacent donc moins vite lorsqu'elles transportent une charge.

La Figure 4 montre un exemple de variation de la position, de la vitesse et de l'accélération du CoM global d'une fourmi dans les trois dimensions de l'espace. La trajectoire du CoM sur l'axe antéro-postérieur (axe x), relativement rectiligne, indique que la fourmi avance sans marquer d'arrêts prolongés sur la plateforme d'enregistrement dans les trois conditions (Fig.4A). Dans la direction latérale, le CoM oscille autour de zéro, ce qui



indique que la fourmi ne dévie pas de son axe, en accord avec les résultats sur la mesure de la rectilinéarité présentés ci-dessus. La position verticale du CoM montre des oscillations avec des amplitudes qui peuvent être relativement importantes selon les conditions de transport. Les oscillations de la position du CoM sur l'axe z sont de très forte amplitude lors du transport de charge externe, d'amplitude plus faible lorsque les fourmis ne sont pas chargées et très faibles lorsqu'elles portent une charge interne. La position verticale du CoM est plus élevée lors du transport de charge externe que lors du transport de charge interne ou de la locomotion sans charge, ce qui est conforme aux résultats de la Figure 3A. La vitesse en x

confirme les diminutions observées Figure S2, pour les deux conditions avec charge (Fig.4B), avec une légère augmentation au cours du temps. Une augmentation de la vitesse en z est reliée au travail musculaire réalisé par la fourmi alors qu'une diminution, est liée au travail de la gravité. On observe des oscillations importantes de la vitesse et de l'accélération lors du transport de charge externe. Ces variations d'amplitude sont moins importantes pour les fourmis se déplaçant sans charge et sont encore plus faibles pour la condition charge interne.

La méthode des corrélations croisées nous permet d'estimer le décalage de phase entre les variations de l'énergie cinétique et potentielle. Pour chaque condition on constate que l'énergie cinétique et potentielle sont plutôt en phase, la plupart des valeurs se situant entre

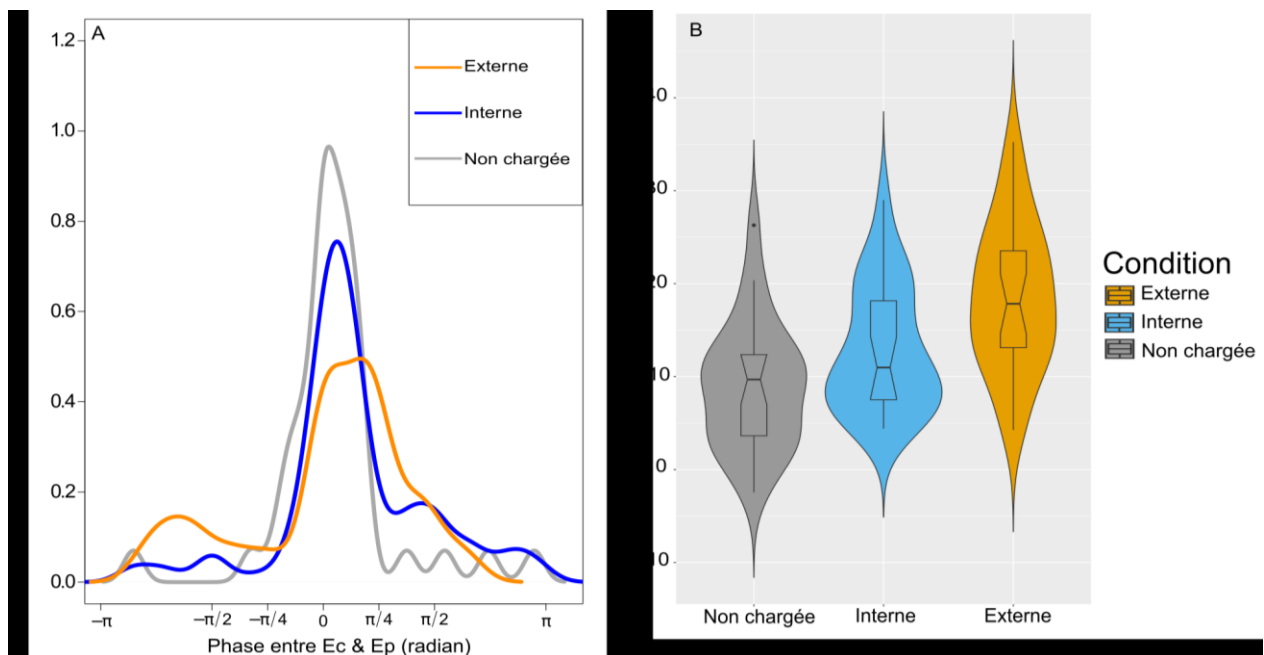


Fig.5. Décalage de phase entre les variations d'énergie cinétique et potentielle. (A) La densité de probabilité de la distribution des valeurs du décalage de phase correspondant à la valeur maximale du coefficient de corrélation croisée entre énergie cinétique (E_c) et potentielle (E_p) est représentée pour les différentes conditions de transport. Ces valeurs sont ajustées à une échelle en radians et exprimées entre $-\pi$ et π . (B) Le PR indique la proportion d'énergie potentielle transformée en énergie cinétique. Voir Figure 3 pour des explications sur le type de représentation utilisé. ($N = 26$).

$-\pi/4$ et $+\pi/4$ (Fig.5A). Des valeurs de décalage proches de $-\pi$ et π indiquent également des énergies en phase, mais sur le second pas, une foulée étant composée de deux pas. Les

valeurs de décalage autour de $-\pi/2$ ou de $+\pi/2$ indiquent des variations d'énergie en opposition de phase, ce qui semble se produire plus fréquemment lorsque les fourmis se déplacent avec une charge. En comparant la distribution des valeurs de décalages, il apparaît que si le décalage dans les variations d'énergie est du même ordre pour les fourmis se déplaçant sans charge ou avec une charge interne (Kolmogorov-Smirnov: $D = 0,05$; $p = 0,47$), il est différent entre les fourmis se déplaçant sans charge ou avec une charge interne et avec une charge externe (Kolmogorov-Smirnov: $D = 0,09$; $p = 0,02$ et $D = 0,14$; $p < 0,001$). En condition de transport de charge externe on observe en effet plus de valeurs de décalage proches des valeurs $-\pi/2$ et $\pi/2$. Les valeurs de PR sont différentes en fonction des conditions testées (Fig.5B, $F_{2,75} = 11,72$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,22$ [0,08; 0,40]) : les échanges d'énergie sont plus importants lors du transport de charge externe avec une augmentation moyenne du PR de 9,5 [5,6 ; 13,5]% ($t = 4,817$; $p < 0,001$) par rapport à la condition non chargée. Par contre, on n'observe pas d'augmentation significative du PR lors du transport de charge interne ($t = 1,985$, $p = 0,06$). Le PR augmente de 5,6 [1,7 ; 9,5]% ($t = 2,832$, $p = 0,005$) lors du transport de charge externe par rapport au transport de charge interne. Le PR plus élevé en condition de transport de charge externe s'explique par le fait que quelques individus présentent une opposition de phase entre l'Ec et l'Ep dans leur locomotion. Ces individus ne sont pas différents des autres individus en ce qui concerne leur vitesse (différence entre individus présentant une opposition de phase entre EC et EP et les autres individus : $\Delta = 0,15$ [-1,82 ; 2,14] unités de longueur de thorax. s^{-1}), leur charge relative ($\Delta = 0,05$ [-0,04 ; 0,14]), l'angle d'inclinaison de l'axe de leur corps ($\Delta = 0,003$ [-0,27 ; 2,28] $^\circ$) ou la masse de leur thorax ($\Delta = 0,14$ [-0,26 ; 0,54]mg).

Le travail mécanique réalisé et la puissance mécanique déployée sont ramenés à la distance car les fourmis ne parcourent pas la même distance sur chaque enregistrement. Le travail mécanique est représenté Figure S3A. Ce travail mécanique est susceptible de varier avec la taille des fourmis ainsi qu'avec le type et la masse de la charge qu'elles transportent. L'impact de ces différentes variables a été testé avec un modèle statistique (Table.2). La masse des individus a un effet sur le travail mécanique réalisé ($t = 2,673$; $p = 0,009$), en revanche, le modèle ne montre pas d'effet de la masse de la charge sur le travail mécanique ($t = 1,217$; $p = 0,22$). On ne trouve aucune différence significative entre la condition sans

charge et les conditions de transport de charge interne ($t = -1,627$; $p = 0,10$) et de charge externe ($t = -0,051$; $p = 0,95$). Pour des valeurs de taille de fourmi et de masse de la charge correspondant à la médiane de notre échantillon (masse thorax = 4,57mg; masse charge = 4,225mg), le travail mécanique réalisé par une fourmi portant une charge interne montre une tendance à la diminution (diminution moyenne de 41 [9,37 ; 92,61]%) par rapport au travail mécanique

Table.2. Modèles linéaires généralisés utilisés pour tester l'impact de différentes variables sur le travail mécanique et la puissance mécanique.

Modèle	Variables explicatives retenues	Résultats du modèle
$\frac{\text{Travail mécanique}}{\text{Distance parcourue}}$	masse thorax + masse charge + condition testée	$F_{4,73} = 4,142$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,14$ [0,02; 0,29]
$\frac{\text{Puissance mécanique}}{\text{Distance parcourue}}$	masse thorax + masse charge + condition testée	$F_{4,73} = 1,455$; $p = 0,22$; $R^2 = 0,02$ [0,0; 0,11]

$N = 26$ pour chacun des modèles testés.

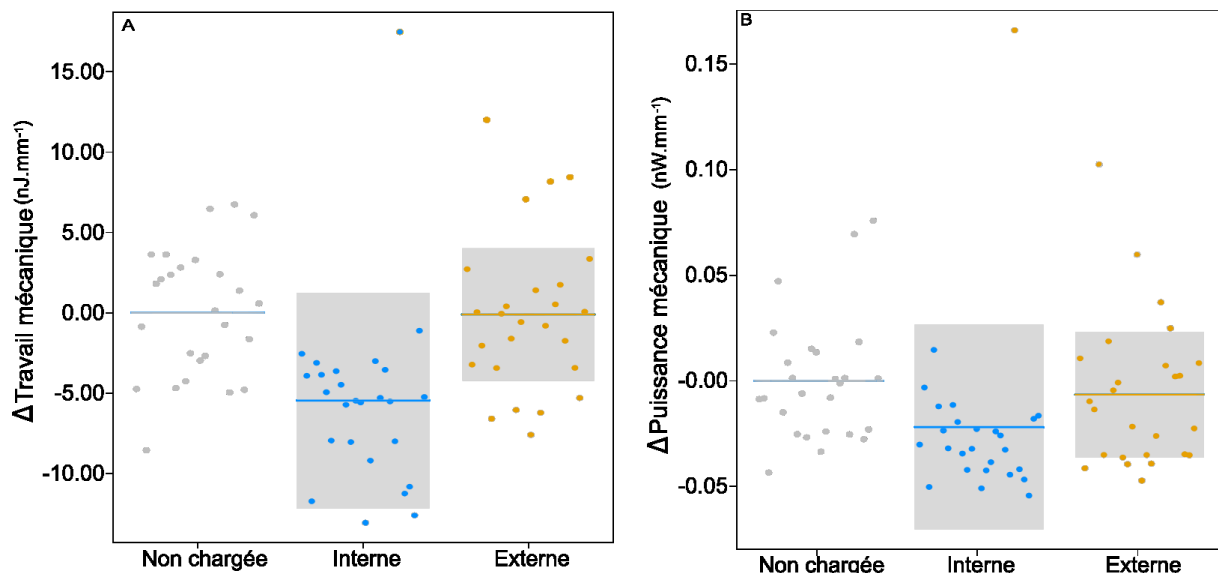


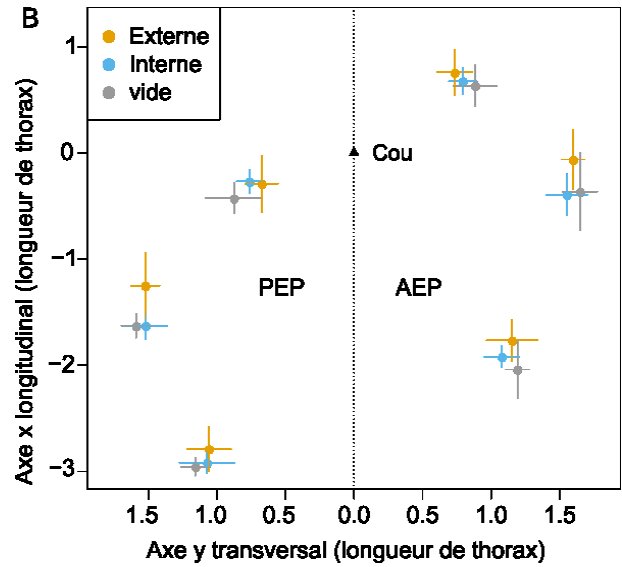
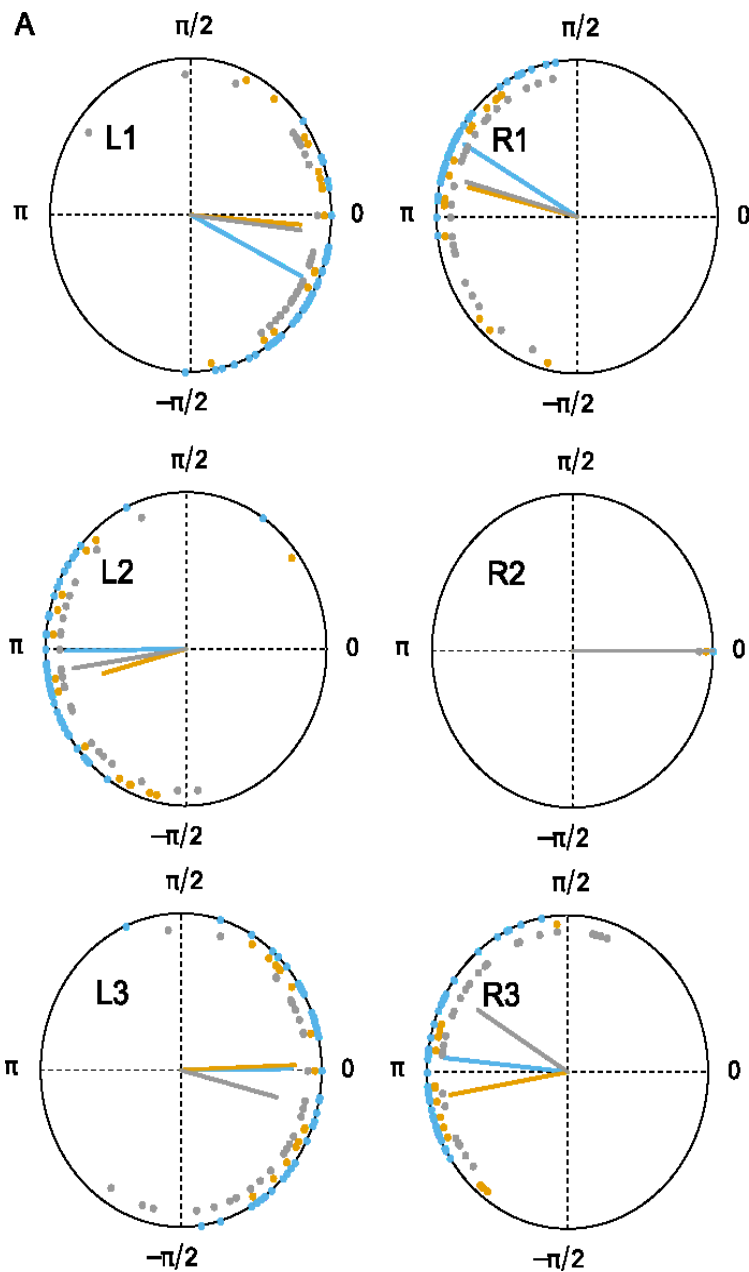
Fig.6. Travail mécanique réalisé et puissance mécanique déployée. Différences dans le travail mécanique réalisé (A) et dans la puissance mécanique déployée (B) par les fourmis lors du transport de charge interne ou externe par rapport à la condition non chargée. Les différences sont calculées pour la valeur médiane de la masse du thorax (4,57mg) et de la masse de la charge (4,225mg). Les conditions non chargée, interne et externe sont représentées en gris, bleu et orange, respectivement. La zone grisée représente l'intervalle de confiance à 95%. ($N = 26$).

réalisé par une fourmi ne transportant aucune charge (Fig.6A). La puissance mécanique déployée par les fourmis ramenée à la distance (Fig.S3B), est susceptible de varier avec leur taille, le type de charge qu'elle transporte et la masse de la charge. Aucune différence significative n'apparaît entre les conditions expérimentales testées et aucun effet significatif de la taille des fourmis et de la masse de la charge qu'elles transportent n'est montré par le modèle (Fig.6B). Pour des valeurs de taille de fourmi et de distance parcourue correspondant à la médiane de notre échantillon (masse thorax = 4,57mg; masse charge = 4,225mg) le modèle statistique indique une diminution moyenne de la puissance mécanique de 61,28%. Cependant, l'intervalle de confiance de la taille d'effet est très large [-20,60 ; 196,89]% et montre que la puissance mécanique déployée peut tout aussi bien augmenter légèrement.

Stepping pattern

Pour les fourmis chargées en interne, on observe un déphasage dans le schéma de coordination entre les pattes : les pattes antérieures (L1 et R1) se soulèvent avant les autres pattes (Fig.7A). Les pattes de chaque tripode ont tendance à se soulever dans l'ordre antérieur -> postérieur -> milieu. A l'inverse, lors de la condition sans charge, les pattes postérieures (L3 et R3) se soulèvent avant les autres et les pattes d'un même tripode se soulèvent suivant l'ordre postérieur -> antérieur -> milieu. Cependant ces résultats doivent être considérés avec

Fig.7. Stepping pattern. (A) Diagramme montrant pour chacune des pattes et pour les trois conditions testées le décalage temporel dans le soulèvement des pattes par rapport au moment où la patte du milieu droite (R2) se soulève. Le décalage temporel, exprimé en radians, est calculé par rapport au temps écoulé entre deux soulèvements successifs de la patte R2. Les points représentent le décalage observé pour chaque individu. Le trait partant du centre du cercle correspond pour chaque condition au vecteur moyen de la distribution circulaire. Son orientation indique l'angle moyen et sa longueur la dispersion de la distribution autour de l'angle moyen. (B) Position moyenne des pattes antérieures, médianes et postérieures par rapport au cou au moment du soulèvement (PEP) et du contact avec le sol (AEP), représentée avec l'écart type pour les trois



conditions expérimentales testées. Les distances sont exprimées en longueur de thorax. ($N_{vide} = 11$; $N_{interne} = 12$; $N_{externe} = 5$).

prudence car, on constate sur le diagramme de phase (Fig.7A) une grande dispersion pour les conditions non chargées et charge externe. La position des pattes par rapport au corps, le long des axes transversal et longitudinal, ne semble pas être perturbée par le transport de charge (Fig.7B). De plus, la position des pattes par rapport au corps est peu différente entre le moment où les pattes

se lèvent (PEP) et le moment où elles touchent le sol (AEP). Les pattes médianes des individus dans la condition de transport externe semblent être positionnées légèrement plus en avant sur l'axe x au moment où la patte quitte le sol. L'analyse de l'index *Tripod Coordination Strength* (TCS : voir explications annexe et Fig.S4A), qui donne une idée de la façon dont la coordination entre les pattes se rapproche d'une locomotion idéale en tripode alterné, montre que les pattes sont moins coordonnées lors des deux conditions de transport de charge. Ceci est en lien avec le nombre moyen de pattes en contact avec le sol, qui augmente lors du transport de charge (Fig.S4B). Ces résultats sont également illustrés en annexe par les podogrammes (Fig.S5) observés pour les trois conditions pour une même

fourmi. L'analyse de la marge de stabilité statique (SSM, voir explication en annexe et Fig.S7) montre que les fourmis transportant une charge interne ne sont jamais en état d'instabilité statique (Fig.S7B & D), contrairement à la locomotion sans charge (Fig.S7C & D), ou au transport de charge externe (Fig.S7A & D).

Discussion

Nos résultats semblent montrer que la locomotion lors du transport de charge interne est plus économique pour la fourmi. On observe en effet une tendance à la diminution du travail mécanique réalisé lorsque les fourmis transportent une charge interne, alors que ce travail est à peu près le même lorsque les fourmis se déplacent sans charge ou avec une charge externe. De plus, la puissance mécanique déployée par les fourmis pourrait être également plus faible lors du transport d'une charge interne par rapport au déplacement sans charge. Enfin, quelle que soit la condition testée, la locomotion des fourmis n'est pas conforme au modèle du pendule inversé.

Comportement des fourmis lors du transport de charge

Lors du transport de charge interne, l'eau sucrée stockée dans le gastre a pour effet de dilater la membrane située entre les tergites et les sternites (Fig.2) ce qui provoque un allongement du gastre sur l'axe antéro-postérieur. Ceci a pour effet de décaler le centre de masse global des individus de 16,10 à 28,7% de la longueur du corps de la fourmi vers l'arrière. Par contre, aucun changement de posture n'est observé lors du transport de charge interne alors qu'un tel changement est observé lors du transport de charge externe (Fig.2; Fig.3A & B). Dans cette dernière condition la position verticale du CoM du thorax est plus élevée (Fig.3A) et la fourmi se redresse sur ses pattes avant, ce qui augmente l'inclinaison de l'axe de son corps par rapport au sol de 7,53 à 13,60°. La charge est donc transportée loin du sol sans induire de frottements. De plus le CoM de la fourmi est déplacé cette fois ci de 14,25 à 31,32 % de la longueur de son corps vers l'avant. La fourmi adapte donc son comportement locomoteur lors du transport de charge externe par le biais de modifications posturales. On retrouve des modifications posturales lors du transport de charge externe chez la fourmi coupeuse de feuilles *Atta vollenweideri*. Les ouvrières de cette espèce redressent légèrement leur tête vers l'arrière pour compenser le déséquilibre induit par le brin d'herbe qu'elles transportent

verticalement. Ceci permet de réduire le déplacement du CoM et de maintenir la stabilité de la locomotion (Moll *et al.*, 2010). Le changement de posture que nous avons observé chez *Formica rufa* pourrait permettre, de la même façon, de compenser les perturbations exercées par la charge externe.

Etude cinématique

Le transport d'une charge, qu'elle soit interne ou externe, modifie la cinématique du centre de masse des fourmis. Lorsque les fourmis sont chargées, on constate une diminution de leur vitesse de déplacement. Cette diminution est du même ordre entre les deux conditions de transport (Fig.S2 & 4B) et n'est pas liée à des arrêts au cours de la locomotion. Une telle diminution de la vitesse de déplacement a déjà été observée lors du transport de charge externe chez *Rhytidoponera aurata* (Nielsen, 2001), ou chez *Atta vollenweideri* (Röschard & Roces, 2002; Moll *et al.*, 2010, 2013) mais n'a en revanche pas été observée lors du transport de charge interne chez *Lasius niger* (Mailleux *et al.*, 2000). Il est possible que chez *Lasius niger* la piste chimique déposée par les ouvrières agisse comme un stimulus qui augmente leur motivation à retourner au nid, ce qui aurait pour effet de maintenir une vitesse de déplacement du même ordre que celle observée en absence de charge. Or, lors de nos expériences, les fourmis testées ne se déplaçaient pas le long d'une piste chimique. D'un point de vue biomécanique, le déplacement du centre de masse vers l'avant ou vers l'arrière du corps et/ou l'augmentation de la masse globale à déplacer a pour effet de prolonger le contact des pattes de la fourmi avec le sol ce qui augmente automatiquement le nombre de patte posées au sol (Fig.S4B) et réduit sa vitesse de déplacement (Zollikofer, 1994).

Parmi les deux modèles statistiques possibles pouvant expliquer les variations de vitesse, le modèle qui prend en compte uniquement le type de charge a un poids d'Akaike supérieur à celui qui prend en compte à la fois le type de charge et la masse relative de celle-ci (Table.1). Il est possible que la masse relative des charges transportées ne soit pas assez importante pour impacter de façon claire la vitesse de déplacement. Les charges transportées, qu'elles soient internes ou externes, représentent en effet une masse relative peu importante pour les fourmis (<1 fois la masse de leur corps). Cependant, il était difficile expérimentalement de faire varier la masse relative de ces charges. On aurait pu le faire lors du transport interne en augmentant la molarité de la solution de sucre offerte aux fourmis

mais cela aurait aussi augmenté sa viscosité, rendant son ingestion difficile pour les fourmis (Detrain & Prieur, 2014). En ce qui concerne les charges externes, il était difficile de faire transporter aux fourmis des charges de masse importante car elles ne présentaient pas toujours un grand intérêt pour les morceaux d'asticots qu'on leur offrait.

Nos résultats montrent que la cinématique du centre de masse est très différente entre le transport de charge interne et externe. Lors du transport de charge interne la position verticale du CoM de la fourmi oscille faiblement et est proche du sol (Fig.4A) avec des variations de vitesse (Fig.4B) et d'accélération (Fig.4C) plus faibles que lors du transport de charge externe. Les oscillations de moindre amplitude de la position verticale du CoM lors du transport d'une charge interne suggère une démarche plus régulière. Une position du corps plus proche du sol peut apporter plus de facilité à tirer le gastre rempli de liquide. Le transport de charge externe entraîne au contraire une démarche plus saccadée avec des phases d'accélération et de décélération du CoM sur l'axe z de grandes amplitudes (Fig.4B & C). Les phases de décélération correspondent au moment où les pattes du premier tripode arrivent au sol avant que les pattes du second tripode se soulèvent (Reinhardt & Blickhan, 2014). Il est possible que le fait que la fourmi se dresse sur ses pattes avant lorsqu'elle transporte une charge externe (Fig.2 & 3B) perturbe le tripode alterné et contraigne la fourmi à se déplacer de manière saccadée, contrairement à ce qui se passe lors du transport de charge interne où la fourmi tire simplement vers l'avant la charge présente dans son gastre. L'analyse du *stepping pattern* montre en effet que la marche en tripode alterné est plus dégradée lorsque les fourmis transportent une charge externe que lorsqu'elles transportent une charge interne ou qu'elles se déplacent sans charge (Fig.S4A & S5).

Les variations d'énergie cinétique et potentielle lors de la locomotion des fourmis sont plutôt en phase, ce qui explique que les échanges d'énergies soient peu importants (PR = 10,3; 13,5 et 18,5% pour la condition sans charge, interne et externe, respectivement). Ces résultats ne sont pas conformes à ceux attendus si la locomotion des fourmis suivait le modèle du pendule inversé caractéristique de la marche (Cavagna *et al.*, 1976, 1977). Ils se rapprochent par contre des observations faites dans d'autres études sur la locomotion des hexapodes où des faibles valeurs de PR ont été trouvées conduisant les auteurs à rejeter le modèle du pendule inversé (voir par exemple : *Periplaneta americana* : Full & Tu, 1991 ; *Formica polyctena* : Reinhardt & Blickhan, 2014). Ces résultats vont dans le sens du schéma locomoteur "*grounded running*" proposé par Reinhardt et Blickhan (2014).

Lors du transport de charge externe, on observe des échanges d'énergie plus importants pour certains individus (Fig.5A & B). Cependant ces individus ne transportent pas des charges plus importantes ou n'ont pas des vitesses de déplacement plus élevées que les autres individus. Il est possible que la perturbation exercée par la charge externe induise une variabilité plus importante dans la cinématique du CoM, ne se résumant pas à un seul comportement locomoteur spécifique.

Sur le plan biomécanique, le transport de charge interne pourrait être la locomotion la plus économique. Toutes choses étant égales par ailleurs, le travail mécanique réalisé lors de la locomotion a en effet tendance à être moins important lors du transport de charge interne que dans les deux autres conditions (Fig.6A & S3A). Cependant, nous ne sommes pas capables de quantifier précisément cette diminution. Elle pourrait être liée à la cinématique tridimensionnelle du CoM des individus qui est caractérisée par des oscillations verticales de faibles amplitudes lors du transport de charge interne (Fig.4). En effet, lorsque la vitesse du CoM augmente sur l'axe z, cela correspond au travail musculaire et lorsqu'elle diminue cela correspond au travail de la gravité. Dans le cas des fourmis transportant une charge interne, il y a peu d'augmentation de la vitesse sur l'axe z, ce qui signifie qu'un travail musculaire moindre est réalisé et donc que le travail mécanique est moins important. Les variations d'énergie mécanique sont donc faibles et les incréments positifs de celle-ci également. Il en découle un travail mécanique moins important. Nous faisons l'hypothèse que les pressions de sélection s'exerçant sur la locomotion pouvant se traduire par des modifications dans la morphologie et l'anatomie des fourmis pourraient être plus importantes lorsque les individus transportent des charges internes que lorsqu'ils n'en transportent pas ou qu'ils transportent des charges externes. En effet, la sous-famille des Formicinae à laquelle appartient le genre *Formica* se caractérise par l'existence d'un jabot social qui permet le transport de charge interne et le partage de la nourriture ingérée avec les congénères (Hölldobler & Wilson, 1990). Un tel organe n'existe pas dans la sous-famille des Ponerinae chez lesquelles le transport de liquide se fait entre les mandibules (Hölldobler & Wilson, 1990). Il est donc particulièrement important que la locomotion lors du transport de charge interne soit optimisée.

En ce qui concerne la puissance mécanique, la tendance à la diminution observée dans le travail mécanique réalisé lors du transport de charge interne est moins évidente.

Ceci montre *a minima* que le transport de charge n'entraîne pas d'augmentation de la puissance mécanique déployée. La puissance mécanique déployée étant liée à la puissance musculaire, elle-même liée à la consommation d'énergie, on pourrait donc penser qu'il est aussi coûteux, ou peut-être même moins coûteux, pour une fourmi de se déplacer avec une charge que de se déplacer sans charge. Cependant, il faut être prudent avec ce type d'interprétation car nous n'avons aucune idée de la relation qu'il peut y avoir chez la fourmi entre la puissance mécanique déployée durant la locomotion et la puissance des muscles qui participent à cette locomotion. La puissance d'un muscle est fonction de l'énergie métabolique qu'il consomme. Or, certaines études de respirométrie sur les fourmis montrent que le coût métabolique de la locomotion par unité de masse transportée (corps + charge) lors du transport d'une charge externe est du même ordre que celui de la locomotion sans charge (*Pogonomyrmex rugosus* : Lighton *et al.*, 1993; *Rhytidoponera aurata* : Nielsen, 2001) voire inférieur dans le cas d'une charge interne (*Camponotus rufipes* : Schilman & Roces, 2005), ce qui irait dans le même sens que les résultats que nous avons obtenus pour la puissance mécanique.

Stepping pattern

Le diagramme de phase montre que lors du transport de charge interne, les pattes antérieures se soulèvent les premières (Fig.7A). Les données sur la locomotion sans charge et sur le transport de charge externe sont moins robustes en raison du faible nombre d'individus analysés et de la grande dispersion des données. Pour expliquer l'observation faite sur les pattes antérieures lors du transport de charge interne, nous avons calculé la marge de stabilité statique (SSM) des individus lors de la locomotion (Fig.S6 & S7). En raison du décalage du CoM vers l'arrière du corps, les fourmis ne se trouvent jamais en instabilité statique lors du transport d'une charge interne (Fig.S7D), contrairement ce qui se passe lorsqu'elles transportent une charge externe où le CoM est déplacé vers l'avant. En effet, le CoM des fourmis qui transportent une charge interne reste toujours à l'intérieur du polygone de support pendant la locomotion. La fourmi peut donc soulever ses pattes avant plus tôt, sans être déséquilibrée. Cette stabilité est en lien avec les faibles oscillations du CoM des individus lors du transport de charge interne (Fig.4). Les fourmis pourraient aussi

poser leurs pattes avant plus tôt ce qui leur permettrait de s'accrocher pour tirer leur gastre contenant la charge interne.

A l'inverse, le transport d'une charge externe déplace le CoM vers l'avant, près du bord antérieur du polygone de support, voire en dehors de celui-ci (Moll *et al.*, 2013). Dans le cas des fourmis coupeuses de feuille étudiées par Moll *et al.* (2013), les ouvrières peuvent réduire cet effet en modifiant la façon dont elles portent leur charge, ce qui a pour effet de déplacer leur CoM vers l'arrière (Moll *et al.*, 2010). Il est possible que le changement de posture observé lors du transport de charge externe chez *Formica* ait également pour effet de réduire le déplacement du CoM vers l'avant. Lors du transport de charge externe, les pattes médianes montrent une légère tendance à être plus en avant sur l'axe longitudinal au moment où elles se soulèvent (Fig.7B; PEP). Ceci, couplé avec le fait que la fourmi est dans une position plus haute par rapport au sol (Fig.3A), pourrait alors l'aider à mieux maintenir son équilibre. On ne peut pas exclure non plus que l'équilibre puisse être maintenu grâce à la stabilité dynamique (Koditschek *et al.*, 2004).

Pour aller plus loin, il serait intéressant de mesurer les forces de réaction au sol (Ground Reaction Forces) des pattes pour les différentes conditions testées grâce à des plateformes de force miniatures (Reinhardt *et al.*, 2009; Reinhardt & Blickhan 2014). Cela permettrait de savoir comment le tripode de la fourmi est utilisé pour la propulsion lors de la locomotion. Reinhardt et Blickhan (2014) ont montré chez *Formica polyctena* lors de la locomotion que les pattes postérieures sont utilisées pour générer les forces de propulsion alors que chez *Cataglyphis fortis* il semble que cela soit plutôt les pattes médianes (Wöhrl *et al.*, 2017). À notre connaissance, aucune étude n'a encore mesuré les forces de réaction au sol chez les fourmis chargées.

Conclusion

Nous avons montré dans cette étude que les ouvrières de l'espèce *Formica rufa* adoptent un comportement locomoteur différent en fonction du type de charge qu'elles transportent. De manière générale, cette locomotion s'éloigne du modèle du pendule inversé, et se rapproche du schéma locomoteur appelé "*grounded running*" proposés par Reinhardt et Blickhan (2014). Plus particulièrement, les fourmis adoptent une posture spécifique et

présentent une cinématique de leur centre de masse différente selon qu'elles transportent une charge interne ou externe. Le transport d'une charge interne pourrait être plus économique pour la fourmi que le transport d'une charge externe ou une locomotion sans charge. D'un point de vue évolutif, la morphologie des ouvrières de *Formica* pourrait être liée à des pressions de sélection s'exerçant pour l'optimisation du transport de charge en interne plutôt qu'en externe.

Références

Adlung, K. G. (1966). A critical evaluation of the European research on use of red wood ants (*Formica rufa* Group) for the protection of forests against harmful insects. *Journal of Applied Entomology*, 57, 167-189.

Barton, K. (2018). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.42.1.

Batschelet, E. (1981). *Circular statistics in biology*. Academic Press London.

Burnham, K.P., & Anderson, D.R. (2002). *Model selection and multi-model inference: a practical information-theoretic approach*. Springer, Berlin Heidelberg New York.

Cavagna, G. A., Heglund, N. C., & Taylor, C. R. (1977). Mechanical work in terrestrial locomotion: two basic mechanisms for minimizing energy expenditure. *American Journal of Physiology*, 233, R243-61.

Cavagna, G. A., Thys, H., & Zamboni, A. A. (1976). The sources of external work in level walking and running. *American Journal of Physiology*, 262, 639-657.

Cherix, D. (1986). *Les fourmis des bois*. Payot.

Detrain, C., & Prieur, J. (2014). Sensitivity and feeding efficiency of the black garden ant *Lasius niger* to sugar resources. *Journal of Insect Physiology*, 64, 74-80.

Domisch, T., Finér, L., Neuvonen, S., Niemelä, P., Risch, A. C., Kilpeläinen, J., Ohashi, M., & Jurgensen, M. F. (2009). Foraging activity and dietary spectrum of wood ants (*Formica rufa* group) and their role in nutrient fluxes in boreal forests. *Ecological Entomology*, 34, 369-377.

Finnegan, R. J. (1977). Establishment of a predacious red wood ant, *Formica obscuripes* (Hymenoptera: Formicidae), from Manitoba to eastern Canada. *Canadian Entomologist*, 109, 1145-1148.

Full, R. J., & Tu, M. S. (1990). Mechanics of six-legged runners. *Journal of Experimental Biology*, 148, 129-146.

Full, R. J., & Tu, M. S. (1991). Mechanics of a rapid running insect: two-, four- and six-legged locomotion. *Journal of Experimental Biology*, 156, 215–231.

Goldman, D. I. (2006). Dynamics of rapid vertical climbing in cockroaches reveals a template. *Journal of Experimental Biology*, 209, 2990–3000.

Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). *The Ants*. Berlin: Springer-Verlag.

Hughes, G. M. (1952). The co-ordination of insect movements: I The Walking Movements of Insects. *Journal of Experimental Biology*, 29, 267–285.

Kelley, K. (2018). MBESS: The MBESS R package. R package version 4.4.3.

Koditschek, D. E., Full, R. J. & Buehler, M. (2004). Mechanical aspects of legged locomotion control. *Arthropod Structure & Development*, 33, 251–272.

Lanan, M. (2014). Spatiotemporal resource distribution and foraging strategies of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 20, 53-70.

Lighton, J. R. B., Weier, J. A., & Feener Jr., D. H. (1993). The energetics of locomotion and load carriage in the desert harvester ant *Pogonomyrmex rugosus*. *Journal of Experimental Biology*, 181, 49–61.

Mailleux, A. C., Deneubourg, J. L., & Detrain, C. (2000). How do ants assess food volume? *Animal Behaviour*, 59, 1061–1069.

Moll, K., Roces, F., & Federle, W. (2010). Foraging grass-cutting ants (*Atta vollenweideri*) maintain stability by balancing their loads with controlled head movements. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 196, 471–480.

Moll, K., Roces, F., & Federle, W. (2013). How load-carrying ants avoid falling over: Mechanical Stability during Foraging in *Atta vollenweideri* Grass-Cutting Ants. *PLoS ONE*, 8, e52816.

Nielsen, M. G. (2001). Energetic cost of foraging in the ant *Rhytidoponera aurata* in tropical Australia. *Physiological Entomology*, 26, 248-253.

R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Reinhardt, L., & Blickhan, R. (2014). Level locomotion in wood ants: evidence for grounded running. *Journal of Experimental Biology*, 217, 2358–2370.

Reinhardt, L., Weihmann, T., & Blickhan, R. (2009). Dynamics and kinematics of ant locomotion: do wood ants climb on level surfaces? *Journal of Experimental Biology*, 212, 2426–2435.

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.

RStudio Team (2018). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA.

Seidl, T., & Wehner, R. (2008). Walking on inclines: How do desert ants monitor slope and step length. *Frontiers in Zoology*, 5, 1–15.

Schilman, P. E., & Roces, F. (2005). Energetics of locomotion and load carriage in the nectar feeding ant, *Camponotus rufipes*. *Physiological Entomology*, 30, 332–337.

Schmitt, J., Garcia, M., Razo, R. C., Holmes, P., & Full, R. J. (2002). Dynamics and stability of legged locomotion in the horizontal plane: A test case using insects. *Biological Cybernetics*, 86, 343–353.

Traniello, J. (2002). Foraging strategies of ants. *Annual Review of Entomology*, 34, 191–210.

Wahl, V., Pfeffer, S. E., & Wittlinger, M. (2015). Walking and running in the desert ant *Cataglyphis fortis*. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 201, 645–656.

Way, M. J. (1963). Mutualism between ants and honeydew producing Homoptera. *Annual Review of Entomology*, 8, 307–344.

Wöhrl, T., Reinhardt, L. & Blickhan, R. (2017). Propulsion in hexapod locomotion: how do desert ants traverse slopes? *Journal of Experimental Biology*, 220, 1618–1625.

Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.

Zollikofer, C. P. E. (1994). Stepping Patterns in Ants. III. influence of load. *Journal of Experimental Biology*, 192, 119–127.

Annexe

Table.S1. Nombre de fourmis retenues pour les analyses.

Analyses	Conditions expérimentales	Nombre
Morphométrie	Ø	40
Cinématique	Non chargée	26
	Charge interne	26
	Charge externe	26
Stepping pattern	Non chargée	11
	Charge interne	12
	Charge externe	5

Etude morphométrique

Table.S2. Masse des segments corporels

	Tête	Thorax	Gastre	Cumulée	Totale (<i>in vivo</i>)
Masse (mg)	2,61 ± 0,32	4,61 ± 0,52	8,08 ± 1,38	15,31 ± 1,48	15,51 ± 1,42
Masse relative (%)	17,11 ± 2,11	30,23 ± 3,22	52,66 ± 5,17		

N = 40, moyenne ± sd

Nous avons d'abord examiné les relations entre la masse des différents segments du corps des fourmis afin de caractériser le polymorphisme de la caste ouvrière de l'espèce *Formica rufa*.

La distribution des masses des différents segments des fourmis est donnée par la Table S2. La masse cumulée correspond à la somme des masses des trois segments principaux et la masse totale correspond à la masse fraîche de la fourmi avant sa dissection. En calculant l'intervalle de confiance à 95% (IC 95%) de la différence entre masse cumulée et masse totale, on trouve que les variations de masse liées à la dissection sont comprises entre -0,50 et 0,09mg. La limite inférieure de l'intervalle de confiance correspond à une perte maximale de 3,2% de la masse *in vivo*. Cela indique que les pertes d'hémolymphe au moment de la dissection des fourmis sont négligeables et donc que la masse des segments corporels mesurée après dissection est très proche de leur masse réelle. Le gastre est le segment qui représente la proportion de masse corporelle la plus importante (53%) chez les ouvrières de *Formica*, confirmant donc les résultats déjà obtenus chez cette espèce par Reinhardt et Blickhan, (2014). La masse du gastre aura donc un impact important sur la position du centre de masse global de la fourmi et donc sur ses performances locomotrices.

Les fourmis utilisées dans nos expériences avaient des masses relativement proches (entre 12,6mg et 18,53mg). Il ne semble donc pas y avoir chez les fourmis rousses des bois de polymorphisme important de la caste ouvrière comme chez d'autres espèces de fourmis (ex : *Messor barbarus* : Bernadou *et al.*, 2016). Les variations de taille sont de nature allométrique. Tout d'abord, la masse de la tête croît moins vite que la masse du thorax (Fig.S1A, $masse\ tête = 0,05 [-0,38 ; 0,48] + 0,55 [0,46 ; 0,65] * masse\ thorax$; $F_{1,38} = 145,5$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,79 [0,62 ; 0,88]$). De plus, la masse du gastre reste à peu près la même, quelle que soit la masse du thorax (Fig.S1B, $masse\ gastre = 4,91 [3,83 ; 5,99] - 0,4 [-0,17 ; 0,09] * masse\ thorax$; $F_{1,38} = 0,344$; $p = 0,5609$; $R^2 = 0,01 [0 ; 0,07]$). Dans les deux cas, la pente de droite de régression est différente de l'unité ce qui indique donc que le polymorphisme de taille observé est de nature allomorphique plutôt qu'isomorphique. L'absence de relation entre la masse du gastre et la masse du thorax suggère que la capacité de charge interne des fourmis varie peu avec leur taille, ce qui est confirmé par le modèle décrivant la relation entre la capacité de charge et la masse du thorax ($load\ ratio = 1,03 [0,12 ; 1,95] + 0,07 [-0,12 ; 0,26] * masse\ thorax$; $F_{1,50} = 0,49$; $p = 0,48$ $R^2 = 0,01 [0 ; 0,09]$) : les

fourmis les plus grandes n'ingèrent pas une quantité de liquide plus importante que les fourmis plus petites.

Les variations observées dans la capacité de charge des fourmis pourraient dépendre, comme chez *Lasius niger*, du type de liquide récolté qui varie avec l'espèce de pucerons, sa plante hôte et la localisation de celle-ci (Völkl *et al.*, 1999) ou avec la motivation intrinsèque de chaque fourmi à se charger qui dépend de leur seuil de satisfaction (Mailleux *et al.*, 2009). La capacité de charge lors du transport externe n'a pas pu être estimée car les morceaux d'asticots présentés aux fourmis étaient de masse relativement proche (2,2 à 7,05mg), pour qu'elles acceptent de les transporter.

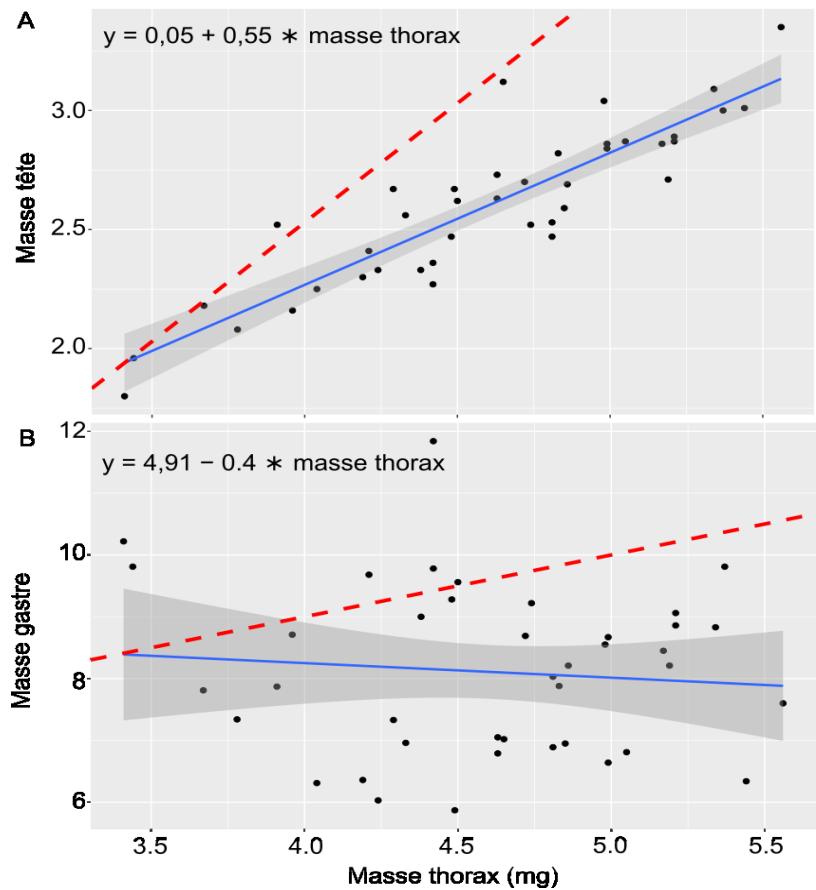


Fig.S1. Relation entre les masses des segments corporels des fourmis. (A) Masse de la tête (mg) en fonction de la masse du thorax (mg). (B) Masse du gastre (mg) en fonction de la masse du thorax (mg). Les masses indiquées correspondent à la masse fraîche des segments après dissection. La droite de régression est représentée en bleu, la zone grisée représente l'intervalle de confiance à 95% de la valeur moyenne de la pente et la droite pointillée rouge est une droite de pente 1 représentant une relation isomorphique entre les masses des segments. ($N = 40$).

Etude cinématique

Présentation des figures supplémentaires utilisées dans la partie résultat du mémoire.

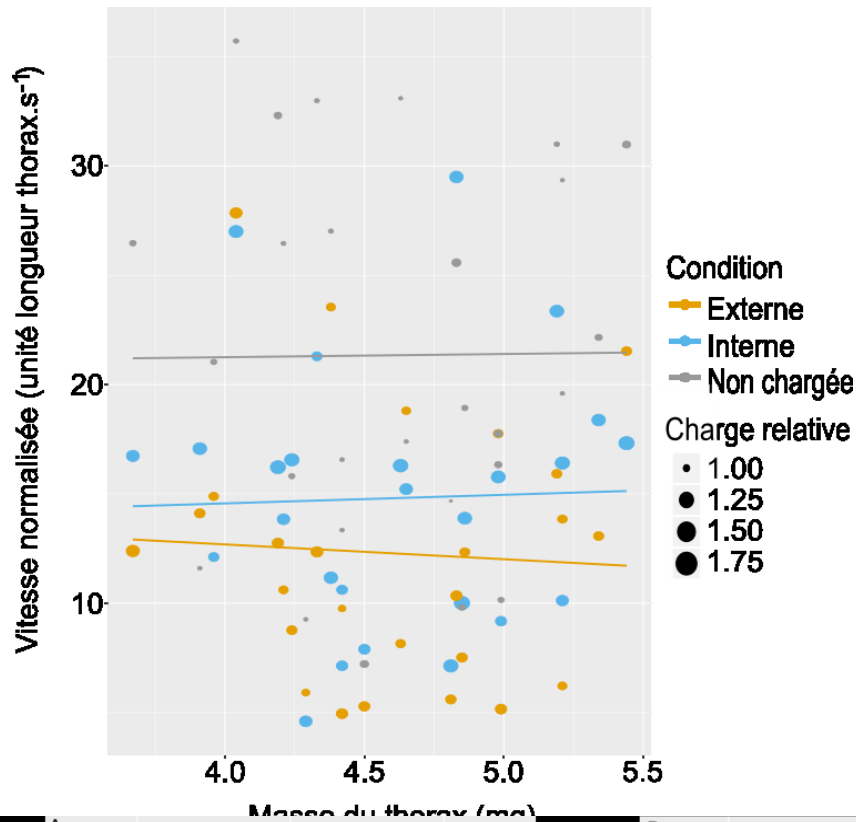


Fig.S2. Vitesse des individus en fonction de la masse de leur thorax. Pour chaque fourmi, la vitesse est normalisée par la longueur de leur thorax. La taille des points est corrélée à la valeur de la charge relative transportée. Les droites de régression linéaires sont tracées pour chacune des conditions expérimentales. Les équations des droites sont $y = b + 0,067 * \text{masse thorax}$ avec b prenant pour valeur 8,37; 5,24 et 4,78 pour les conditions non chargée, interne et externe, respectivement. ($N = 26$).

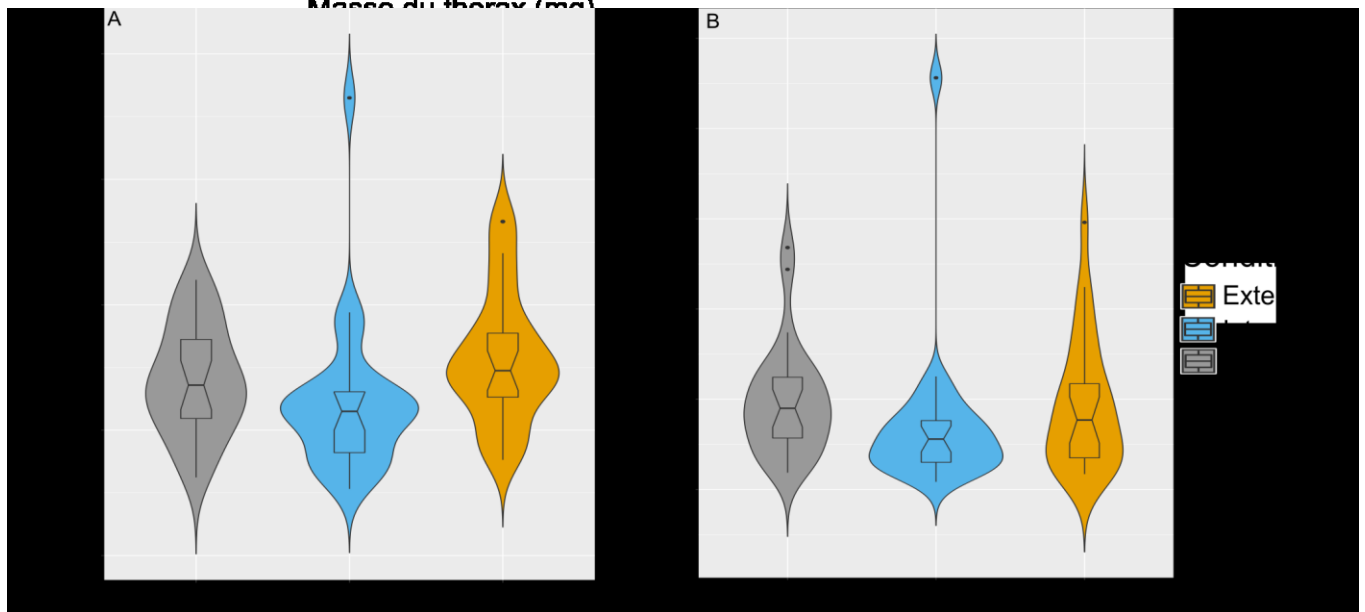


Fig.S3. Travail mécanique réalisé et puissance mécanique déployée. (A) Travail mécanique réalisé et puissance mécanique déployée (B) par les fourmis pour les trois conditions expérimentales. Le travail mécanique et la puissance mécanique sont normalisés par unité de distance (mm). Voir Figure 3 pour des explications sur le type de représentation utilisé. ($N = 26$).

Stepping pattern

Pour indiquer à quel point la marche d'une fourmi était proche d'une locomotion idéale en tripode alterné, nous avons calculé un index de coordination des tripodes (TCS) (Wahl *et al.*,

2015). Cet index peut prendre des valeurs comprises entre 0 et 1. Un TCS de 1 correspond à une marche en tripodes parfaitement alternés, tandis qu'un TCS de 0 signifie que la fourmi se déplace avec un schéma locomoteur complètement différent. La valeur de TCS semble diminuer pour les deux conditions de transport de charge (Fig.S4A), ce qui est en lien avec le nombre de pattes en contact avec le sol qui augmente lors du transport de charge (Fig.S4B). En observant les podogrammes (Fig.S5), on constate que dans les conditions de transport de charge interne et externe, les fourmis passent plus de temps avec aucune, une ou deux pattes en balancement, en accord avec les valeurs peu élevées du TCS. En revanche, pour la condition sans charge, on constate que la proportion de temps passé avec trois pattes en balancement augmente, ce qui est conforme aux valeurs plus élevées du TCS. Cela confirme donc que le transport d'une charge perturbe le tripode alterné.

De la même façon que Moll *et al.* (2013), nous avons également calculé pour chaque fourmi les variations temporelles de la marge de stabilité statique (SSM) pendant la locomotion. Pour chaque image des enregistrements, la SSM est définie comme la

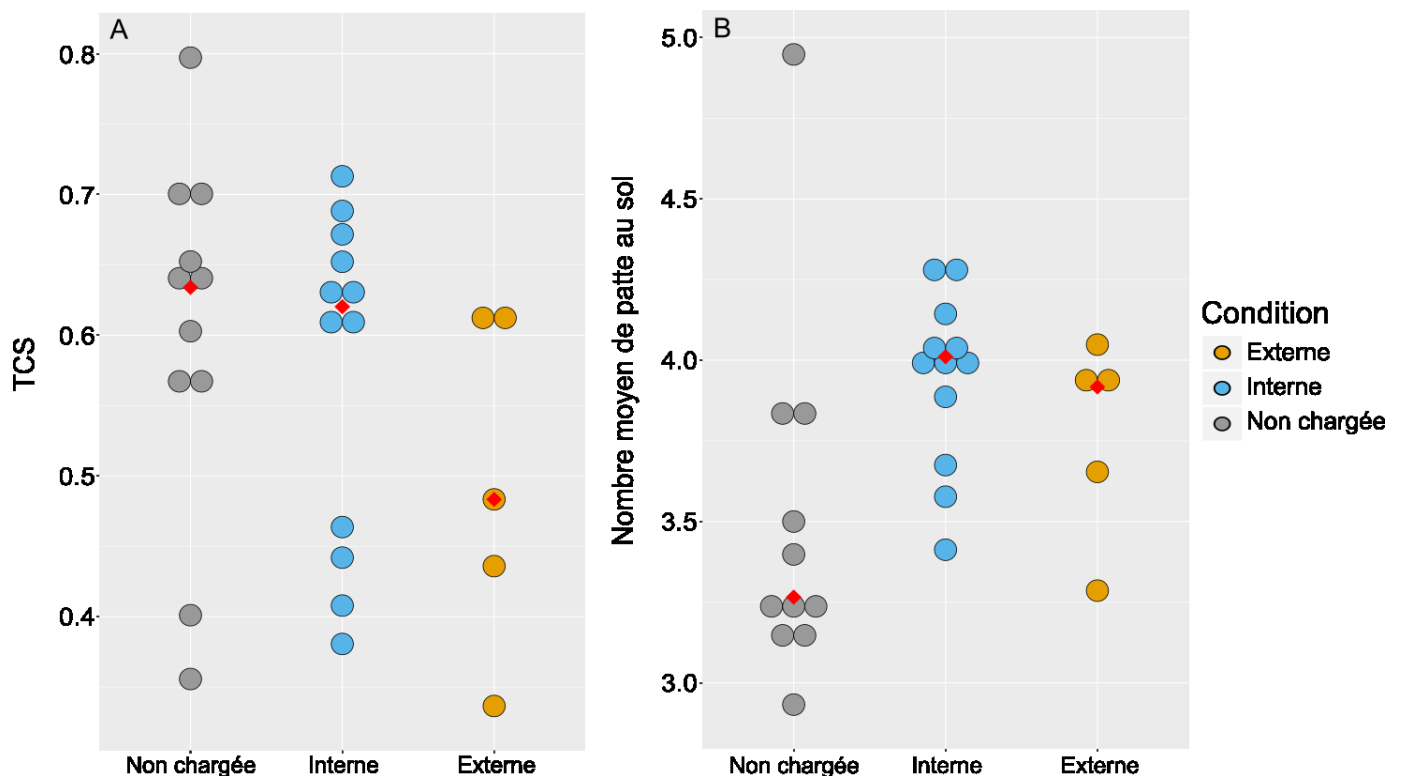


Fig. S4. Caractérisation du schéma locomoteur dans les trois conditions expérimentales. (A) Valeur du TCS pour les trois conditions expérimentales. (B) Nombre moyen de pattes en contact avec le sol. Les losanges rouges indiquent la valeur médiane de la distribution des points. ($N_{vide} = 11$; $N_{interne} = 12$; $N_{externe} = 5$).

distance minimale entre la projection horizontale du CoM de la fourmi et les bords du polygone de support formé par toutes les pattes en contact avec le sol, y compris les pattes traînées (Fig.S6). La SSM est positive si la projection du CoM se situe à l'intérieur du polygone de support, sinon elle est négative. Nous avons considéré que la locomotion était statiquement stable lorsque la fourmi était parvenue à maintenir la stabilité statique (SSM positive) pendant toute la durée de l'enregistrement et qu'elle était statiquement instable lorsque ce n'était pas le cas (SSM négative). A titre d'exemple la Figure S7 présente les variations de la SSM observées pour une même fourmi pour la condition de transport externe (Fig.S7A), de transport interne (Fig.S7B) et la condition non chargée (Fig.S7C). En observant la proportion de temps passé en instabilité statique (Fig.S7D), on constate que le transport de charge interne ne met jamais la fourmi en situation d'instabilité statique ce qui n'est pas le cas lorsque la fourmi transporte une charge interne ou lorsqu'elle se déplace sans charge.

Fig.S5. Podogramme d'une fourmi pour les différentes conditions expérimentales. Pour chacune des conditions de transport, on observe l'état (fixe, traînée ou en balancement, en blanc, gris et noir, respectivement) de chacune des six pattes d'une même fourmi (masse = 17,26mg, longueur du corps sans

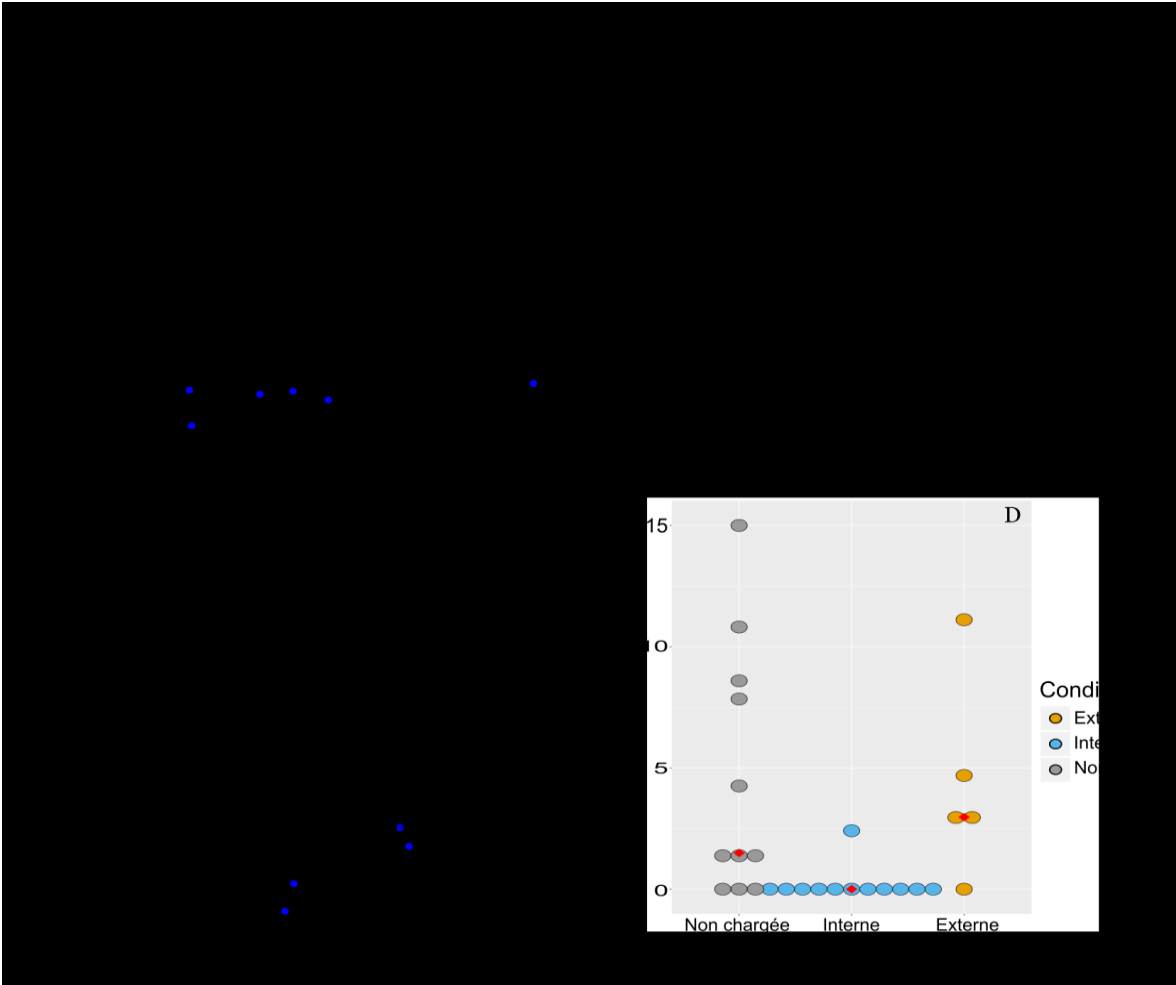


Fig.S7. Marge de stabilité statique (SSM). (A-C) Variation temporelle de la SSM en unité de longueur de thorax pour la même fourmi testée dans les trois conditions expérimentales (masse = 14,83mg, longueur du corps non chargée = 7,81mm). Le nombre de foulée est de 3, 5 et 6 pour la condition non chargée, interne et externe, respectivement. Les points bleus correspondent aux valeurs négatives de la SSM. (D) Proportion de temps de l'enregistrement où la fourmi est en instabilité statique. Les losanges rouges indiquent la valeur médiane de la distribution des points. ($N_{vide} = 11$; $N_{interne} = 12$; $N_{externe} = 5$).

Référence

Bernadou, A., Felden, A., Moreau, M., Moretto, P., & Fourcassie, V. (2016). Ergonomics of load transport in the seed harvesting ant *Messor barbarus* : morphology influences transportation method and efficiency. *Journal of Experimental Biology*, 219, 2920-2927.

Mailleux, A. C., Deneubourg, J. L., & Detrain, C. (2009). Food transport in ants: Do *Lasius niger* foragers maximize their individual load? *Comptes Rendus - Biologies*, 332, 500–506.

Moll, K., Roces, F., & Federle, W. (2013). How Load-Carrying Ants Avoid Falling Over: Mechanical Stability during Foraging in *Atta vollenweideri* Grass-Cutting Ants. *PLoS ONE*, 8, e52816.

Völkl, W., Woodring, J., Fisher, M., Lorenz, M.W., Hoffmann K.H. (1999). Ant-aphid mutualisms: the impact of honeydew production and honeydew sugar composition on ant preferences. *Oecologia*, 118, 483–491.

Wahl, V., Pfeffer, S. E., & Wittlinger, M. (2015). Walking and running in the desert ant *Cataglyphis fortis*. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 201, 645–656.

Résumé

Afin de mieux comprendre la biomécanique de la locomotion chez les hexapodes, nous avons étudié les performances locomotrices lors de différentes conditions de transport de charge chez la fourmi rousse des bois, *Formica rufa*. Les fourmis de cette espèce peuvent transporter des charges en interne, à l'intérieur de leur gastre pour les sources liquides et en externe pour les proies qui sont transportées entre les mandibules. Nous avons analysé sur des vidéos la cinématique tridimensionnelle du centre de masse des fourmis dans trois conditions expérimentales : fourmis non chargées, transportant une charge interne et transportant une charge externe. Nous avons également analysé la position des pattes par rapport au corps au cours de la locomotion. Les résultats montrent que la fourmi adapte sa posture au type de charge qu'elle transporte. Lors du transport interne, les fourmis se déplacent avec leur corps plus près du sol et tirent la charge contenue dans leur gastre. A l'inverse, lors du transport externe, les fourmis se redressent sur leurs pattes antérieures afin d'éviter que la charge frotte contre le sol. La cinématique tridimensionnelle du centre de masse montre une locomotion régulière avec de faibles oscillations du centre de masse pour le transport interne et une locomotion saccadée avec de grandes oscillations pour le transport de charge externe. Les fluctuations d'énergie cinétique et potentielle du centre de masse montrent des énergies en phase, s'éloignant du modèle de locomotion du pendule inversé, pour toutes les conditions. Cependant, lors du transport de charge externe, le décalage de phase entre énergie cinétique et potentielle augmente ; certains individus ont des énergies cinétiques et potentielles en opposition de phase, avec des échanges d'énergies plus importants. Le calcul du travail mécanique externe réalisé lors de la locomotion montre que le transport de charge interne est du même ordre de grandeur, voire légèrement inférieur à celui réalisé lors de la locomotion sans charge. De plus, la locomotion paraît être la plus stable, les fourmis conservant un état de stabilité statique. Il est possible que les pressions de sélection agissant sur les ouvrières de la fourmi rousse des bois soient plus importantes lorsqu'elles se déplacent avec de la nourriture dans leur abdomen que lorsqu'elles se déplacent sans charge. Ces pressions de sélection pourraient agir sur la morphologie des fourmis afin d'optimiser leur locomotion dans cette condition.

TITRE DE LA THÈSE : Biomécanique et énergétique de la locomotion et du transport de charge chez la fourmi.

AUTEUR : Hugo MERIENNE

DIRECTEURS DE THÈSE : Vincent FOURCASSIÉ et Pierre MORETTO

RÉSUMÉ : Lors de cette thèse, nous avons étudié la locomotion chez la fourmi *Messor barbarus* et la manière dont celle-ci est affectée par la charge transportée. Ce travail recouvre trois aspects de la locomotion : la cinématique des pattes, la dynamique du centre de masse de la fourmi et la dépense énergétique associée à la locomotion. Nous avons porté une attention particulière à l'effet de la taille de la fourmi sur la locomotion ainsi qu'à l'effet de la masse relative de la charge transportée. Ce travail a montré que, lors de la locomotion non chargée, les petites et grosses fourmis n'ont pas le même patron locomoteur, les grosses fourmis s'ajustant au déséquilibre induit par leur tête proportionnellement plus grosse. Pour les fourmis chargées, le patron locomoteur varie peu avec la taille de la fourmi et celles-ci doivent régulièrement s'agripper au substrat avec leurs pattes arrières afin de ne pas basculer vers l'avant. Pour les fourmis non chargées, ou chargées avec de petites charges, la trajectoire du centre de masse lors de la locomotion correspond aux démarches observées chez d'autres insectes. Cependant, une charge de masse relative trop importante rend la locomotion erratique. Enfin, nous avons mesuré le taux métabolique pour différentes fourmis non chargées et chargées avec des charges de masses variables. Les variations du taux métabolique sont cohérentes avec les résultats de la littérature sur d'autres espèces de fourmis. Grâce à ces expériences, nous avons pu calculer le taux auquel les fourmis ramènent de l'énergie à la colonie en fonction de leur masse et de la masse de la graine transportée. Afin de maximiser ce taux, les petites fourmis ont intérêt à récolter de petites graines, alors que les plus grosses fourmis devraient transporter des graines plus lourdes. Les résultats obtenus durant cette thèse permettront de contribuer à une meilleure compréhension de la division du travail, de l'écologie et du comportement d'approvisionnement chez l'espèce *Messor barbarus*.

MOTS CLÉS : fourmis, locomotion, transport de charge, biomécanique, énergétique

ABSTRACT: Load transport is rarely observed in animals. In this respect, ants probably display the most outstanding performances: they are indeed able to carry loads weighing up to ten times their own mass over dozens of meters. During this thesis, we studied ant locomotion and how it was affected by load transport. We investigated three aspects of locomotion: leg kinematics, center of mass dynamics and energetic expenditure associated with locomotion. We especially looked into the effect of ant mass on load transport. Indeed, the polymorphism of the worker caste of the ant species we studied, *Messor barbarus*, is characterized by allometric relationships, which implies that locomotion and/or load transport could be different for workers of different sizes. We also examined the effect of different relative mass of the loads carried. We found that big ants have a different locomotor pattern than small ants, probably because they have to compensate for the imbalance caused by their relatively bigger head. During load transport, the locomotor pattern does not change much for ants of different sizes and loaded ants often have to cling to the substrate in order to avoid falling off. For unloaded ants, the dynamics of the ant center of mass is similar to what has already been reported for other insects in the literature: the ant locomotion is well described by a bouncing gait with no aerial phases. This gait is hardly altered for small items. For bigger items however, the locomotion becomes erratic and does not follow a periodic pattern across consecutive strides. Finally, we measured the metabolic rates of ants of different sizes when unloaded and when loaded with loads of varying mass. The changes of the metabolic rate with temperature, ant mass, activity and load transport is coherent with previous experiments on other ant species. From these experiments, we computed the rate of food intake for which ants increase the energetic content of the colony. The function maximizing this rate predicts that optimal foraging would occur if small ants carry small seeds and big ants, big seeds. The results of this work will help to better understand the division of labor and the foraging ecology of *Messor barbarus* and could give new insights for the design of biomimetic hexapodal robots.

KEYWORDS: ants, locomotion, load transport, biomechanics, energetics