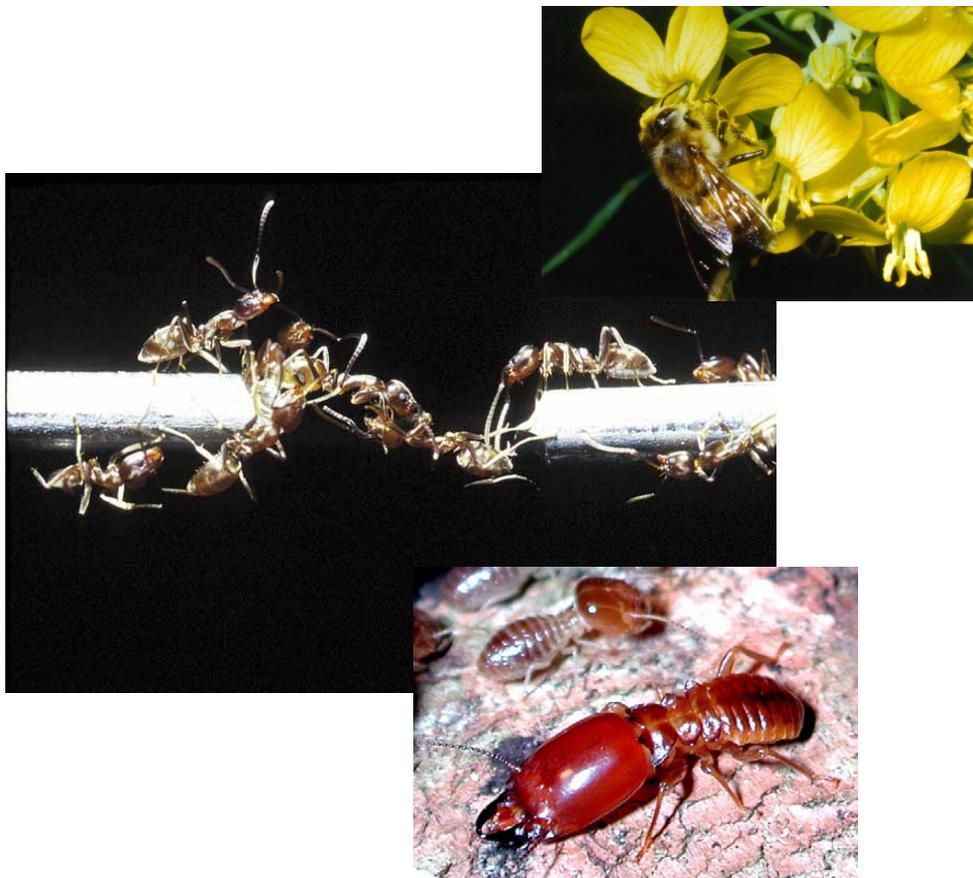


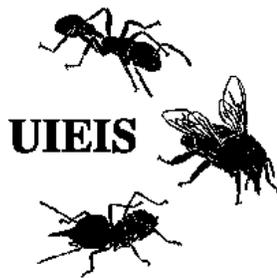
U 2 I 0 E 0 I 2 S



ACTES DES COLLOQUES INSECTES SOCIAUX

Edité par l'Union Internationale pour l'Etude des Insectes Sociaux - Section française
(sous la direction de François-Xavier DECHAUME MONCHARMONT et Minh-Hà PHAM-DELEGUE)

**VOL. 15 (2002) – COMPTE RENDU DU COLLOQUE ANNUEL
50^e anniversaire - Versailles - 16-18 septembre 2002**



ACTES DES COLLOQUES INSECTES SOCIAUX

Edité par l'Union Internationale pour l'Etude des Insectes Sociaux - Section française
(sous la direction de François-Xavier DECHAUME MONCHARMONT et Minh-Hà PHAM-DELEGUE)

**VOL. 15 (2002) – COMPTE RENDU DU COLLOQUE ANNUEL
50^e anniversaire - Versailles - 16-18 septembre 2002**

ISSN n° 0265-0076
ISBN n° 2-905272-14-7

Composé au Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (INRA, Bures-sur-Yvette)
Publié on-line sur le site des Insectes Sociaux : : <http://www.univ-tours.fr/desco/UIEIS/UIEIS.htm>

Comité Scientifique :

Martin GIURFA	Université Toulouse
Alain LENOIR	Université Tours
Christian PEETERS	CNRS Paris 6
Minh-Hà PHAM-DELEGUE	INRA Bures

Comité d'Organisation :

Evelyne GENECCQUE
F.X. DECHAUME MONCHARMONT
Et toute l'équipe du LNCl (INRA Bures)

Nous remercions sincèrement l'INRA et l'établissement THOMAS qui ont soutenu financièrement cette manifestation.

Crédits Photographiques Couverture : 1. Abeille : Serge CARRE (INRA) 2. Fourmis : Photothèque CNRS 3. Termite : Alain ROBERT (Université de Bourgogne, Dijon)

UNION INTERNATIONALE POUR L'ETUDE DES INSECTES SOCIAUX
 UIEIS Section Française - 50^{ème} Anniversaire
Versailles 16-18 Septembre 2002

PROGRAMME

Lundi 16 septembre

9 h

ACCUEIL DES PARTICIPANTS - CAFE

10 h

Présentation du Centre INRA de Versailles – Président du Centre

Session Plasticité et Socialité- Modérateur Martin Giurfa

10 h 15 - Conférence

Watching the bee brain when it learns – Randolf Menzel (Université Libre de Berlin)

11 h 15

Calcium responses to queen pheromones, social pheromones and plant odours in the antennal lobe of the honey bee drone *Apis mellifera* L. - **Jean-Christophe Sandoz p.7**

11 h 30

Apprentissage des odeurs par l'abeille : facteurs de variabilité des performances individuelles au cours d'un conditionnement associatif - **David Laloi, M.-H. Pham-Delègue p.9**

11 h 45

Variabilité du comportement de recrutement par les danses chez l'abeille *Apis mellifera* – **François-Xavier Dechaume-Moncharmont, O. Pons, M.-H. Pham-Delègue p.13**

12 h

Caractérisation de l'effet inhibiteur des butineuses sur le développement comportemental des jeunes ouvrières d'une colonie d'abeilles, *Apis mellifera* L. - **Isabelle Leoncini, G. Costagliola, J.M. Becard, Y. Le Conte, G.E. Robinson p.15**

12 h 15

Le conditionnement spatial chez la fourmi *Myrmica sabuleti* – **Marie-Claire Cammaerts p.19**

12 h 30- 12 h 45

Facteurs influençant le choix de la stratégie prédatrice chez la fourmi *Gnamptogenys sulcata* (Ponerinae : Ectatommini) - **Sébastien Daly-Schveitzer, G. Beugnon, J.-P. Lachaud p.23**

13 h 30

DEJEUNER ET CAFE

Session Plasticité et Socialité- Modérateur Christian Peeters

14 h 30 – Conférence

Aggrégation : une étape vers d'autres coopérations – Jean-Louis Deneubourg (Université Libre de Bruxelles)

15 h 30

Régulation du nombre d'individus participant à la capture et au transport collectif de proies chez une araignée sociale, *Anelosimus eximius* : importance des caractéristiques de la proie - **Guillaume Vakanas p.27**

15 h 45

Absence de mutilation chez une population indienne de *Diacamma* : le monopole de la gamergate est-il remis en cause ? – **Laurent Cournault**, C. Peeters **p.31**

16 h

Resolving reproductive conflicts in ants – **Bruno Gobin** **p.32**

16 h 15

Mini-sociétés sans reine chez le genre Néotropical *Thaumatomyrmex* Mayr, 1887 (Formicidae : Ponerinae) - **Benoît Jahyny**, J. Delabie, D. Fresneau **p.33**

16 h 30

Remplacement de la gamergate chez la fourmi sans reine *Dinoponera quadriceps* : une contre toutes, et presque toutes pour une - **Thibaud Monnin**, F. L.W. Ratnieks, G. R. Jones, R. Beard **p.37**

16 h 45

Worker policing by egg eating in the ponerine ant *Pachycondyla inversa* - **Patrizia D'Etto**re, J. Heinze, F. Ratnieks **p.38**

17 h

To linger or leave: Does cuticular chemistry, dealation propensity and size matter for new *Formica truncorum* gynes? – **Christine A. Johnson**, L. Sundström **p.39**

17 h 15

Rôle des mâles dans la reproduction chez *Cardiocondyla elegans* (Formicidae : Myrmicinae) - **Jean-Luc Mercier**, C. Jérôme, E. Darrouzet, S. Stoeckel. **p.40**

17 h 30

Hiérarchie et régulation de la reproduction chez une fourmi Ponerinae à reine peu différenciée : *Platythyrea conradti* - **Mathieu Molet**, Kolo Yéo, C. Peeters **p.44**

17 h 45

Structure socio-génétique des sociétés et des populations de *Cataglyphis cursor* (Formicidae) - **Morgan Percy**, C. Doums, S. Aron **p.45**

18 h -18 h 15

Régulation de l'accès à la reproduction : apparition du signal de dominance chez la fourmi sans reine *Streblognathus*.- **Valérie Renault**, V. Cuvillier, C. Peeters **p.48**

Mardi 17 septembre**Session Coévolution - Modératrice Corinne Rouland-Lefèvre****9 h 15 - Conférence**

Host-symbiont conflicts in fungus-growing social insects – Jacobus J. Boomsma (Université de Copenhague)

10 h 15

La miniaturisation : une stratégie simple des parasites pour tromper leurs hôtes ? une analyse du sex-ratio en cytométrie de flux. - **Serge Aron** **p.49**

10 h 30

L'action des fourmis sur un mutualisme figuiers/pollinisateurs - **Bertrand Schatz**, M. Hossaert-McKey **p.53**

10 h 45

PAUSE CAFÉ

11 h 15

Le syndrome de polydomie chez *Cataulacus mckeyi*, une fourmi à plante - **Gabriel Debout**, B. Schatz, E. Provost, M. Renucci, A. Tirard, D. McKey **p.58**

11 h 30

Modifications des communautés fongiques du sol sous l'action de plusieurs espèces de termites *Macrotermitinae* - **Michel Diouf**, A. Brauman, C. Rouland-Lefèvre **p.63**

11 h 45

Influence de *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera : Myrmicinae) sur deux communautés de fourmis – **Jean-François Marlier**, B. Schatz, J.C. de Biseau **p.68**

12 h

Capacités digestives des fourmis champignonnistes et contribution du champignon dans la dégradation du matériel végétal – **Freddie-Jeanne Richard**, C. Rouland, C. Errard **p.73**

12 h 15 - Film

Menaces sur le *Maculinea*, la biologie de la conservation appliquée aux zones humides – **Alain Rojo de la Paz**

12 h 30

CONSEIL DE L'UIEIS

13 h 30

DEJEUNER ET CAFE

Session Libre - Modérateur Alain Lenoir (Université Tours)**14 h 30**

Métamorphose du profil d'hydrocarbures cuticulaires lors de l'activation ovarienne chez la fourmi *Linepithema humile* – **Jean-Christophe de Biseau**, L. Passera, D. Daloze, S. Aron **p.78**

14 h 45

Discrimination intra- et interspécifique chez la fourmi vagabonde *Wasmannia auropunctata* - **Christine Errard**, H. Jourdan, C. Glaude, J. Delabie, A. Hefetz **p.82**

15 h

Inhibition royale de la ponte des ouvrières chez *Bombus terrestris* (Hymenoptera : Apidae, Bombinae) - **Cédric Alaux**, P. Jaisson, A. Hefetz **p.90**

15 h 15

Identification d'un signal de fertilité cuticulaire chez *Diacamma ceylonense*, une fourmi sans reine – **Sébastien Baratte**, C. Peeters, M. Cobb **p.96**

15 h 30

Spécificité des pistes de récolte de nourriture chez les termites : le cas de *Macrotermes annandalei* et de *M. barneyi* - **Mathieu Bourillot**, A. Robert, E. Semon, C. Bordereau **p.98**

15 h 45

Utilisation de marqueurs chimiques et moléculaires : l'étude des colonies parisiennes du termite *Reticulitermes santonensis* - **Stéphanie Dronnet**, P. Uva, J.-P. Christides, A.-G. Bagnères **p.103**

16 h

Reconnaissance coloniale chez des fourmis se reproduisant par bouturage - **Katsuya Ichinose**, A. Lenoir, X. Cerda **p.110**

16 h 15

Discrimination de marquages territoriaux chez une ponérine néotropicale, *Pachycondyla apicalis* (Hymenoptera : Formicidae, Ponerinae) - **Antoine Pezon**, D. Fresneau **p.114**

16 h 30

Les phéromones de piste chez les termites : le cas de *Mastotermes darwiniensis* - **David Sillam-Dusses**, A. Robert, C. Bordereau **p.118**

16 h 45

PAUSE CAFE

SESSION POSTERS (voir liste p.6)

17 h 30

ASSEMBLEE GENERALE

18 h 30

NOUVEAU CONSEIL DE L'UIEIS

19 h 30

Cinquantenaire de l'UIEIS – Hommages aux grands anciens qui ont si bien servi la cause des Insectes Sociaux

Luc Passera par Serge Aron

Pierre-Paul Grassé par Jean-Luc Clément

20 h 30

BANQUET

Mercredi 18 septembre

Session Abeille et Environnement – Modératrice Jacqueline Pierre

9 h 15 - Conférence

L'abeille en écotoxicologie terrestre – James Devillers (CTIS)

10 h 15

Rôle des abeilles domestiques dans la mise en suspension du pollen dans l'air et incidence sur la pollinisation chez le colza – **Jacqueline Pierre**, B. Vaissière **p.123**

10 h 30

Déterminisme génétique du comportement de défense chez l'abeille domestique (*Apis mellifera*, L.) – **Jean-Christophe Lenoir**, M.-H. Pham-Delègue, M. Solignac, D. Vautrin, B. Roger **p.127**

10 h 45

Etude des conséquences du traitement "Régent" des semences de tournesol sur le comportement de récolte des abeilles – **Isabelle Brouard** **p.132**

11h

Impact de traitements phytopharmaceutiques effectués en conditions semi-naturelles sur les performances d'apprentissage olfactif de butineuses – **Axel Decourtye**, M. Tisseur, J. Gandrey, M.H. Pham-Delègue **p.136**

11 h 15

PAUSE CAFE

Session Libre - Modérateur Minh-Hà Pham-Delègue (INRA, Bures)**11 h 45**Structure génétique et dispersion chez les fourmis sans reine du genre *Diacamma* - **Claudie Doms** p.141**12 h**Stratégies de dispersion et de reproduction chez la fourmi *Cataglyphis cursor* : Approche génétique - **Johanna Clémencet**, C. Doms p.143**12 h 15**Contrôle royal dans l'établissement du sex ratio chez les Formicidae : utilisation du F.I.S.H. comme nouvelle technique de détermination du sexe des œufs. - **Ludivine de Menten**, H. Niculita, S. Aron p.144**12 h 30**Conflit reine-ouvrières chez la fourmi *Pheidole pallidula* : Influences génétiques et écologiques sur la sex-ratio des sociétés - Denis Fournier, **S. Aron** p.148**12 h 45 – 13 h**Comportement défensif chez le termite de bois sec *Cryptotermes secundus* : rôle des soldats - **Estelle A. Roux**, J. Korb p.152**13 h 30**

DEJEUNER ET CAFE

Session Libre - suite**14 h 30**Etude des conditions d'apparition des phénomènes de cleptobiose en laboratoire chez une ponérine néotropicale (*Ectatomma ruidum* Roger) - **Hélène Cerles**, B. Corbara, J.-P. Lachaud p.157**14 h 45**Spécialisation morphologique et copulation prolongée chez la fourmi *Diacamma* sp. (Hymenoptera, Formicidae) – **Diane Allard**, B. Gobin, F. Ito, K. Tsuji, J. Billen p.160**15 h**L'argile comme facteur clef de la stabilité des nids de *Macrotermes bellisus* - **Pascal Jouquet**, D. Tessier, M. Lepage p.161**15 h 15**Peculiar cell organisation of the labial gland in social Hymenoptera – **Els Lommelen**, E. Schoeters, J. Billen p.165**15 h 30**

CONCLUSIONS DU COLLOQUE

Apidologie, une revue franco-allemande devenue internationale - **Ch. Courant**

p.218

- Structure sociale et génétique de deux populations alpines de *formica lugubri* - **C. Bernasconi, A. Maeder, D. Cherix** p.166
- Le conditionnement spatial chez la fourmi *Myrmica sabuleti* - **M-C. Cammaerts** p.167
- Orientation olfactive en tunnel de vol chez l'abeille domestique *Apis mellifera* - **A. Chaffiol, M.-H. Pham-Delègue** p.171
- Etude électrophysiologique du codage de l'information olfactive chez l'abeille *Apis mellifera* - **P. Déglise** p.174
- Phenotypic plasticity or co-evolution? Testing the acceptance threshold model in a host of a social parasite - **E. Brunner, P. D'Ettoire, J. Heinze** p.178
- Marquage exploratoire chez la fourmi *Lasius niger* - **C. Devigne, C. Detrain** p.179
- Inquinisme social chez les bourdons : le cas de *Bombus (Fernaldaepsithyrus) sylvestris* Lepeletier - **S. Dronnet, X. Simon, J.-C. Verhaeghe, P. Rasmont, C. Errard** p.183
- Effets de l'imidaclopride sur l'apprentissage chez l'abeille *Apis mellifera* - **M. Gauthier, J. Pradel, S. Raymond, M. Lambin** p.187
- Nectar feeding by the ant *Camponotus mus*: decision-making process during foraging for different body sizes - **V. Medan, R. Josens** p.191
- Étude du polymorphisme chez le termite *Reticulitermes grassei* : une approche multidisciplinaire - **M. Kutnik, P. Uva, J.-L. Clément, A.-G. Bagnères** p.194
- Modification du milieu social et reconnaissance coloniale chez deux espèces de fourmis : *Myrmica rubra* L. et *Myrmica ruginodis* Nyl - **K. Malvaux, S. Licois, A.M. Le Roux, G. Le Roux** p.195
- Etude en plein champ de l'impact de colzas résistants à un herbicide sur les populations d'insectes pollinisateurs et leur comportement de butinage - **J. Pierre, D. Marsault, M.-H. Pham-Delègue, J. Champolivier, H. Picault, M. Renard** p.200
- Méthodologies à appliquer pour étudier l'impact de plantes transgéniques sur les insectes pollinisateurs - **M.H. Pham-Delègue, J. Pierre** p.204
- Comparaison de la toxicité aiguë de deux modes d'ingestion d'insecticides : ingestion collective et individuelle chez *Apis mellifera* - **H. Rafalimanana, M.-H. Pham-Delègue, M. Charreton** p.209
- Rythme d'activité et comportement prédateur chez la fourmi arboricole néotropicale *Olichoderus bidens* (L.) (Hymenoptera : Formicidae) - **P. Servigne, B. Corbara, C. Gaspar, A. Dejean, J. Orivel** p.213
- Stratégies de reproduction chez *Cardiocondyla elegans* : possibilités de transferts inter-nids de sexués - **S. Stoeckel, J. Brotons, J.L. Mercier** p.216
- La faible diversité génétique en Inde de la fourmi sans reine *Diacamma indicum* suggère une récente introduction - **B. Viginier, L. Brazier, C. Peeters, C. Doums** p.217

CALCIUM RESPONSES TO QUEEN PHEROMONES,
SOCIAL PHEROMONES AND PLANT ODOURS IN THE ANTENNAL LOBE
OF THE HONEY BEE DRONE *APIS MELLIFERA* L.

J.-C. Sandoz^{1,2}

¹ Laboratoire d'Éthologie et Cognition Animale, Université Paul-Sabatier, 118, Route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 04, France.

² Freie Universität Berlin, Institut für Biologie - Neurobiologie, Königin-Luise-Str. 28-30, 14195 Berlin, Germany.

INTRODUCTION

The functional role of honey bee males (drones) in the colony is to mate with queens, a behaviour relying heavily on the olfactory detection of queen pheromone. How the brain of drone honey bees processes olfactory stimuli, in particular pheromones, is still largely unknown. Olfactory receptor cells located in sensillae on the antennae project to the antennal lobes (AL), the first brain structures to process olfactory information, and contact projection neurons in delimited functional units, the glomeruli. Projection neurons connect the ALs with higher-order processing centres, the mushroom bodies. In drones, there are about 100 'ordinary' glomeruli and additionally, 4 large compartments which form the macroglomerular complex (MGC). Because in moths the MGC is responsible for sexual pheromone detection and processing, such a function was also proposed in drones. One of these compartments (MG1) is particularly prominent at the surface of the AL, together with about 30 usual-size glomeruli, which makes them accessible for optical imaging studies. Using calcium imaging, we measured odour-evoked responses in the glomeruli of the drone AL.

MATERIALS AND METHODS

Drones were placed in recording chambers. The head cuticle was opened, and membranes and glands covering the brain were removed revealing the antennal lobes. Then, the brain was bathed with Calcium-Green 2AM in saline for 1 h. Afterwards, the brain was thoroughly rinsed and the chamber placed under an epifluorescence microscope. For each measurement an antennal lobe was illuminated 100 times (5 times per second) with a monochromatic light beam and fluorescence emission was recorded by a camera coupled to a computer. Three seconds after the beginning of each measurement, an odour was presented for 1 sec. Seventeen different odours belonging to three main classes of stimuli were used: (i) queen pheromonal components, used by drones for the recognition of queens during nuptial flights, (ii) social pheromonal components used for social cohesion in the colony, and (iii) floral odours, which are present in the food stores of the hive and/or brought back by foragers. Odor-evoked activity was observed as relative changes in calcium concentration (fluorescence) in particular glomeruli of the antennal lobe.

RESULTS

All three classes of stimuli produced signals in a variety of glomeruli of the antennal lobe. The main components of the queen pheromone, 9ODA and 9HDA induced signals in the MGC, whilst the other components HOB and HVA each triggered activity in mostly one, but not the same, ordinary glomerulus. Social pheromones and floral odours generally evoked responses in a combinatorial manner in ordinary glomeruli. Comparisons of activity maps in different individuals allowed to show that the glomerular code for odours is conserved among drones and symmetrical between sides.

CONCLUSION

This study suggests that the most active queen pheromonal components are processed in the macroglomeruli of the drone AL, as are pheromonal compounds in moths, and that social pheromones and floral odours, as well as secondary queen pheromone components are processed in ordinary glomeruli. These results are discussed in relation to the differential coding of signals that are inherently relevant vs. that of signals whose relevance depends on individual experience as well as with respect to the behaviour and role of drones in the honey bee society.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was funded by the Alexander von Humboldt Foundation and by the Human Frontier Science Programs.

APPRENTISSAGE DES ODEURS PAR L'ABEILLE : FACTEURS DE VARIABILITÉ DES PERFORMANCES INDIVIDUELLES AU COURS D'UN CONDITIONNEMENT ASSOCIATIF

D. Laloi¹, M.-H. Pham-Delègue²

¹ Laboratoire d'Ecologie, UMR 7625, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai Saint Bernard, Bât. A 7^{ème} étage, case 237, 75252 Paris cedex 05.

² Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (LNCI), INRA, La Guyonnerie, BP 23, 91440 Bures-sur-Yvette.

RESUME

Le conditionnement du réflexe d'extension du proboscis est une méthode largement utilisée pour l'étude de l'apprentissage des odeurs par l'abeille. Les performances individuelles obtenues avec cette procédure présentent une importante variabilité. Nous avons évalué l'influence de divers facteurs, épigénétiques et génétiques, sur cette variabilité, en tentant de définir comment ces facteurs, *via* les processus cognitifs sur lesquels ils agissent, peuvent contribuer à la modulation des performances d'apprentissage olfactif de chaque individu.

INTRODUCTION

Quand elle se trouve à proximité de sources de nourriture, l'abeille est capable de repérer les fleurs les plus favorables pour la récolte de nectar ou de pollen. Son comportement de choix repose alors sur des processus d'apprentissage associatif, au cours desquels la butineuse associe la présence de nourriture avec les caractéristiques visuelles et olfactives des fleurs. Parmi ces caractéristiques, les odeurs sont les signaux les plus rapidement appris et jouent un rôle majeur dans l'orientation à courte distance sur les sites de butinage (Menzel *et al.*, 1993).

De nombreux travaux sur l'apprentissage des odeurs chez l'abeille sont basés sur l'utilisation d'une procédure associative : le conditionnement du réflexe d'extension du proboscis (Bitterman *et al.*, 1983). Cette méthode reproduit, sur des abeilles en contention individuelle, l'apprentissage olfactif qui a lieu au cours de la visite des fleurs. Plusieurs auteurs ont rapporté des variations individuelles dans les performances d'apprentissage exprimées au cours de cette procédure de conditionnement (*e.g.* Getz et Smith, 1987 ; Smith *et al.*, 1991). Dans une situation expérimentale standardisée, permettant un très bon contrôle de nombreux paramètres, il est apparu non seulement que cette variabilité est importante, mais aussi qu'il est possible de définir des catégories de réponses (Laloi *et al.*, 1999).

Divers facteurs peuvent contribuer à la variabilité individuelle des performances d'apprentissage, qu'ils soient d'ordre physiologique (âge, caste, sexe, variation de l'état physiologique avec la saison, motivation alimentaire), génétique, liés à des expériences antérieures (exposition passive à des odeurs de l'environnement) ou encore au partage des tâches dans la colonie. Quelques facteurs ont fait l'objet d'études : l'âge des ouvrières (Pham-Delègue *et al.*, 1990 ; Ray et Ferneyhough, 1997a ; Laloi *et al.*, 2001), leur génotype (Brandes et Menzel, 1990 ; Bhagavan *et al.*, 1994) ainsi que la saison (Ray et Ferneyhough, 1997b). Toutefois les procédures de conditionnement et les stimuli odorants appliqués n'étant pas toujours identiques d'une étude à l'autre, il est difficile de dégager l'influence respective de ces divers facteurs ainsi que leurs interactions éventuelles.

Afin de préciser les bases de la variabilité des performances individuelles d'apprentissage olfactif, nous avons évalué l'influence des principales sources de cette variabilité : âge des abeilles, génotype, saison, différences entre colonies, différences entre castes et sexes, et effet d'une exposition passive précoce. A partir de ces résultats, nous essayons d'expliquer

comment les divers facteurs peuvent permettre la modulation des performances d'apprentissage olfactif de chaque individu.

MÉTHODES

Les expériences ont été réalisées avec des abeilles domestiques (*Apis mellifera*) provenant de colonies placées en rucher couvert et chauffé. Elles sont collectées à l'émergence et maintenues au laboratoire, en conditions standardisées, jusqu'au moment où elles sont soumises à la procédure de conditionnement. Pour chaque type d'expérience, les conditions de préparation et de maintien des abeilles ont été adaptées afin d'homogénéiser les effets éventuels de facteurs non testés.

Le conditionnement de l'extension du proboscis repose sur l'association temporelle entre la présentation d'une odeur (stimulus conditionnel) et celle d'une récompense alimentaire (stimulus inconditionnel). Sur des abeilles en contention, le réflexe est déclenché par contact des antennes avec une solution sucrée, l'odeur étant délivrée simultanément. L'abeille peut alors prélever une goutte de solution sucrée (renforcement alimentaire). Une fois correctement conditionnée, l'abeille répond à la présentation de l'odeur seule en étendant son proboscis. Le dispositif expérimental ainsi que les procédures de conditionnement ont été adaptées de celles décrites par Bitterman *et al.* (1983) et ont été présentés en détail par ailleurs (*e.g.* Sandoz *et al.*, 1995).

Alors que la plupart des études antérieures n'ont considéré que l'acquisition de la réponse conditionnée, nous avons pris en compte quatre types de réponses qu'il est possible d'enregistrer, pour chaque abeille testée, au cours de la procédure de conditionnement :

- les réponses spontanées : réponses lors de la première présentation d'une odeur, avant toute association avec un renforcement alimentaire.
- l'acquisition de la réponse conditionnée : réponses au cours d'une succession d'associations odeur-renforcement alimentaire.
- la résistance de la réponse à l'extinction : réponses au cours d'une succession de présentations, sans renforcement alimentaire, de l'odeur préalablement apprise.
- la capacité de discrimination : réponses à un stimulus odorant non renforcé présenté en alternance avec l'odeur de conditionnement.

RÉSULTATS

Tous les facteurs testés dans nos expériences influencent une ou plusieurs réponses enregistrées au cours d'un conditionnement olfactif de l'extension du proboscis (tableau 1). En premier abord, il apparaît que les réponses individuelles varient fortement en fonction des colonies. Il s'agit toutefois d'un effet global et l'influence de la colonie peut recouvrir diverses sources réelles de variation : différences génétiques et physiologiques évidemment, mais aussi exposition passive aux odeurs de la ruche à tous les stades du développement et de la vie imaginaire de l'abeille.

Globalement, la capacité de discrimination et la résistance de la réponse conditionnée à l'extinction sont principalement influencées par les facteurs intrinsèques que sont la caste, le sexe, l'âge des abeilles, et le génotype. A l'inverse les réponses spontanées et la performance d'acquisition varient beaucoup en fonction de la saison, et sont probablement dépendantes de facteurs tels que l'exposition à des odeurs de l'environnement, qui pourraient modifier la prédisposition à répondre à un signal odorant. L'acquisition est d'ailleurs affectée expérimentalement par une exposition passive au début de la vie imaginaire.

	Facteurs de variabilité					
	Colonie	saison	expérience précoce (imaginale)	âge	génotype (lignées paternelles)	sexe, caste
Réponses spontanées	+++	+++	pas d'effet	+++	pas d'effet	+
Acquisition	+++	+++	++	++	+	++
Discrimination	+++	pas d'effet	?	?	pas d'effet	++
Résistance à l'extinction	+++	pas d'effet	pas d'effet	+++	+	+

Tableau 1 : Influences respectives de divers facteurs sur les performances individuelles d'apprentissage olfactif des abeilles (les points d'interrogation correspondent à des situations qui n'ont pas été testées).

CONCLUSION

Nos résultats permettent de proposer un modèle intégrant l'influence de divers facteurs sur les performances d'apprentissage, afin d'expliquer comment, *via* les processus cognitifs sur lesquels ils agissent majoritairement, ces facteurs peuvent conduire à une modulation fine des réponses de chaque individu. Les principes peuvent en être résumés comme suit :

- il existerait un état de base (prédisposition à l'apprentissage) présentant une variabilité individuelle faible. Les variations des performances observées au niveau inter-colonial permettent de suggérer un déterminisme génétique de cet état de base, qui pourrait être un contrôle direct du développement du système nerveux olfactif.
- des facteurs extrinsèques, tels que la saison ou l'environnement olfactif de la colonie, peuvent moduler l'état de base notamment *via* des expositions passives à des odeurs. Cela se traduit par des variations du taux de réponses spontanées et de l'aptitude au conditionnement (acquisition).
- enfin la capacité de discrimination, qui contribue à la spécificité du conditionnement, et la résistance à l'extinction sont influencés par des mécanismes physiologiques, incluant des aspects motivationnels et comportant vraisemblablement une base génétique. Ce niveau de modulation permettrait d'adapter plus finement les performances d'apprentissage olfactif de chaque individu.

La réalisation de diverses activités, telles que les soins à la reine ou le butinage, fait intervenir des processus d'apprentissage et de reconnaissance d'odeurs. Comme l'avait déjà suggéré Brandes (1991), nos résultats indiquent qu'il existe probablement un lien entre la variabilité des performances d'apprentissage et la spécialisation comportementale des ouvrières, qui est à la base du partage des tâches au sein de la colonie. En effet, de nombreux éléments suggèrent qu'il existe une relation entre les variations des capacités d'apprentissage olfactif et les activités de chaque individu à un moment donné de sa vie.

RÉFÉRENCES

- Bhagavan S., Benatar S., Cobey S., Smith B.H. 1994. Effect of genotype but not of age or caste on olfactory learning performance in the honey bee, *Apis mellifera*. *Anim. Behav.*, 48, 1357-1369.
- Bitterman M.E., Menzel R., Fietz A., Schäfer S., 1983. Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*). *J. Comp. Psychol.*, 97, 107-119.

- Brandes C., 1991. Genetic differences in learning behavior in honeybees (*Apis mellifera capensis*). *Behav. Genet.*, 21, 271-294.
- Brandes C., Menzel R., 1990. Common mechanisms in proboscis extension conditioning and visual learning revealed by genetic selection in honeybees (*Apis mellifera capensis*). *J. Comp. Physiol. A*, 166, 545-552.
- Getz W.M., Smith K.B., 1987. Olfactory sensitivity and discrimination of mixtures in the honeybee *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol. A*, 160, 239-245.
- Laloi D., Roger B., Blight M.M., Wadhams L.J., Pham-Delègue M.H., 1999. Individual learning ability and complex odor recognition in the honey bee, *Apis mellifera* L. *J. Insect Behav.*, 12, 585-597.
- Laloi D., Gallois M., Roger B., Pham-delègue M.H., 2001. Changes with age in olfactory conditioning performance of worker honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 32, 231-242.
- Menzel R., Greggers U., Hammer M., 1993. Functionnal organization of appetitive learning and memory in a generalist pollinator, the honey bee. In : *Insect Learning*. Papaj D.R., Lewis A.C. (eds), Chapman and Hall, New-York, pp. 79-125.
- Pham-Delègue M.H., De Jong R., Masson C., 1990. Effet de l'âge sur la réponse conditionnée d'extension du proboscis chez l'abeille domestique. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 310, 527-532.
- Ray S., Ferneyhough B., 1997a. The effects of age on olfactory learning and memory in the honey bee *Apis mellifera*. *NeuroReport*, 8, 789-793.
- Ray S., Ferneyhough B., 1997b. Seasonal variation of proboscis extension reflex conditioning in the honey bee (*Apis mellifera*). *J. Apicult. Res.*, 36, 108-110.
- Sandoz J.C., Roger B., Pham-Delègue M.H., 1995. Olfactory learning and memory in the honeybee : comparison of different classical conditioning procedures of the proboscis extension response. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*, 318, 749-755.
- Smith B.H., Abramson C.I., Tobin T.R., 1991. Conditional withholding of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*) during discriminative punishment. *J. Comp. Psychol.* 105, 345-356.

VARIABILITE DU COMPORTEMENT DE RECRUTEMENT PAR LES DANSES
CHEZ L'ABEILLE *APIS MELLIFERA*

F.-X. Dechaume-Moncharmont¹, O. Pons² M.-H. Pham-Delègue¹

¹ Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (LNCI), INRA, La Guyonnerie, BP23, 91440 Bures-sur-Yvette, France.

² Unité de Biométrie, INRA, 78352 Jouy-en-Josas cedex, France

Le butinage collectif chez l'Abeille *Apis mellifera* repose sur des phénomènes coopératifs très structurés. Lorsqu'elle revient à la colonie, une butineuse qui a découvert une source de nourriture de bonne qualité éloignée de plus de 50 m de la colonie peut indiquer aux autres ouvrières la direction et la distance de cette source par la danse de recrutement alimentaire (von Frisch 1967). Ce comportement de recrutement permet à la colonie de focaliser rapidement son effort de butinage sur une source alimentaire de bonne profitabilité. Une grande variabilité de comportement est cependant observée à l'échelle de la colonie. Au sein du groupe de butineuses exploitant une ressource, seule une minorité d'ouvrières dansent. La majorité des abeilles se contentent de butiner le nectar et de revenir à la ruche pour le transmettre aux déchargeuses avant de repartir à nouveau vers la source de nourriture. Parmi les danseuses, les abeilles ne dansent pas à chacun de leurs retours. La probabilité de danser varie en fonction des individus mais est aussi fonction de la profitabilité de la source et des interactions avec les autres ouvrières de la colonie. Ainsi en cas de saturation de la capacité de déchargement de la colonie (perçue par la butineuse lors des délais d'attente de déchargement induit par un déséquilibre dans le ratio butineuses /déchargeuses), l'ouvrière limite la fréquence ou la durée des danses de recrutement. Si les mécanismes de transmission d'informations par la danse en huit sont bien connus, peu d'études prennent en compte la variabilité dans le comportement de danse.

Le but de ce travail est de rendre compte de la variabilité des comportements individuels impliqués dans le butinage et de voir s'ils peuvent être influencés par la qualité de la source de nectar. L'étude de la danse directionnelle pose cependant un certain nombre de problèmes expérimentaux. La danse en huit n'intervient que pour des sources éloignées d'au moins 50 mètres de la colonie. Les expérimentations doivent alors se faire en extérieur. Cependant les capacités de vol de l'abeille lui permettent d'exploiter des sources naturelles de nectar à plusieurs kilomètres de la ruche. En travaillant en extérieur, l'expérimentateur ne peut contrôler facilement le flux de nectar dans la colonie ni le nombre ou la qualité des sources exploitées. Les ouvrières se focalisent en effet souvent sur des sources de nectar naturelles et délaissent les fleurs artificielles. Au cours de cette étude nous avons cherché à travailler en situation contrôlée. Une ruchette monocadre vitrée est introduite en cage de vol extérieure (2 x 2 x 2.5 m). Les ouvrières sont entraînées à venir butiner sur une source artificielle. Les abeilles ne peuvent exploiter que cette unique source. Lors de leur première visite sur la fleur artificielle, elles sont capturées et marquées au moyen d'une pastille colorée numérotée. Pour une source à proximité de la colonie, aucune danse directionnelle n'est observée. Afin de pouvoir étudier les fréquences des danses en huit, nous avons cherché à leurrer les abeilles sur la distance de la source.

Pour cela, nous sommes appuyé sur les travaux de Srinivasan *et al.* (2000) qui ont montré que l'abeille estime la distance parcourue en vol par l'intégration du flux optique induit par son déplacement. Cette démonstration a été réalisée en contraignant des abeilles à voler dans un étroit tunnel tapissé de repères visuels contrastés. Ainsi, alors qu'elles n'ont franchi que quelques mètres, elles ont expérimenté un flux optique correspondant à un défilement du paysage lors d'un vol de plusieurs dizaines de mètres. Dans ces conditions, elles surévaluent grandement la distance qu'elles ont parcouru, et donnent des indications de distances erronées à leurs congénères en dansant en huit comme pour une source située à

plus de 100 m. En utilisant un tunnel analogue à celui décrit par ces auteurs, nous avons pu leurrer les butineuses sur la distance entre la source et la colonie, et enregistrer les fréquences de danses au cours d'expérimentations de 4 heures et pour un grand nombre d'individu. Pour chaque individu nous avons enregistré ses fréquences de visites sur la source et le nombre de danses effectuées. Ces longues séquences comportementales ont été analysées au moyen de chaîne de Markov cachée. Nous avons notamment cherché à mettre en avant l'impact d'une modification de la qualité du nectar sur la probabilité de danser des ouvrières.

REFERENCES

von Frisch, K. (1967). *The dance language and orientation of bees*. Cambridge, Massachusetts, The Belknap Press of Harvard Univ. Press.

Srinivasan, M. V., S. Zhang, et al. (2000). "Honeybee navigation: nature and calibration of the "odometer"." *Science* 287: 851-854.

CARACTERISATION DE L'EFFET INHIBITEUR DES BUTINEUSES SUR LE
DEVELOPPEMENT COMPORTEMENTAL DES JEUNES OUVRIERES
D'UNE COLONIE D'ABEILLES, *APIS MELLIFERA* L.

I. Leoncini¹, G. Costagliola², J.M. Becard¹, Y. Le Conte¹, G.E. Robinson³

¹UMR INRA-UAPV, Unité d'Ecologie des Invertébrés, Laboratoire de Biologie de l'Abeille, Site Agroparc, Domaine Saint-Paul, 84 914 Avignon Cedex 9, France.

²UMR-INRA-GRAPPA, Site Agroparc, Domaine Saint-Paul, 84 914 Avignon Cedex 9, France.

³Department of Entomology, University of Illinois, 505 S Goodwin Ave., Urbana, IL 61801.

RESUME

Des travaux antérieurs ont mis en évidence que les butineuses d'une colonie d'abeilles inhibent le développement comportemental des ouvrières plus jeunes, empêchant ainsi tout butinage précoce. De plus, cette inhibition sociale est transmise par contact physique entre les butineuses et les autres ouvrières de la colonie, ce qui suggère l'existence d'une phéromone inhibitrice.

Nous tentons de caractériser cet inhibiteur émis par les butineuses en utilisant deux approches complémentaires chimique et comportementale.

Les analyses chimiques en GC/MS nous ont permis de mettre en évidence un ester d'acide gras, l'oléate d'éthyle, majoritaire chez les butineuses par rapport aux autres ouvrières de la colonie. L'effet de l'oléate d'éthyle a été testé sur des abeilles d'âge connu placées sur le terrain dans de petites colonies expérimentales. L'observation de l'âge au butinage indique que la présence de la molécule empêche le butinage précoce des abeilles.

L'oléate d'éthyle pourrait donc faire partie de l'inhibiteur du développement des jeunes ouvrières émis par les butineuses et ce signal serait donc bien phéromonal.

INTRODUCTION

Dans une colonie d'abeilles domestiques il existe un polyéthisme lié à l'âge entre les ouvrières. En effet, au cours des trois premières semaines de sa vie adulte, l'ouvrière exécute des tâches d'intérieur puis elle sort accomplir les activités d'extérieur comme la garde et surtout le butinage (Winson, 1987).

Cependant, en fonction des besoins de la colonie, le polyéthisme lié à l'âge présente une grande flexibilité. Ainsi le développement comportemental de chaque ouvrière peut s'accélérer, se ralentir, voire s'inverser au cours de son existence (Robinson, 1992).

Afin d'expliquer certains mécanismes de régulation du polyéthisme lié à l'âge, Huang et Robinson (1992) ont émis l'hypothèse de l'existence d'un inhibiteur du développement comportemental émis par les ouvrières elles-mêmes. Cet inhibiteur, encore inconnu, serait produit en forte quantité par les abeilles les plus âgées de la colonie, les butineuses. Ce facteur serait transmis par contact aux autres ouvrières et freinerait leur développement (Huang et Robinson, 1992; 1996 et 1998).

L'objectif de cette étude est d'identifier cet inhibiteur du développement comportemental des ouvrières émis par les butineuses.

Pour cela nous avons comparé les profils chimiques de butineuses et de nourrices en GC/MS afin de voir si certaines molécules sont spécifiques des butineuses. Les résultats nous ont conduit à tester l'effet d'une molécule majoritaire chez les butineuses sur le développement comportemental d'ouvrières plus jeunes.

MATERIEL ET METHODES

1. Analyses chimiques :

Les profils chimiques des butineuses et des nourrices ont été comparés en GC/MS. Chaque extrait biologique analysé correspond à 10 abeilles butineuses ou nourrices. Les butineuses ont été prélevées à l'entrée de la colonie et les nourrices à l'intérieur sur du jeune couvain.

Nous avons analysé les broyats des trois parties du corps des abeilles : la tête, le thorax et l'abdomen.

Après broyage et centrifugation, le surnageant est récupéré et fractionné sur colonne de Silice. Différentes fractions sont réalisées en fonction des proportions Hexane/Ether du mélange d'éluion. La seconde fraction correspond à la sortie des esters d'acide gras méthyleiques et éthyleiques recherchés.

¼ de la fraction est ensuite concentré à 100 µl puis 1µl est injecté en GC et en GC/MS.

La quantification des molécules s'appuie sur la méthode des standards internes.

2. Expériences comportementales :

Afin d'apprécier l'effet de la molécule majoritaire chez les butineuses sur le développement comportemental des ouvrières, nous avons réalisés des expériences comportementales en conditions naturelles. Les abeilles sont placées dans de petites colonies homogènes dans des petites ruches (40 cm x 30 cm x 30 cm). Chaque colonie regroupe trois cohortes différentes d'abeilles :

-500 butineuses

-500 nourrices

-500 abeilles émergentes marquées.

Pour obtenir les abeilles d'un jour de vie adulte, des cadres de couvain operculé prêt à éclore ont été retirés d'une colonie et placé dans une étuve à 34°C et 55% d'humidité relative. Les abeilles qui émergent sont marquées sur le thorax dès le premier jour de leur vie adulte.

Les butineuses et les nourrices sont capturées dans la colonie d'origine à l'aide d'un aspirateur portable. Les butineuses sont aspirées à l'entrée du nid et les nourrices à l'intérieur sur des rayons de jeune couvain.

Le traitement correspond à une certaine quantité de la molécule étudiée mélangée à 1 gramme de candi (mélange de 70% de sucre et de 30% de miel).

L'étude de l'effet de la molécule sur l'âge du début du butinage des abeilles est réalisée sur un lot de trois colonies différentes :

1-une est traité avec une dose de 0.1% de la molécule

2-une autre reçoit une dose de 1% de la molécule

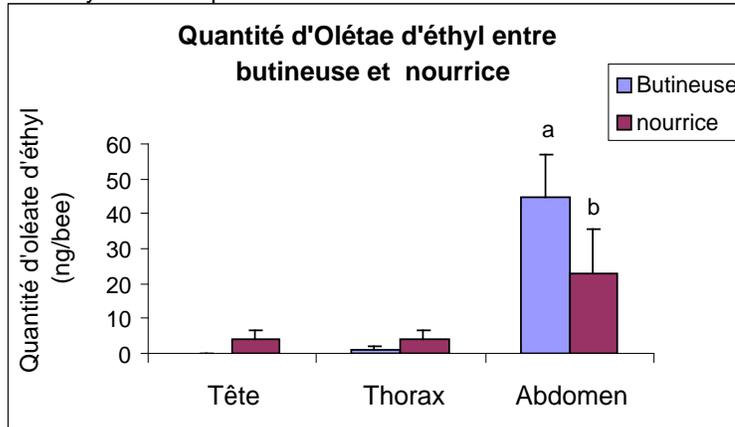
3-la colonie témoin qui ne reçoit que du candi

Le traitement est administré dans chaque colonie une fois par jour et la colonie témoin reçoit un gramme de candi pur.

L'expérience a été répétée 5 fois.

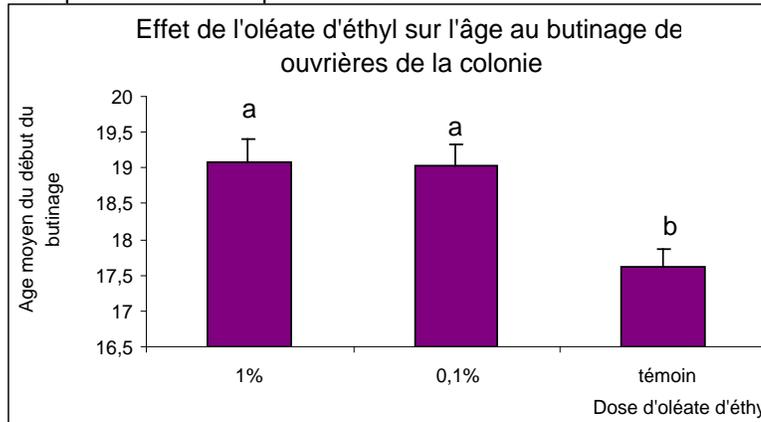
RESULTATS

1. Analyses chimiques :



Chez les nourrices comme chez les butineuses, l'abdomen renferme la plus forte concentration d'oléate d'éthyle. Cependant, cette molécule se retrouve en majorité dans l'abdomen des butineuses, et la différence est significative entre nourrices et butineuses (Analyse de variance, $P=0.04$).

2. Expériences de comportement :



4 répétitions sur cinq montrent une claire augmentation de l'âge au butinage dans les colonies ayant été traitées avec de l'oléate d'éthyle par rapport aux témoins. Les résultats globaux des 5 séries qui sont ici présentés révèlent un effet significatif du traitement par rapport aux témoins (ANOVA, dose 1% comparée avec les témoins, $P=0.0005$ et dose de 0.1% comparée avec les témoins, $P=0.0007$). De plus aucun effet dose ne ressort car les deux traitements : oléate d'éthyle à 0.1% ou à 1% ne présentent pas d'effet sur l'âge au butinage différent ($P=0.9239$).

CONCLUSION

Cette étude apporte de nouveaux résultats sur l'identification de l'inhibiteur du développement comportemental émis par les butineuses. En effet, un ester d'acide gras,

l'oléate d'éthyle, a été trouvé en plus grande quantité dans l'abdomen des butineuses. De plus, les résultats des expériences sur le comportement suggèrent que l'oléate d'éthyle inhibe le butinage précoce des abeilles de la colonie. L'oléate d'éthyle semble donc bien être impliqué dans l'effet inhibiteur des butineuses sur le développement des ouvrières plus jeunes de la colonie. Cet effet inhibiteur confirme l'hypothèse de l'existence d'un inhibiteur du développement comportemental émis par les ouvrières (Huang et Robinson, 1992; 1996 et 1998).

L'oléate d'éthyle est un des dix composés de la phéromone de couvain chez l'abeille (Le Conte et al., 1990). Celle-ci est une phéromone modificatrice car elle inhibe le développement comportemental des ouvrières de la colonie. En effet, elle provoque la diminution du taux d'hormone juvénile chez l'abeille qui est une hormone qui influence le développement et empêche tout butinage précoce (Le Conte et al., 1990).

De plus, l'oléate d'éthyle possède un effet incitateur sur la reconnaissance des larves (Le Conte et al., 1994) et un effet modificateur sur le développement des glandes hypopharyngiennes des nourrices qui produisent la nourriture larvaire (Mohammedi et al., 1996). Or le développement des glandes hypopharyngiennes est sous la dépendance de l'hormone juvénile d'où l'hypothèse que l'oléate d'éthyle agit sur la production de la JH.

Par conséquent, l'inhibition sociale transmise par les butineuses au autres membres de la colonie serait transmise par au moins une molécule chimique et constituerait donc une phéromone modificatrice. Ce serait la troisième phéromone de ce type mise en évidence chez les abeilles, après la phéromone sécrétée par les glandes mandibulaires de la reine (Winston et Slessor, 1992) et celle émise par le couvain. Et ce serait la quatrième phéromone modificatrice connue à ce jour dans le règne animal (Le Conte et al., 2001).

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout particulièrement Thomas Ojardias et Damien Bénas pour leur précieuse aide ainsi que Didier Crauser pour son soutien en apiculture.

REFERENCES

- Huang, Z.Y., Robinson, G.E., 1992. Honeybee colony integration: worker-worker interactions mediate hormonally regulated plasticity in division of labour. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89, 11726-11729.
- Huang, Z.Y., Plettner, E., Robinson, G.E., 1998. Effects of social environment and worker mandibular glands on endocrine-mediated behavioral development in honey bees. *J. Comp. Physiol. A.* 183, 143-152.
- Le Conte, Y., Arnold, G., Trouiller, J., Masson, C., 1990. Identification of a brood pheromone in honey bees. *Naturwissenschaften*; 77, 334-336.
- Le Conte, Y., Sreng, L., Trouiller, J., 1995. The Recognition of larvae by Worker Honeybees. *Naturwissenschaften*; 81, 462-465.
- Le Conte, Y., Mohammedi, A., Robinson, G.E., 2001. Primer effects of a brood pheromone on honeybee behavioural development. *Proc. R. soc. Lond. B.* 268, 163-168.
- Mohammedi, A., Crauser, D., Paris, A., Leconte, Y., 1996. Effect of a brood pheromone on honeybee hypopharyngeal glands. *C. R. Acad. Sci.* 319, 769-772.
- Robinson, G.E., 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 637-665
- Winston, M.L., 1987. The biology of the Honeybee. Harvard Univ Press, Cambridge, MA.
- Winston, M.L., Slessor, K.N., 1992. The essence of royalty: honey bee queen pheromone. *Am. Sci.* 80, 374-385.

LA PERCEPTION VISUELLE CHEZ LA FOURMI *MYRMICA SABULETI***M.-C. Cammaerts**

Laboratoire de biologie animale et cellulaire, Faculté des Sciences, CP 160/11, Université Libre de Bruxelles, 50 Av. F. D. Roosevelt, 1050 Bruxelles.

INTRODUCTION

Le but du présent travail fut d'étudier différents points de la perception visuelle chez une fourmi, *Myrmica sabuleti*, dont le comportement témoigne qu'elle dispose d'une telle perception. Les points étudiés concernèrent, notamment, la capacité de distinguer des éléments de taille différente et l'étendue du champ de vision.

METHODES

La perception visuelle de *M. sabuleti* fut étudiée par le biais de conditionnements classiques, sur plusieurs sociétés expérimentales de composition similaire, maintenues dans des tubes en verre posés dans des bacs servant d'aire de récolte. Dans ces bacs, des morceaux de blattes étaient régulièrement distribués, mais aucune nourriture sucrée n'était offerte, le stimulus inconditionnel (SIC) étant une solution aqueuse sucrée. Pour chaque point de la perception visuelle étudié, six nids expérimentaux furent conditionnés chacun à un stimulus conditionnel (SC) précis grâce à une succession de 12 renforcements. Ces nids furent ensuite soumis d'abord à chacun des cinq stimuli auxquels ils n'avaient pas été conditionnés, ensuite à leur propre SC. Au cours de la dernière expérience, relative à l'étude de la distance de perception, les nids furent soumis, deux fois de suite, à leur SC présentés à différentes distances, en commençant par la plus grande distance (ceci est ré-expliqué à l'endroit opportun). La réponse des ouvrières (c'est-à-dire le nombre d'ouvrières venant en deux minutes à l'endroit où était posé le SIC) permet d'apprécier la faculté des fourmis à discerner les stimuli utilisés. D'autres renseignements (par exemple, le déroulement des conditionnements) sont donnés dans le poster.

RESULTATS

De nos résultats (Tab.1), il ressort clairement que les ouvrières de *M. sabuleti* perçurent de manière discriminative :

- 1) des segments verticaux de 5 mm de large, et longs de 1, 2, 3, 5, 10, 15 cm. Les segments les moins bien distingués furent ceux de 10 et 15 cm de long.
- 2) des segments verticaux de 3 cm de long, et larges de 1, 2, 3, 5, 10, 15 mm. Les fourmis conditionnées à un segment de 15 mm de large généralisèrent quelque peu leur réponse à un segment large de 10 mm.
- 3) des segments horizontaux de 5 mm de large, et longs de 1, 2, 3, 5, 10, 15 cm. Les fourmis généralisèrent un peu leur réponse au segment de longueur juste supérieure à celle du segment auquel elles avaient été conditionnées.
- 4) des segments horizontaux de 3 cm de long, et larges de 1, 2, 3, 5, 10, 15 mm, sans présenter de généralisation.
- 5) des segments horizontaux larges de 5 mm et longs de 3 cm, situés à 1, 2, 3, 5, 10 cm du sol, dans un plan vertical. Les fourmis ont un peu généralisé leur réponse à un segment situé à une hauteur juste inférieure à laquelle se trouvait le segment auquel elles furent conditionnées. Elles ne perçurent pas un segment horizontal de 5 mm de large, de 3 cm de long, situé à 15 cm du sol dans un plan vertical.

Tableau 1. Nombres d'ouvrières de *M. sabuleti* venant en deux minutes à l'endroit où était le stimulus inconditionnel (SIC ; eau sucrée) en l'absence de stimulus (contrôle ; nombres en italique) et en présence d'un stimulus voisin ou identique au stimulus conditionnel (SC).

1) Stimuli : segments verticaux de 5 mm de large et de diverses longueurs

Nid	Longueur du SC (cm)	Contrôle (pas de stimulus)	Longueur du stimulus présenté (cm)					
			1	2	3	5	10	15
A	1	<i>2</i>	11	4	2	3	3	1
B	2	<i>0</i>	1	3	1	0	0	1
C	3	<i>2</i>	1	2	8	1	2	2
D	5	<i>2</i>	1	2	2	6	4	2
E	10	<i>1</i>	1	1	0	3	7	3
F	15	<i>0</i>	1	1	1	0	3	4

2) Stimuli : segments verticaux de 3 cm de long et de diverses largeurs

Nid	Largeur du SC (mm)	Contrôle (pas de stimulus)	Largeur du stimulus présenté (mm)					
			1	2	3	5	10	15
A	1	<i>0</i>	5	1	1	1	0	0
B	2	<i>0</i>	0	3	1	0	1	0
C	3	<i>0</i>	0	1	3	1	0	0
D	5	<i>0</i>	0	0	2	4	1	0
E	10	<i>0</i>	1	2	1	2	7	3
F	15	<i>0</i>	1	1	1	1	2	4

3) Stimuli : segments horizontaux de 5 mm de large et de diverses longueurs

Nid	Longueur du SC (cm)	Contrôle (pas de stimulus)	Longueur du stimulus présenté (cm)					
			1	2	3	5	10	15
A	1	<i>0</i>	11	4	2	1	1	1
B	2	<i>0</i>	0	3	2	1	1	0
C	3	<i>1</i>	0	1	4	2	1	1
D	5	<i>1</i>	2	2	2	8	4	5
E	10	<i>3</i>	2	2	3	3	13	7
F	15	<i>5</i>	4	3	3	4	4	12

4) Stimuli : segments horizontaux de 3 cm de long et de diverses largeurs

Nid	Largeur du SC (mm)	Contrôle (pas de stimulus)	Largeur du stimulus présenté (mm)					
			1	2	3	5	10	15
A	1	<i>1</i>	8	2	2	2	1	2
B	2	<i>1</i>	1	6	1	1	1	1
C	3	<i>2</i>	2	4	9	3	3	3
D	5	<i>4</i>	3	4	6	16	4	4
E	10	<i>0</i>	1	0	1	2	4	2
F	15	<i>0</i>	0	1	1	2	2	5

5) Stimuli : segments horizontaux (5 mm de large, 3 cm de long) situés dans un plan vertical à différentes distances du sol

Nid	Distance du sol du SC(cm)	Contrôle (pas de stimulus)	Distance du sol du stimulus présenté (cm)						
			1	2	3	5	10	15	
A	1	3	8	4	5	4	2	3	
B	2	1	5	6	2	1	2	2	
C	3	0	3	5	9	2	1	0	
D	5	2	3	3	5	14	3	2	
E	10	3	4	4	5	6	11	4	
F	15	0	1	1	0	0	0	0	

6) Stimuli : segments verticaux (5 mm de large, 3 cm de long) différemment inclinés par rapport au sol

Nid	Inclinaison du SC (deg. ang.)	Contrôle (pas de stimulus)	Inclinaison du stimulus présenté (deg. ang.)						
			90	60	45	30	15	0	
A	1	0	8	2	2	1	1	0	
B	2	2	1	3	1	0	0	0	
C	3	0	0	1	4	1	0	0	
D	5	0	0	0	1	4	1	0	
E	10	0	0	0	0	2	8	1	
F	15	1	1	1	0	0	2	8	

7) Stimuli : cercles de différents diamètres, situés dans un plan horizontal, à 8 cm du sol

Nid	Diamètre du SC (cm.)	Contrôle (pas de stimulus)	Diamètre du stimulus présenté (cm.)						
			1	2	3	5	10	15	
A	1	1	8	4	3	3	3	2	
B	2	2	1	9	3	1	1	2	
C	3	7	6	8	14	9	6	6	
D	5	5	6	6	7	24	7	8	
E	10	0	1	2	1	3	16	5	
F	15	1	1	2	4	5	5	18	

Tableau 2. Nombres d'ouvrières de *M. sabuleti* venant en deux minutes à l'endroit où était le stimulus inconditionnel (SIC, eau sucrée) en l'absence de stimulus (contrôle, nombres en italique) et en présence du stimulus conditionnel (SC, cercle noir d'un diamètre donné) présenté horizontalement au-dessus d'elles, à différentes distances, et ce, à deux reprises (premier et second essai).

Nid	Diamètre du SC (cm)	essai	Contrôle Pas de stimulus	Distance de présentation du SC (cm)										
				100	75	55	40	30	25	21	18	15	12	10
A	1	1	3	3	3	4	4	6	5	4	4	6	12	25
		2	3	2	2	2	1	2	2	3	3	3	8	13
B	2	1	4	4	5	5	5	7	6	16				
		2	3	2	1	2	2	1	5	11				
C	3	1	1	1	2	3	1	9						
		2	4	2	2	1	2	9						
D	5	1	0	1	0	4	7							
		2	1	1	2	8	14							
E	10	1	1	4	7									
		2	4	16	22									
F	15	1	0	22										
		2	7	31										

- 6) des segments verticaux larges de 5 mm, longs de 3 cm, distants de 5 mm du sol, et inclinés (vers l'arrière) par rapport au sol, de 90, 60, 45, 30, 15, 0 degré. Les fourmis perçurent donc un segment de 5 mm de large, de 3 cm de long, posé à plat sur le sol. Elles ont généralisé à peine leur réponse aux segments dont les inclinaisons étaient juste voisines de celle du segment auquel elles avaient été conditionnées.
- 7) des cercles de 1, 2, 3, 5, 10, 15 cm de diamètre, situés dans un plan horizontal à 8 cm du sol. Les fourmis ont donc vu au-dessus d'elles. Elles ont légèrement généralisé leur réponse à un cercle de diamètre juste supérieur à celui du cercle auquel elles avaient été conditionnées.

L'étude de la distance de perception (abordée au point 5 ci-dessus) fut réalisée de manière plus précise en conditionnant les fourmis de six nids expérimentaux à des cercles de dimensions précises (une dimension par nid) présentés au-dessus d'elles, dans un plan horizontal à 8 cm du sol, puis en leur représentant ces mêmes cercles dans un plan horizontal, éloignés d'abord de 100 cm du sol, puis de distances de plus en plus courtes, jusqu'à l'apparition d'une réaction significative de la part des fourmis. Cette dernière expérience fut répliquée.

Les résultats des deux expériences furent concordants (Tab.2). Les fourmis perçurent un cercle de 1, 2, 3, 5, 10, 15 cm de diamètre, respectivement à une distance de 10-11, 22, 30-32, 50, 100, et de plus de 100 cm. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux obtenus en utilisant des segments horizontaux présentés dans un plan vertical à des hauteurs différentes (point 5 ci-dessus).

Le poster montre les différents stimuli utilisés et détaille la concordance entre les résultats des deux études relatives à la distance de perception.

CONCLUSION

Les ouvrières de *M. sabuleti* voient tout autour d'elles, au-dessus et au sol devant elles y compris, à raison d'une aire de 1 cm² de surface à une distance d'environ 10 cm. Cette vision est assez précise puisque des éléments de 1, 2, 3, 5, 10, 15 mm ainsi que de 1, 2, 3, 5, 10, 15 cm sont discriminés. Il est probable que, chez l'ouvrière de *M. sabuleti*, chaque œil permette une vision dans une demi sphère dont il est le centre, et que l'espace commun aux deux demi sphères soit vu en perspective.

FACTEURS INFLUENÇANT LE CHOIX DE LA STRATEGIE PREDATRICE CHEZ LA
FOURMI *GNAMPTOGENYS SULCATA* (PONERINAE, ECTATOMMINI)

S. Daly-Schveitzer¹, G. Beugnon¹, J.-P. Lachaud^{1,2}

¹ Laboratoire d'Éthologie et Cognition Animale, FRE-CNRS 2382, Université Paul-Sabatier, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse cedex 04, France.

² ECOSUR, Apdo Postal 36, Tapachula, Mexique.

RESUME

Les fourrageuses de la fourmi ponérine néotropicale *Gnamptogenys sulcata* (Fr. Smith) peuvent utiliser deux stratégies prédatrices : une stratégie solitaire et une stratégie collective. Cette étude a visé à préciser les facteurs propres aux proies et aux fourmis, qui peuvent influencer le choix individuel d'une stratégie par rapport à l'autre. Un approvisionnement quotidien en proies (larves de *Gryllus assimilis* et de *Tenebrio molitor*) de poids et de taille connus, nous a permis de déterminer les seuils de déclenchement des deux stratégies. Jusqu'à 16 à 20 fois le poids d'une fourrageuse, c'est la stratégie solitaire qui est utilisée ; pour un poids supérieur et jusqu'à 60 fois le poids d'une ouvrière, c'est la stratégie collective. Bien que poids et taille soient fortement corrélés de façon logarithmique ($R^2 = 0,93$ ou $0,94$ suivant le type de proie), le poids apparaît comme le facteur principal de déclenchement du choix de la stratégie. Toutefois ces seuils sont susceptibles de varier en fonction de l'état motivationnel des fourmis. Un jeûne de 24 heures entraîne un décalage du seuil de déclenchement de la stratégie collective vers des poids supérieurs à la normale. Ce décalage persiste pendant plusieurs jours, même après retour à une alimentation quotidienne régulière.

INTRODUCTION

Chez les fourmis, l'adaptation au milieu passe par la mise en place de stratégies de fourrage suffisamment flexibles pour pouvoir exploiter de façon optimale les ressources présentes (voir revue par Hölldobler et Wilson, 1990). Dans ce cadre, la ponérine néotropicale *Gnamptogenys sulcata* est une espèce intéressante quoique peu étudiée. Elle est fréquente dans les plantations de café et de cacao du sud du Mexique (Lachaud et Garcia Ballinas, 2001) et notamment dans la région de Tapachula (Chiapas) d'où proviennent les colonies utilisées dans cette étude. Monomorphes et de petite taille (5-6 mm; 2,2-2,8 mg), les fourrageuses sont considérées comme solitaires (Lattke, 1995 ; JPL, obs. pers.). Au cours d'un travail antérieur (Daly-Schveitzer et coll., 2001), on a pu montrer que l'organisation sociale d'une colonie de cette espèce se caractérise, entre autres, par un très faible nombre d'individus réalisant des comportements de fourrage. Ces fourrageuses, très spécialisées, peuvent utiliser deux types de stratégie prédatrice : soit une stratégie solitaire, soit une stratégie collective faisant intervenir le recrutement d'un groupe d'ouvrières pour le transport de la proie grâce au dépôt d'une piste chimique (Daly-Schveitzer et coll., 2001).

Afin de déterminer les facteurs pertinents contrôlant le déclenchement du comportement de recrutement, nous avons, dans un premier temps, étudié le rôle des caractéristiques physiques (poids, taille) des proies, déclenchant l'une ou l'autre de ces stratégies. Puis, dans un second temps, afin de tester la flexibilité du comportement de prédation en fonction de l'état motivationnel des fourrageuses, nous avons étudié l'effet d'un jeûne de 24 heures sur les modifications éventuelles du seuil de déclenchement de la stratégie collective.

MATERIEL ET METHODES

Deux colonies monogynes (60 et 40 ouvrières) ont été utilisées. Elles étaient installées dans une pièce thermostatée (température : $25 \pm 1^\circ\text{C}$; taux d'humidité : $60 \pm 5\%$) soumise à une photopériode de 12 heures de lumière suivies de 12 heures d'obscurité. Les nids en plâtre étaient placés dans des aires de chasse fluonnées de 30 x 45 cm. Les fourmis avaient un accès permanent à un distributeur d'eau et étaient approvisionnées régulièrement (au moins 6 fois par semaine) avec des proies fraîches consistant en des larves de *Tenebrio molitor* et de *Gryllus assimilis*. Après avoir été pesée et mesurée, chaque proie testée était toujours placée, vivante et libre de mouvements, au centre de l'aire de chasse.

Pour l'ensemble des expériences, nous avons limité l'apport de nourriture à une valeur de $165 \pm 16,5$ mg de proies par jour de test, de manière à ne pas aboutir à un effet de saturation alimentaire des colonies et à ne pas entraîner des différences de motivation entre les différents jours de test.

RESULTATS

a) Influence des caractéristiques physiques des proies dans le choix de la stratégie, en conditions d'approvisionnement régulier.

Expérience 1 : L'étude des séquences de prédation (64 pour chaque type de proie), réalisée sur des larves de *Tenebrio molitor* et de *Gryllus assimilis* vivantes, libres et appartenant à différentes classes de taille et de poids, a permis de préciser les limites de poids et de taille correspondant à l'utilisation de chaque stratégie. Tant sur *Gryllus assimilis* que sur *Tenebrio molitor*, la stratégie solitaire est utilisée pour des poids allant jusqu'à 16 voire 20 fois le poids d'une fourrageuse et la stratégie collective pour des poids allant jusqu'à 60 fois ce poids. La séquence de prédation réalisée sur *Tenebrio molitor* a servi de témoin pour l'expérience 2.

Expérience 2 : Afin de pouvoir distinguer l'influence du facteur poids de la proie par rapport à sa taille, nous avons fixé à une éponge, à l'aide d'une minutie, 20 larves de *Tenebrio molitor* présentant une taille (10,5 à 16,5 mm) et un poids (7,4 à 29 mg) déclenchant normalement une stratégie solitaire. Une telle fixation de la proie permet de simuler un poids infini (Pratt, 1990 ; Schatz et coll., 1997). Dans de telles conditions, le poids apparaît bien comme le facteur déclenchant puisque dans 95 % des cas il y a mise en place d'une stratégie collective à recrutements multiples.

Expérience 3 : Afin de confirmer l'importance du facteur poids dans le choix de la stratégie de prédation, nous avons observé le comportement prédateur sur de petites proies vivantes mais alourdis par un plomb de pêche de 30 mg fixé avec de la cire d'abeille. Tout d'abord nous avons testé 30 larves de *Tenebrio molitor* d'environ 30 mg afin d'obtenir un témoin de la stratégie employée, c'est-à-dire la stratégie solitaire. Ensuite, pour connaître l'effet de la présence de la cire sur le comportement de la proie et de la fourrageuse, nous avons testé à nouveau 30 proies de 30 mg "opérées" mais non-alourdis. Dans ces conditions, nous avons obtenu les mêmes comportements que lors du premier test témoin. Enfin, dans le test proprement dit, nous avons doublé le poids des proies par ajout du lest de plomb afin que le poids obtenu corresponde à un poids (environ 60 mg) déclenchant normalement une stratégie collective avec recrutement. Et effectivement, dans 100 % des cas, nous avons pu observer l'utilisation de la stratégie collective avec recrutement.

b) Effet de la motivation individuelle des fourrageuses dans le choix de la stratégie prédatrice.

Des travaux antérieurs réalisés sur différentes espèces de fourmis ont montré qu'un jeûne entraîne généralement une augmentation de la motivation individuelle à chasser (voir notamment Dejean, 1987). Dans un premier temps, nous avons réalisé, sur la seconde

colonie, un test témoin visant à établir le niveau de base des seuils de déclenchement de la stratégie collective. Nous avons testé quotidiennement différentes classes de poids de larves de *Tenebrio*, sur un échantillon global de dix classes de dix milligrammes chacune, de façon à obtenir au moins quatre séquences de prédation (et parfois plus) pour chacune de ces classes. Au total 54 séquences ont été enregistrées sur une période de 15 jours. Nous avons arbitrairement décidé qu'il y avait passage d'une stratégie à l'autre quand le pourcentage de séquences faisant intervenir la stratégie collective devenait supérieur à 50 %. Ainsi, pour le témoin de base, le seuil correspond à la gamme de poids 40-50 mg (Fig. 1a).

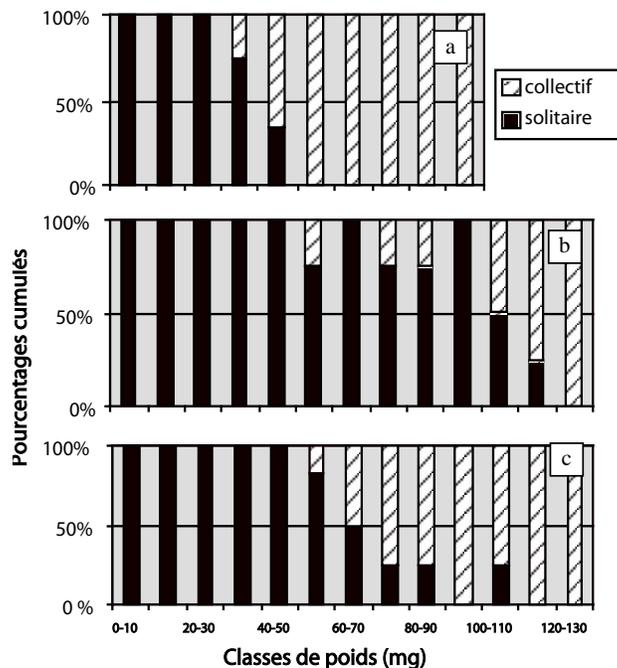


Figure 1. Effets d'un jeûne de 24 h sur les poids seuils déclenchant la stratégie de prédation collective chez *G. sulcata*.

Dans un deuxième temps, après un jeûne de 24 heures intervenant un jour sur deux, nous avons testé 57 larves de *Tenebrio* réparties en 13 classes de dix milligrammes sur une période de 40 jours. Le seuil de déclenchement de la stratégie collective passe alors à la classe 110-120 mg (Fig. 1b).

Enfin, dans un troisième temps, afin de vérifier si le retour à un approvisionnement quotidien régulier permettait de restaurer le niveau initial de ce seuil observé dans l'expérience témoin, nous avons à nouveau testé quotidiennement, sur une période de 20 jours, 59 larves de *Tenebrio* réparties dans 13 classes de poids. Le seuil de déclenchement de la stratégie collective ne revient pas à son niveau initial, mais correspond à la classe 70-80 mg (Fig. 1c).

DISCUSSION

Dans la première série d'expériences où l'alimentation est quotidienne et régulière, on a pu montrer, chez *G. sulcata*, l'importance du poids et donc de la transportabilité de la proie dans le choix de la stratégie avec recrutement. Le choix de recruter se fait une fois que la proie est immobilisée et que le transport individuel s'avère difficile voire impossible. Le poids apparaît ainsi comme un des facteurs les plus importants entrant dans la prise de décision de la stratégie prédatrice adaptée à la situation comme cela a déjà été montré chez *Ectatomma ruidum*, une autre Ectatommini (Schatz et coll., 1997).

Quant au jeûne, il influe sur la motivation à transporter seule des proies d'un poids supérieur à celui toléré normalement et cet effet semble pouvoir persister plusieurs jours puisque le seuil se situe encore dans une position intermédiaire durant les 20 jours qui suivent le retour aux conditions d'approvisionnement quotidien régulier. Il reste toutefois à déterminer si cet effet est réellement dû à un effet de persistance ou s'il ne s'agit pas, plutôt, d'un apprentissage des fourrageuses à transporter seules des proies plus lourdes, permettant ainsi d'augmenter le bénéfice énergétique de la colonie.

Le choix de la stratégie de prédation à utiliser résulte finalement de la flexibilité comportementale de chaque fourrageuse en relation, d'une part, avec sa perception individuelle des caractéristiques de la proie (notamment le poids) et, d'autre part, avec son degré de motivation à chasser et transporter seule cette proie jusqu'au nid. Ceci confirme bien le caractère solitaire des fourrageuses relevé sur le terrain, d'autant plus que les capacités de transport individuel des fourrageuses de *G. sulcata* sont remarquables.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé, en partie, grâce à l'appui financier du CONACyT (Projet 28869N).

REFERENCES

- Daly-Schveitzer S., Schatz B., Cadena A., Lachaud J.-P., 2001. Écologie comportementale de la fourmi *Gnamptogenys sulcata* (Ponerinae, Ectatommini). *Actes Coll. Insectes Sociaux* 14: 81-85.
- Dejean A., 1987. Effect of starvation on the predatory behavior of *Serrastruma serrula* workers (Formicidae, Myrmicinae). *Sociobiology* 13: 119-132.
- Hölldobler, B. and E.O. Wilson, 1990. *The Ants*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Mass. 732 pp.
- Lachaud, J.-P. and J.A García Ballinas, 2001. Diversité de la myrmécofaune (Ponerinae et Cerapachyi-nae) dans les agrosystèmes de café et cacao au Mexique. *Actes Coll. Ins. Soc.* 14: 95-99.
- Lattke, J.E., 1990. Revisión del género *Gnamptogenys* Mayr en Venezuela (Hymenoptera: Formicidae). *Acta Terram.* 2: 1-47.
- Lattke, J.E., 1995. Revision of the ant genus *Gnamptogenys* in the New World (Hymenoptera: Formicidae). *J. Hym. Res.* 4: 137-193.
- Pratt, S.C., 1989. Recruitment and other communication behavior in the ponerine ant *Ectatomma ruidum*. *Ethology* 81: 313-331.
- Schatz, B., J.-P. Lachaud and G. Beugnon, 1997. Graded recruitment and hunting strategies linked to prey weight and size in the ponerine ant *Ectatomma ruidum*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 40: 337-349.

REGULATION DU NOMBRE D'INDIVIDUS PARTICIPANT A LA CAPTURE ET AU
TRANSPORT COLLECTIF DE PROIES CHEZ UNE ARAIGNEE SOCIALE,
ANELOSIMUS EXIMIUS : IMPORTANCE DES CARACTERISTIQUES DE LA PROIE.

G. Vakanas

Laboratoire de biologie et physiologie du comportement, 54506 Vandoeuvre les Nancy.

RÉSUMÉ

L'étude de certaines caractéristiques de la proie nous a permis de mieux comprendre la régulation du nombre d'individus participant au transport collectif chez une araignée sociale, *Anelosimus eximius*. Cela explique aussi l'adaptabilité des araignées au transport de proie très variées de part leur nature.

INTRODUCTION

Les colonies de l'araignée sociale, *Anelosimus eximius*, sont capables de capturer et transporter efficacement des proies très diverses de part leur genres et de part leurs tailles (Christenson, 1984 ; Nentwig, 1985 ; Pasquet et Krafft, 1992). De même, les fourmis sont capables de transporter des proies dont le poids atteint jusqu'à 5000 fois celui d'un ouvrier (Moffett, 1988). Malgré ces phénomènes il y a peu d'études concernant les mécanismes à l'origine de ces coopérations collectives. De nombreux aspects restent à étudier, comme par exemple la manière dont les individus coopèrent et coordonnent leurs actes lors du transport, les mécanismes de régulation du nombre de transporteurs en fonction du type de proie transportée. Detrain et Deneubourg (1997) ont montré chez *Pheidole pallidula* que c'est la difficulté à exercer une traction sur la proie qui pilote le recrutement plutôt que la taille de la proie. L'analyse de certaines caractéristiques de la proie devraient donc nous permettre de mieux appréhender ces mécanismes chez les araignées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des groupes de 20 araignées adultes femelles sont utilisés. Chaque groupe est introduit dans un compartiment d'une boîte qui comprend deux compartiments séparés par une plaque en Plexiglas. Chaque compartiment possède une zone d'ombre sous laquelle s'abritent les araignées. Un tel dispositif permet de filmer, en plan large (caméra numérique Sony), deux groupes à la fois pour une économie de temps. On laisse les groupes tisser pendant sept jours avant la manipulation. Les araignées sont nourries pendant cette période avec une mouche tous les deux jours. Les proies mortes sont retirées un jour avant la manipulation.

Nous observons les variables suivantes :

* Nombre total d'individus qui entrent en contact avec la proie suite à son introduction et avant qu'un individu ne rejoigne l'abri.

* Nombre d'individus ayant participé au transport durant la première minute du transport (quelque soit leur durée de participation).

* Nombre d'individus ayant participé à la totalité du transport (quelque soit leur durée de participation).

* Le nombre moyen d'individus présents à chaque instant durant le transport (nombre moyen d'individus transporteurs) : permet de tenir compte de la variation du nombre d'individu participant au transport et de leurs durées de participation. Ce nombre est calculé par :

Σ temps de participation de chaque individu / durée du transport.

* la durée et la longueur du transport

Effet du poids de la proie

Nous réalisons des séquences de prédation (N=20) en utilisant des mouches (*Lucilia casear*) calibrées (20-26 mg) lestées d'un plomb de 41.5mg (40-43mg). Le plomb est aplati puis collé sur le thorax de la mouche. Nous comparons les résultats avec ceux obtenus sur des groupes standards (mouches calibrées non lestées ; N=20). Les mouches lestées sont significativement plus lourdes que les mouches standards : 64,0mg (+/-2.1) contre 22,5mg (+/-1.4) (test de Student, ddl=38, $t=74.238$, $p<0.0001$).

Effet des dimensions de la proie

Nous réalisons des séquences de prédation (N=20) en utilisant deux mouches collées entre elles par l'intermédiaire d'un fil de fer (9 mm +/-1 de long pour un poids moyen de 9mg) qui est collé entre la tête de la première mouche (28-33 mg) et l'abdomen de la seconde (20-26 mg). A noter que la première mouche est morte. Nous comparons les résultats à ceux obtenus avec les expériences utilisant les mouches lestées de plomb. Le poids de la proie dans nos deux lots n'est pas significativement différent : 64,0mg (+/-2.1) contre 63,2mg (+/-1.8) (test de Student, N.S., N=20). Cette technique nous permet de modifier uniquement l'encombrement, sans toucher au poids ou aux vibrations émises par la mouche.

Effet des vibrations émises par la proie

Des séquences de prédation (N=22) sont réalisées en utilisant des mouches auxquelles nous avons coupé les ailes. Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus avec des mouches standard (N=20). Les poids des mouches de nos deux lots ne sont pas significativement différents : 22,5mg (+/-1.4) contre 21,7mg (+/-1.6) (test de Student, N.S.). Ainsi le seul facteur modifié concerne les vibrations émises par la proie. Une variable supplémentaire est mesurée : le nombre d'araignées recrutées. Une araignée est considérée comme étant recrutée lorsqu'elle bouge ou sort de l'abri (pour celles qui sont sous l'abri suite à l'introduction de la proie). Le recrutement commence lorsqu'une première araignée bouge et se termine lorsqu'une des araignées impliquées regagne l'abri.

RÉSULTATS*Effet du poids de la proie*

La durée du transport des mouches lestées est significativement plus longue que celle du transport des mouches standards (test Student non appariés, ddl=38, $t=-2.935$, $p=0.0056$, N=20 ; fig.1). Par contre la longueur du transport n'est pas significativement différente entre nos deux groupes (test de Mann-Whitney, N.S., N=20 ; fig.1) tout comme le nombre d'individus contactant la proie (test de Mann-Whitney, N.S., N=20 ; fig.1) et le nombre moyen d'individus transporteurs (test de Student non appariés, N.S., N=20 ; fig.1). Enfin, il n'y a pas de différence significative entre les transports des mouches lestées et standard, en ce qui concerne le nombre d'individus ayant participé à la première minute du transport et le nombre d'individus y ayant participé à sa totalité (Tests de Mann-Whitney, p: N.S., respectivement : $N_1=N_2=20$; $N_1=20$, $N_2=18$; fig.1).

Effet des dimensions de la proie

Le nombre moyen d'araignées transporteuses est significativement plus élevé que celui obtenu avec les mouches lestées (test de Student non appariés, ddl=37, $t=-3.076$, $p=0.0039$, $N_1=19$, $N_2=20$; fig.1). Cependant la longueur du transport ne varie pas significativement entre nos deux lots (Mann-Whitney, N.S., $N_1=19$, $N_2=20$; fig.1), tout comme la durée du transport (Mann-Whitney, N.S., $N_1=N_2=20$; fig.1) et le nombre d'individu entrant en contact avec la proie (test Student, N.S., $N_1=19$, $N_2=20$; fig.1). Il y a significativement plus d'individus entrant en contact avec la proie que participant au transport de la mouche allongée durant la 1^{ère} minute (Test de Wilcoxon, $z=-3.323$, $p=0.0009$, $N=19$; fig.1). De plus,

il y a significativement moins d'individus qui participent au transport durant la 1^{ère} minute que durant la totalité du transport (test de Wilcoxon, $z=-2.521$, $p=0.0117$, $N=19$; fig.1).

Par contre il n'y a pas, en ce qui concerne la comparaison entre les transports de mouches allongées et ceux de mouches lestées, de différence quant au nombre d'individus ayant participé à la première minute du transport ou à la totalité du transport (test de Mann-Whitney, p : N.S., $N1=18$, $N2=19$; fig.1).

Effet des vibrations émises par la proie

Le nombre d'araignées recrutées ainsi que le nombre d'individus contactant la proie sont significativement plus faibles que ceux obtenus avec des mouches standards (test de Mann-Whitney, respectivement: $z=-2.984$, $p=0.0028$, $N1=20$, $N2=18$; $z=-2.697$, $p=0.0070$, $N1=20$, $N2=18$; fig.1). A noter que dans quatre cas la mouche n'est pas capturée lorsqu'elle a les ailes coupées. En revanche la longueur du transport ne varie pas significativement entre nos deux lots (test de Student, N.S., $N1=18$, $N2=20$; fig.1), tout comme sa durée (test de Student, N.S., $N1=18$, $N2=20$; fig.1) et le nombre moyen d'individus transporteurs (test de Student, N.S., $N1=18$, $N2=20$; fig.1).

Il y a significativement plus d'araignées contactant la proie que d'araignées participant à la première minute du transport des mouches sans ailes (test de Wilcoxon, $z=-2.856$, $p=0.0043$, $N=18$; fig.1). Durant le transport des mouches aux ailes coupées, le nombre d'araignées ayant participé au transport durant la première minute est significativement plus faible que le nombre d'individus y ayant participé dans sa totalité (test de Wilcoxon, $z=-2.334$, $p=0.0033$, $N=18$; fig.1). Par contre, il y a significativement moins d'araignées durant la première minute du transport par comparaison avec le transport des mouches standards (test de Mann-Whitney, $z=-2.427$, $p=0.0152$, $N1=18$, $N2=20$; fig.1). Ce n'est pas le cas pour le nombre d'individus ayant participé au transport dans sa globalité (test de Mann-Whitney, p : N.S., $N1=18$, $N2=20$; fig.1).

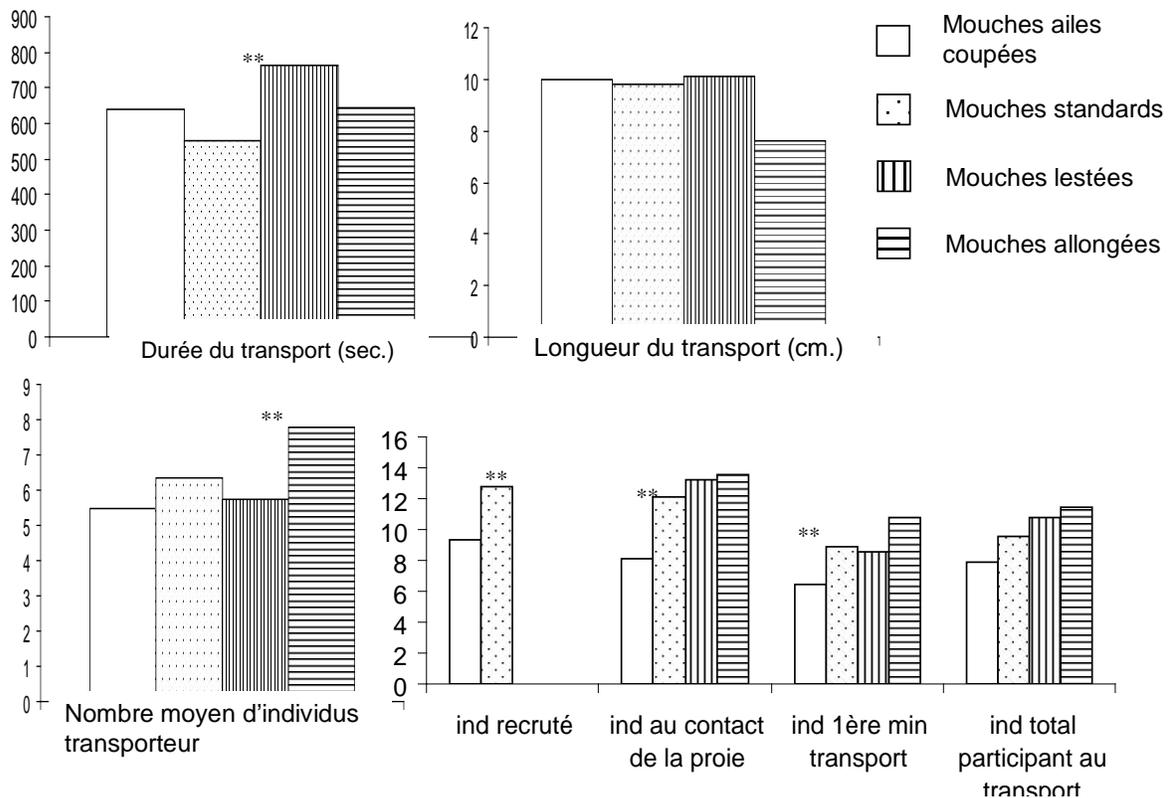


Figure 1: Effet des caractéristiques de la proie (vibration, poids, dimension) sur la durée, la longueur, et le nombre d'individus participant aux différentes étapes de la prédation.

CONCLUSION

Le poids de la proie n'a pas d'influence sur le nombre d'individus participant à la capture ou au transport. En revanche, plus la proie est lourde plus elle sera difficile à transporter ce qui se traduit par une durée du transport plus longue. L'arrivée de nouveaux individus pendant le transport pourrait donc être la conséquence des nombreux aller-retour des araignées transportant la proie qui font alors vibrer la toile. Cela n'est pas le cas lors des transports de mouches standards.

Les dimensions de la proie (encombrement) influencent le nombre moyen d'individus transportant. Plus la proie est grande, plus le nombre moyen d'individus participant au transport est élevé. Ceci peut s'expliquer par le fait que la proie est accessible à un plus grand nombre d'araignées, ce qui pourrait entraîner une défection moindre d'individus pendant le transport. Cela permet donc aux individus de transporter et de participer plus longtemps puisque n'étant pas gêné par les congénères au niveau de la proie. Ceci est confirmé puisque malgré un même nombre d'individus ayant participé au transport, le nombre moyen de transporteur est plus élevé dans le cas du transport des mouches allongées en comparaison avec celui des mouches lestées. Les araignées participent donc plus longtemps dans le cas des transports des mouches allongées. De plus, tout comme lors du transport de mouches lestées, on observe une arrivée de nouveaux individus durant le transport. Ces individus ont pu être attirés par les vibrations générées lors du déplacement des nombreuses araignées participant au transport.

Les vibrations influencent le nombre d'araignées recrutées et le nombre d'araignées contactant la proie. Lorsque l'intensité des vibrations émises par la proie est diminuée (mouches dont les ailes sont coupées) il y a moins d'individus recrutés, et par conséquent moins d'individus qui contacteront la proie et qui participeront à la première minute du transport. Cela réduira les chances de détection de la proie et donc de capture (quatre mouches ne sont pas capturées). Le nombre moyen d'araignées ayant participé au transport, tout comme le nombre d'individus ayant participé à la totalité du transport (quelque soit leur durée de participation) ne varie pas significativement entre le transport d'une mouche standard et celui d'une mouche sans ailes. De plus il y a une arrivée de nouveaux individus durant le transport, sans doute attirés par les vibrations émises par les individus transporteurs. L'arrivée de ces araignées compense le faible effectif d'individus participant au début du transport.

Le fonctionnement efficace du groupe s'explique donc par des phénomènes d'auto-organisation. Le simple fait que chaque individu réponde localement aux stimuli de l'environnement (intensité des vibrations, site disponible au niveau de la proie) suffit à expliquer la régulation du nombre d'individus intervenant dans chacune des étapes de la prédation.

REFERENCES

- Christenson T., 1984. Behaviour of colonial and solitary spiders of the theridiid species *Anelosimus eximius*. Anim. Behav., 32, 725-734.
- Detrain C. & Deneubourg J-L., 1997. Scavenging by *Pheidole pallidula*: a key for understanding decision-making in ants. Anim. Behav., 53, 537-547.
- Moffett M.W., 1988. Cooperative food transport by an asiatic ant. National Geog. Res., 4, 386-394.
- Nentwig W., 1985. Social spider catch larger prey: a study of *Anelosimus*. Behav. Ecol. And Sociobiol., 17, 79-85.
- Pasquet A. & Krafft B., 1992. Cooperation and prey capture efficiency in a social spider, *Anelosimus eximius*. Ethology, 90, 121-133.

ABSENCE DE MUTILATION CHEZ UNE POPULATION INDIENNE DE *DIACAMMA* :
LE MONOPOLE DE LA GAMERGATE EST-IL REMIS EN CAUSE ?

L. Cournault, C. Peeters.

Laboratoire d'Ecologie, CNRS-UMR 7625, Université Pierre-et-Marie Curie
7 quai Saint Bernard, 75005 Paris France

Chez les Fourmis sans reine, toutes les ouvrières sont semblables et potentiellement capables de se reproduire. Au sein du genre *Diacamma*, l'individu reproducteur dominant qui s'accouple (la gamergate) régule la reproduction de ses sœurs et de ses filles en les mutilant. La suppression des gemmes (petites structures glandulaires thoraciques) de ces dernières les empêche de mettre en jeu le comportement d'appel sexuel et de s'accoupler. Un tel système assure la stabilité de la société, aucune autre ouvrière n'étant à même d'assurer la production diploïde. Ce n'est pas le cas chez *Diacamma* « *nilgiri* » (Peeters et al., 1992) où, si on identifie bien un individu dominant (alpha) qui s'accouple et monopolise la ponte, cet individu ne mute pas. De fait, ces colonies ne présentent que rarement des ouvrières sans gemmes. La reproduction au sein de cette population ne semble donc être régulée que par des interactions de dominance (morsures, boxes antennaires) à l'occasion du remplacement de la gamergate.

Onze colonies de *Diacamma* « *nilgiri* » (254 ± 77 ouvrières) ont été récoltées en Inde. Après sociotomie des colonies (séparation en 2 en respectant les classes d'âge), des interactions agressives commencent rapidement dans tous les groupes orphelins (dépourvus de gamergate). Ces interactions concernent un nombre restreint d'ouvrières. L'une d'entre elles s'impose rapidement (1-2 jours) comme l'alpha et patrouille activement dans le nid en y agressant ses sœurs et surtout les callows (qui ne sont que rarement mutilées). Ces interactions agonistiques décroissent au cours du temps jusqu'à la ponte (2 semaines) et l'appel sexuel. On aboutit alors à une situation stable comparable à celle d'un groupe avec gamergate : ponte unique et absence d'agressivité. Nous avons testé cette stabilité par manipulation expérimentale de la fertilité de la reproductrice.

La structure d'âge du groupe (présence de callows ou non) influence les modalités du remplacement de la gamergate telles que le temps d'accession au rang d'alpha ou la présence de worker policing. Il apparaît que si une callow éclôt dans les premiers jours suivants la sociotomie, elle est très agressive et devient automatiquement la future gamergate. Cette situation semble la plus susceptible d'être rencontrée dans la nature où de nouvelles ouvrières éclosent régulièrement. L'évolution du comportement de la future gamergate suit alors les mêmes modalités que chez une *Diacamma* « classique » telle que *D. ceylonense* (Cuvillier-Hot et al., 2002). En effet, en dépit de l'absence de mutilation, l'émergence de nouvelles ouvrières reste un élément clé dans le remplacement de la gamergate chez *Diacamma* « *nilgiri* ».

REFERENCES

Peeters C., Billen J. & Hölldobler B., 1992. Alternative dominance mechanisms regulating monogyny in the queenless ant genus *Diacamma*. *Naturwissenschaften*, 79: 572-573.
Cuvillier-Hot V., Gadagkar R., Peeters C. & Cobb M., 2002. Regulation of reproduction in a queenless ant: aggression, pheromones and reduction in conflict. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 269: 1295-1300.

MOTS CLES : *Diacamma*, gamergate, hiérarchie, reproduction, dominance.

RESOLVING REPRODUCTIVE CONFLICTS IN ANTS

B. Gobin

Laboratory of Entomology, K.U.Leuven, Belgium

Morphological caste differentiation, in particular the diverging specialization of queens and workers for reproduction, influences the levels of within-colony conflict over reproduction. In species with monomorphic females, extensive conflicts exist over the production of both female and male offspring. Once workers lose the ability to mate and store sperm, they are restricted to laying males only. The queen is now the only source of female sexuals and workers, a valuable asset in conflict situations. The study of the regulation of reproduction in wasps and ponerine ants with various degrees of queen-worker divergence has given insight in such conflict resolution. Dominance fights and pheromonal signals, in varying degrees, play a role in resolving reproductive conflicts. However, when workers and queens diverge ever more in reproductive capacity (e.g. difference in ovariole numbers), this will further change the worker's options. Workers might now forego even male production to gain productivity benefits through the greater reproductive output of a related, highly specialized queen. Such productivity effects are difficult to measure, as queens also produce female offspring. However, as queens produce offspring of both sexes, and workers are limited to male offspring, productivity effects could never be conclusively demonstrated. *Acanthomyrmex ferox* provides an ideal system to study productivity effects as both worker castes, majors and minors, produce male offspring. Majors have thrice the ovarioles of minors and are thus better suited for reproduction. Majors dominate male production when orphaned whereas minors never compete for reproduction. Minors assess the quality of major workers, and will only attempt to reproduce when we experimentally reduced the majors' fertility. *Acanthomyrmex ferox* gives the first insight in the role that productivity effects might play during reproductive conflicts.

MINI-SOCIETES SANS REINE CHEZ LE GENRE NEOTROPICAL
THAUMATOMYRMEX MAYR, 1887 (FORMICIDAE : PONERINAE)

B. Jahyny^{1,2}, J. H. C. Delabie², D. Fresneau¹

¹ Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée (CNRS FRE 2413), Université Paris-Nord, 99, avenue J.-B. Clément, 93430 - Villetaneuse - France. jahyny@leec.univ-paris13.fr

² U.P.A..Laboratório de Mirmecologia, Convênio CEPLAC / UESC, Centro de Pesquisa do Cacau, CEPLAC, C.P. 7, 45600-000 Itabuna, Bahia, Brasil.

ABSTRACT

MINI-SOCIETIES WITHOUT QUEEN IN THE NEOTROPICAL GENUS
THAUMATOMYRMEX MAYR, 1887 (FORMICIDAE : PONERINAE)

The genus *Thaumatomyrmex* Mayr, 1887 (Ponerinae : Thaumatomyrmecini) is a curiosity for the myrmecologists. We present hereafter the first results of an original quantitative study on the composition of the colonies of two species of the genus: *T. contumax* Kempf, 1975 and *T. atrox*, Wheeler, 1939. The absence of a morphologically distinct reproductive female is confirmed. It is shown that the genus forms the smallest colonies known in the ant family (between 1 to 9 individus with an average of 4,05 individuals for *T. atrox* and 2,5 for *T. contumax*). This genus constitutes thus an unique model between the ponerines, which strongly justifies further studies on its biology and social organization.

INTRODUCTION

Le genre néotropical *Thaumatomyrmex* Mayr, 1887 (Ponerinae : Thaumatomyrmecini) comprend cinq espèces valides (Longino, 1988; Brandão et al., 1991; Bolton, 1995). Ces fourmis sont des prédateurs spécialisés de Diplopoda Polyxenidae (Brandão et al., 1991) et présentent un clypéus rétracté et des mandibules falciformes portant 3 ou 4 dents effilées (Smith, 1944; Kempf, 1975; Longino, 1988).

Avant l'étude de Delabie et al. (2000), les auteurs s'accordaient sur la rareté de ce genre. En effet jusqu'en 1991, le nombre de spécimens de *Thaumatomyrmex* dans les collections ne dépassait pas la centaine! Seulement cinq colonies appartenant à trois espèces de ce genre avaient été récoltées plus par hasard que par la recherche ciblée des sites potentiels de nidification. Par leur étude, basée sur des données recueillies par l'échantillonnage de la faune de la litière à l'aide de pièges Winkler (Agosti et al., 2000), Delabie et al. ont démontré statistiquement la relative abondance de trois espèces de ce genre dans certaines zones. Cependant, ces auteurs ont pris comme postulat, la faible taille des colonies et l'absence de reine en vue des données recueillies sur les rares colonies récoltées. Ces affirmations demandaient cependant confirmation par la récolte exhaustive de colonies entières.

MATERIEL ET METHODES

Les colonies de *T. atrox* et de *T. contumax* (espèces sympatriques) ont été récoltées dans une cacaoyère ancienne de la Fazenda Conjunto Serra Grande à quelques centaines de mètres du Centre de Recherche sur le Cacau (CEPLAC), à Itabuna, Bahia, Brésil (14°45'S, 39°13'W), à proximité du site des études de Brandão et al. (1991) et Delabie et al. (2000). Une première série de collectes de matériel a été réalisée en septembre et octobre 2001, et une seconde entre mars et juillet 2002. Les nids ont été recherchés à vue dans des cavités naturelles au niveau de la litière. La composition des colonies a été saisie au laboratoire immédiatement après la récolte. Ces observations ont été complétées par quelques données de la littérature.

RESULTATS

Matériel collecté : pour les deux campagnes de collectes, 52 colonies de *T. atrox* ont été récoltées au total, contre 6 seulement pour *T. contumax*. Ces données sont sommées avec les deux seules informations disponibles dans la littérature pour ces deux espèces: deux colonies de *T. contumax* récoltées auparavant (Diniz & Brandão, 1989; Delabie *et al.*; 2000). L'abondance naturelle des colonies de *T. atrox* apparait donc comme notablement supérieure à celle de *T. contumax* dans les biotopes explorés, ce qui était attendu, aux vues des informations publiées par Delabie *et al.* (2000).

Composition des colonies (tableau 1 et figure 1): parmi les cinq espèces, quatre ont déjà été récoltées sous forme de colonie complète. Seules manquent des données pour l'espèce *T. cochlearis* endémique de Cuba. Pour *T. mutilatus*, les données proviennent de la récolte d'une colonie composée de deux femelles par I.C. Nascimento à Viçosa, Minas Gerais, Brésil, novembre 2000 (com. pers.) et d'une autre de 4 femelles par W. W. Kempf à Agudos, São Paulo, toujours au Brésil (Kempf, 1975). Pour *T. ferox*, seul W. M. Mann a récolté une colonie avec deux femelles à San Juan Pueblo au Honduras en janvier 1953 (Kempf, 1975). Pour les deux espèces étudiées ici, aucune reine morphologiquement distincte n'a été rencontrée dans les colonies récoltées (N=60), ce qui confirme qu'il n'y a bien qu'une seule catégorie de femelles morphologiques comme postulé dans Delabie *et al.* 2000.

Le nombre d'individus varie de 1 à 9, le nombre moyen étant extrêmement faible (inférieur à 5 chez *T. atrox*, inférieur à 3 chez *T. contumax*). La différence observée entre ces moyennes provient peut-être de la faible taille de l'échantillon de *T. contumax*. Ces résultats sont du même ordre que pour les espèces *T. mutilatus* et *T. ferox* très rarement récoltées sous la forme de colonies complètes. Par ailleurs, aucune différence notable n'est observée entre les compositions des colonies récoltées lors des deux périodes d'échantillonnage (printemps 2001 et automne/hiver 2002 de l'Hémisphère Sud). Parmi les 52 colonies de *T. atrox*, 23,1% ne présentaient pas de couvain (oeufs, larves et cocons); 32,7% présentaient une seule catégorie d'immatures; 27% présentaient deux catégories, et 17,3% présentaient les trois. La figure 2 montre que, pour une colonie de *T. atrox*, il n'existe pas de corrélation évidente entre le nombre de catégories d'immatures et le nombre de femelles observées ($R^2=0.098$). On notera la large variation de la distribution du couvain pour les colonies avec 4 femelles ou plus. Il serait intéressant d'augmenter la taille de l'échantillon de chaque groupe de colonies (correspondant au nombre de femelles présentes dans le nid) afin de pouvoir les comparer entre eux.

CONCLUSION

Les résultats obtenus, comparés à ceux de la littérature, montrent que pour toutes les espèces de *Thaumatomyrmex*, le nombre moyen de femelles par colonie est extrêmement faible avec moins de 5 individus. Les plus petites colonies connues chez les Formicidae avaient, jusqu'à ce jour, au moins le double de ce nombre (Peeters, 1993). On peut citer aussi *Pachycondyla sublaevis*, espèce sans reine morphologiquement distincte ($m = 9,6$ femelles, entre 2 - 18) (Higashi *et al.*, 1994) ou *Probolomyrmex dammermani*, espèce avec reine, ($m = 14$ ouvrières, entre 8 - 21) (Ito, 1998). Ces résultats permettent d'affirmer que les sociétés des espèces du genre *Thaumatomyrmex* sont les plus petites connues chez les Formicidae. Le nombre maximum d'individus n'a jamais dépassé 9 dans nos échantillonnages. Il a été reporté que 11 spécimens avaient été trouvés dans un seul échantillon de winker (Delabie *et al.*, 2000). Cependant il est possible que plus d'une colonie ait été récoltée dans le 1m² de litière.

Cette étude nous permet aussi de confirmer pour la première fois l'absence de femelle reproductrice morphologiquement distincte. Les colonies ne présentent que des femelles monomorphes. Mais seule des études de biométrie et d'anatomie interne permettront de trancher sur la qualité de ces individus (gamergates ou/et ouvrières, ergatogynes, ou un

autre type de femelles). Le cas des *Thaumatomyrmex* serait à comparer avec celui des espèces à ouvrières fécondées et pondueuses, ou gamergates (Peeters & Crewe, 1984), ou avec celui de la myrmicine *Eutetramorium mocquerysi* (Heinze et al., 1999).

Nous considérons que chaque nid récolté n'est pas une calie mais une colonie à part entière, en vue de la présence de couvain et des dissections préliminaires qui ont montré l'indépendance reproductrice de ces mini-sociétés avec une femelle avec des ovaires développés, des corps jaunes et une spermathèque pleine. Des études complémentaires doivent être effectuées pour statuer sur les liens exacts entre colonies voisines. Ce genre sans femelle reproductrice morphologiquement distincte et aux plus petites sociétés connues chez les Formicidae constitue un modèle unique au sein de cette famille, justifiant une étude approfondie de sa biologie et de son organisation sociale.

REFERENCES

- Agosti D., J.D. Majer, L. Tennant de Alonso & T. Schultz (eds). 2000. *Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Ground Living Ants*. Smithsonian Institution, Washington, 280 p.
- Bolton, B. 1995. *A new general catalogue of the ants of the World*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 504 p.
- Brandão, C.R.F., J.L.M. Diniz & E.M. Tomotake. 1991. *Thaumatomyrmex* strips millipedes for prey: a novel predatory behavior in ants, and the first case of sympatry in the genus (Hymenoptera: Formicidae). *Insectes Sociaux*. **38** : 335-344.
- Delabie, J.H.C.; D. Fresneau & A. Pezon. 2000. Notes on the ecology of *Thaumatomyrmex* spp. (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) in southeast Bahia, Brazil. *Sociobiology* **36** : 571-584.
- Diniz, J.L.M. & C.R.F. Brandão. 1989. Feeding behavior of *Thaumatomyrmex*. Notes from Underground **2**: 13.
- Heinze, J., B. Hölldobler & G. Alpert. 1999. Reproductive Conflict and Division of Labor in *Eutetramorium mocquerysi*, a Myrmicine Ant Without Morphologically Distinct Female Reproductives. *Ethology*. **105** : 701-717.
- Ito, F. 1998. Colony composition and specialized predation on millipedes in the enigmatic ponerine ant genus *Probolomyrmex* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*. **45** : 79-83.
- Kempf, W.W. 1975. A revision of the Neotropical Ponerinae ant genus *Thaumatomyrmex* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Studia ent.* **16** : 95-126.
- Longino, J.T. 1988. Notes on the taxonomy of the Neotropical ant genus *Thaumatomyrmex* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). In: *Advances in Myrmecology* (J.C. Trager ed.) E.J. Brill & W.S. Heinman Co, New York, 35-42.
- Peeters, C. 1993. Monogyny and polygyny in ponerine ants with or without queens. In *Queen number and Sociality in Insects*, L. Keller (ed.), Oxford University Press, Oxford, 234-261.
- Peeters, C. & Crewe, R. 1984. Insemination controls the reproductive division of labour in a ponerine ant. *Naturwissenschaften* **71**: 50-51.
- Smith, M.R. 1944. The ants of the genus *Thaumatomyrmex* Mayr with the description of a new Panamanian species. *Proceeding. Entomological. Society of. Washington*. **46** (2): 97-99.

	Nombre de colonies	Nombre moyen de femelles	Var	Minimum - maximum	Nombre prédominant	Nombre total de mâles
<i>T. atrox</i>	52	4,02	3,2	1 - 9	4	5
<i>T. contumax</i>	8	2,50	7,4	1 - 9	1	3

Tableau 1: Moyenne du nombre de femelles chez deux espèces de *Thaumatomyrmex*: *T. atrox* et *T. contumax*.

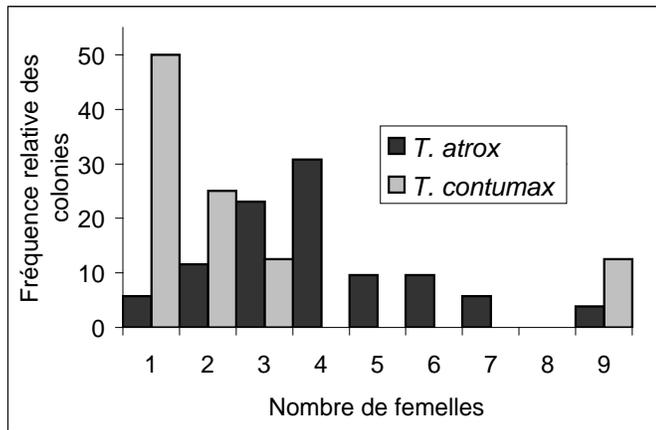


Figure 1 : Distribution des colonies de *T. atrox* (N=52) et de *T. contumax* (N=8) en fonction du nombre d'imagos femelles.

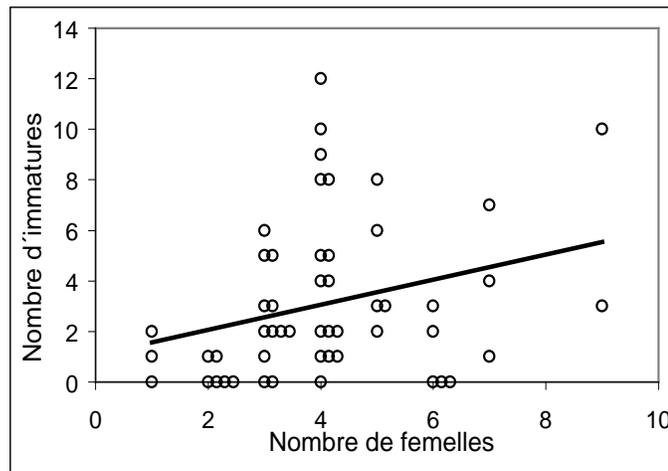


Figure 2 : Relation entre le nombre total d'immatures par colonie (oeufs, larves et cocons confondus) et le nombre de femelles présentes dans le nid chez *T. atrox*.

REMPLACEMENT DE LA GAMERGATE CHEZ LA FOURMI SANS REINE *DINOPONERA*
QUADRICEPS: UNE CONTRE TOUTES, ET PRESQUE TOUTES POUR UNE

T. Monnin¹, F.L.W. Ratnieks², G.R. Jones³, R. Beard³

¹Laboratoire d'écologie CNRS UMR 7625, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai Saint Bernard, 75 005 Paris, France

²Laboratory of Apiculture and Social Insects, Department of Animal and Plant Sciences, University of Sheffield, Sheffield S10 2TN, Royaume uni

³Chemical Ecology Group, School of Chemistry and Physics, University of Keele, Staffordshire ST5 5BG, Royaume uni

RÉSUMÉ

Dans les sociétés animales la reproduction est souvent monopolisée par un ou quelques individus, qui sont souvent les individus les plus dominants du groupe. Nous montrons qu'il existe un autre mécanisme chez la fourmi sans reine *Dinoponera quadriceps*, qui ressemble plutôt à une alliance. Dans cette espèce l'ouvrière alpha est la seule à s'accoupler et à se reproduire (appelée gamergate). Les 2-3 ouvrières de rangs immédiatement inférieurs (ouvrières dominantes) sont des remplaçantes potentielles, tandis que les autres fourmis n'ont aucune chance de devenir la gamergate (*D. quadriceps* à en moyenne 80 fourmis par colonie). Pour des raisons de degré de parenté chaque ouvrière dominante devrait tenter de remplacer la gamergate, tandis que la gamergate et les ouvrières subordonnées devraient l'en empêcher. Il y a donc un conflit qui oppose chaque ouvrière dominante contre le reste de la colonie. Nous montrons expérimentalement que la gamergate marque chimiquement l'ouvrière dominante qui tente de prendre sa place, et qu'en réponse les ouvrières subordonnées attaquent cette ouvrière et empêchent le remplacement de la gamergate. Seul le contenu de la glande de Dufour de la gamergate déclenche l'agressivité des ouvrières. L'analyse chimique par GC/MS confirme que le contenu de la glande de Dufour de la gamergate diffère de celui des autres ouvrières, tant en quantité qu'en qualité des produits chimiques. L'étude microscopique montre aussi que l'épithélium de la glande de Dufour de la gamergate est plus active que celle des ouvrières (Billen *et al.* com. perso.). Cette coopération entre la gamergate et les ouvrières subordonnées permet à la première de maintenir son monopole reproducteur sans avoir à se battre. Ce comportement correspond à la fois à la définition du « *punishment* » (Clutton-Brock & Parker 1995) et à celle du « *policing* » (Ratnieks 1988). Des mécanismes similaires pourraient exister chez de nombreux insectes primitivement eusociaux et chez des vertébrés sociaux.

RÉFÉRENCES

Clutton-Brock T. H., Parker G. A., 1995. Punishment in animal societies. *Nature*, **373**, 209-216.

Monnin T., Ratnieks F.L.W., Jones G., Beard R., 2002. Pretender punishment induced by chemical signalling in a queenless ant. *Nature*, sous presse.

Ratnieks F.L.W., 1988. Reproductive harmony via mutual policing by workers in eusocial hymenoptera. *Am. Nat.*, **132**, 217-236.

WORKER POLICING BY EGG EATING
IN THE PONERINE ANT *PACHYCONDYLA INVERSA*.

P. D'Ettore¹, **J. Heinze**¹ & **F. Ratnieks**²

¹ LS Biologie I, Universität Regensburg, Universitätsstrasse 31, D-93040 Regensburg Germany

² Department of Animal and Plant Sciences, Sheffield University, Sheffield S10 2TN, UK.

Individuals in insect societies may have selfish reproductive interests which conflict with the interests of other individuals and of the society as a whole. Conflicts may lead to policing behaviour, by which selfish behaviour is punished. For example, workers may prevent others from laying eggs by overt aggression, i.e. biting or immobilisation. In ants, policing has been described from several species lacking a morphological queen caste, where all workers are totipotent and in principle can mate and lay fertilised eggs.

We investigated worker policing in the ponerine ant *Pachycondyla inversa*, a species with morphological queen and worker castes. Colonies were divided into two groups (one with and one without queens). Some workers in orphaned groups started laying eggs three weeks after separation. Worker-laid eggs and queen-laid eggs were introduced into queenright and queenless colony fragments. All queen-laid eggs were accepted even by the orphaned groups, but most of the worker-laid eggs were highly investigated and finally eaten by workers of queenright groups. This study is the first one to show that worker-laid eggs are differentially killed in comparison to queen-laid eggs in ants.

Chemical analyses of the egg surface showed that queen-laid eggs and worker-laid eggs have different chemical signatures. The chemical profiles of queen-laid eggs are characterised by more volatile compounds that could stem from one of the glands associated with the sting apparatus.

TO LINGER OR LEAVE: DOES CUTICULAR CHEMISTRY, DEALATION PROPENSITY AND SIZE MATTER FOR NEW *FORMICA TRUNCORUM* GYNES?C.A., Johnson¹, L. Sundström²¹Laboratory of Entomology, Katholieke Universiteit Leuven, Naamsestraat 59, B-3000 Leuven, Belgium²Department of Ecology and Systematics
University of Helsinki, Arkadiandatu 7, FIN-00100 Helsinki, Finland

Most members of eusocial insect societies have “surrendered” their reproductive capabilities to labour on behalf of one or several related, fecund individuals. The haplo-diploid system of sex determination in conjunction with reproductive competition seems to have been a promoting factor in the transition to a eusocial society – a relatively cohesive unit, typically consisting of a single reproductive and her reproductively depressed offspring that are, on average, 75% related to each other. The obvious benefit in one's foregoing reproduction in these instances is that the average relatedness between female siblings is greater than the 50% relatedness to their own offspring. Hence, the inclusive fitness, or impart of a proportion of one's genes into succeeding generations through close relations, is greater than the fitness of an individual if that individual were to reproduce. Nonetheless circumstances (environment, resources, behaviour of others or one's self) are dynamic, and new variations on a theme emerge, presumably reflecting the struggle for genetic survival. Colony heads (reproductive females) may have mated multiply and/or more than one reproductive female may contribute to a single colony's growth. Consequently, the relatedness among colony members change, which in turn may further modify the colony social structure, producing a ratchet effect that can lead to the seemingly absurd (e.g., unicolonial colonies with hundreds of reproducing gynes).

Permanent polygyny implies the concurrent presence of two or more reproducing gynes in a single nest, which results in decreased relatedness among nest workers. A functional polygyne nest typically evolves from a monogyne nest through either intranidal mating of new gynes or the readopting of new gynes that have dispersed, mated and returned to an established nest. Limited nesting sites (habitat saturation) and low probability of successful colony founding of dispersing gynes in conjunction with certain inclusive fitness benefits for the recipient colony seem to foster the development of polygyne colonies. Specific corresponding factors that result in non-dispersal, however, remain elusive. Here we present the results of the analyses of several elements that could be influenced by resource levels and could contribute to the lingering of new gynes.

Formica truncorum gynes from monogyne and polygyne nests were sampled for their cuticular chemicals as callows, as mature alates or dealates, or after mating to determine whether cuticular chemistry could be correlated with the acceptance/rejection tendencies of monogyne and polygyne workers found by Sundström (1997). Generally, profiles differed depending on stage of post-emergence development, although there seemed to be two profile types in the mated alate groups, one of which overlapped with the mated and mature dealates. Weight of the total body and thorax tissue was greater overall for monogyne individuals in all groups with a few exceptions, as was total wing length. Matings took place slightly sooner in the monogyne group than in the polygyne group, although approximately equal numbers mated in the allotted time period. Relatively few individuals shed their wings within 24 hrs post mating, but almost 50% more monogyne females dealated than polygyne females after mating and the rate was five times as high in mature females that had not mated. Topical applications of Juvenile Hormone, Precocene (anti-JH), and acetone on mature gynes seemed to have no effect on the propensity of monogyne and polygyne females to dealate. Again, these results indicated a greater tendency for monogyne females to dealate than polygyne females, although there appeared to be a colony effect.

Sundström, L. 1997. Queen acceptance and nestmate recognition in monogyne and polygyne colonies of the ant *Formica truncorum*. Anim. Behav., 53, 499-510.

ROLE DES MALES DANS LA REPRODUCTION
CHEZ *CARDIOCONDYLA ELEGANS* (FORMICIDAE : MYRMICINAE).

J.L. Mercier, C. Jérôme, E. Darrouzet, S. Stoeckel.

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS N° 6035,
Faculté des Sciences et Techniques, Parc de Grandmont, 37200 Tours, France.

RESUME

La séquence reproductrice des mâles ergatoïdes de *Cardiocondyla elegans* est décrite en détail et comparée à celle de mâles ergatoïdes appartenant à d'autres espèces. Les mâles de *C. elegans* semblent avoir développé des stratégies de reproduction différentes. Stridulation et boxe antennaire pourraient jouer un rôle primordial dans le déroulement de la séquence. Les mâles ergatoïdes peuvent féconder plusieurs fois une même femelle.

MOTS-CLES : *Cardiocondyla* ; mâle ergatoïde ; comportement sexuel ; stridulation ; boxe antennaire ; reproduction.

ABSTRACT

The mating behaviour sequence of males of *Cardiocondyla elegans* is described and compared with the mating behaviour of ergatoid males of other species. Males of *C. elegans* have performed alternative mating strategies. Stridulation and antennal boxing seem to be essential before copulation. Ergatoid males can mate several times with the same female.

KEY-WORDS : *Cardiocondyla*; ergatoid male; mating behaviour; stridulation; antennal boxing; reproduction.

INTRODUCTION

Chez les fourmis, les mâles sont habituellement ailés. Cependant, au sein des quatre genres *Hypoponera*, *Cardiocondyla*, *Formicoxenus* et *Technomyrmex*, une forme ailée et une forme aptère (mâle ergatoïde), peuvent cohabiter (Kugler, 1983 ; Loiselle et Francoeur, 1988 ; Yamauchi et coll., 1991, 1996). Les mâles ergatoïdes se reproduisent à l'intérieur du nid et leur comportement sexuel a été partiellement décrit (Kinomura et Yamauchi, 1987 ; Stuart et coll., 1987 ; Heinze et coll., 1993 ; Yamauchi et coll., 1991, 1996). Certaines espèces du genre *Cardiocondyla* comme *C. elegans* ne développent que des mâles ergatoïdes (Heinze et coll., 1993, 2002). S'ils sont plus nombreux que dans les espèces où les deux morphes coexistent (maximum 20 vs 3), ils sont toutefois en nombre très largement inférieur au nombre de femelles ailées disponibles dans le nid (jusqu'à 367). Ils ont aussi des testicules fonctionnels et une spermatogenèse continue. L'étude approfondie de leur comportement sexuel est ici détaillée.

MATERIEL ET METHODES

Des rencontres dyadiques hétérocoloniales de 30 minutes ont été réalisées entre un mâle ergatoïde et une femelle ailée (N = 19), dans une arène de 5 millimètres de diamètre.

Les mâles de différentes colonies sont tout d'abord isolés en présence de 10 ouvrières au minimum 3 jours avant le test ; les femelles ailées sont prélevées directement dans le nid avant le test.

Chaque rencontre débute avec la première prise de contact ; elle est filmée à l'aide d'une caméra numérique, puis analysée.

Une séquence comportementale est définie par une succession d'actes impliquant un

contact entre les deux partenaires. Elle débute donc lorsque les individus entrent en contact et se termine lorsqu'ils se séparent. Au cours d'une même rencontre de 30 minutes, on peut ainsi distinguer plusieurs séquences comportementales, chacune aboutissant ou non à une copulation.

Les différents comportements relevés sont les suivants :

Contact antennaire : le mâle détecte la partie thoracique de la femelle grâce à des mouvements antennaires de faible fréquence.

Grimper : le mâle monte sur le dos de la femelle et s'oriente parallèlement et dans le même sens que la femelle.

Stridulation : une fois monté sur la femelle, le mâle commence à striduler. Les mouvements de son abdomen sont très visibles.

Boxe antennaire : le mâle s'approche de la tête de la femelle avec une fréquence stridulatoire intense et produit avec ses antennes des battements à haute fréquence sur le thorax et la tête de la femelle.

Copulation : le mâle recule, allonge son abdomen, crochète l'abdomen de la femelle en contournant les bords postérieurs des ailes et introduit ses pièces génitales dans le tractus de la femelle. La boxe antennaire perdure pendant l'acte et se termine en même temps.

Contact mandibulaire : le mâle est sur le dos de la femelle ; il remonte vers sa tête et met brièvement ses pièces buccales en contact avec celles de la femelle.

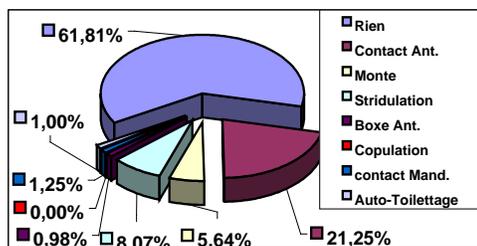
Auto-toilettage : le mâle replie son abdomen entre ses pattes et nettoie ses pièces génitales.

Le nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de 46 femelles a été ensuite évalué. Les spermathèques sont collectées dans l'abdomen des femelles sous loupe binoculaire, puis éclatées individuellement dans 100 µl de solution Beadle. Sur 3 gouttes de 5 µl fixées à l'éthanol, le nombre de spermatozoïdes est déterminé à l'aide d'un microscope à épifluorescence après leur coloration par la méthode DAPI (Bressac et Chevrier, 1998).

Un test de Mann-Whitney est utilisé pour comparer la durée de chaque comportement entre les rencontres avec et sans copulations.

RESULTATS

On peut distinguer deux types de rencontres, selon l'existence ou non d'une (ou plusieurs) copulation(s) durant la période d'observation de 30 minutes. Lorsque aucune copulation n'a eu lieu (Fig. 1), on constate que le mâle passe un peu plus des deux-tiers de son temps sans contact avec la femelle (Rien : 61,81% ; auto-toilettage : 1%), même s'il entre fréquemment en contact avec elle (contacts antennaires : 21,25%). Les stridulations sont peu abondantes (8,07%). En revanche, le budget temps du mâle est totalement différent lorsqu'une ou plusieurs copulations ont eu lieu (Fig. 2). Le mâle ne passe plus en effet que 41,47% de son temps éloigné de la femelle (Rien : 38,38% ; auto-toilettage : 3,09%).



*Time-budget of the different displays of a male towards a female of *C. elegans*, over a 30 min period of observation without any copulation (N = 11).*

Figure 1 : Budget-temps sur 30 minutes des différents comportements d'un mâle vis à vis d'une femelle *C. elegans*, lors d'une rencontre sans copulation (N = 11).

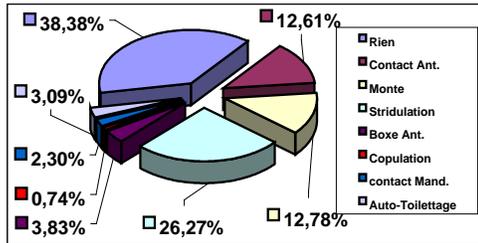


Figure 2 : Budget-temps sur 30 minutes des différents comportements d'un mâle vis à vis d'une femelle *C. elegans*, lors d'une rencontre avec une copulation ou plus (N = 8).
 Time-budget of the different displays of a male towards a female of *C. elegans*, over a 30 min period of observation with at least one copulation (N = 8).

L'analyse comparative donne des résultats significativement plus importants pour la stridulation (26,27% vs 8,07% ; $p=0.0082$, $U=13$) , la boxe antennaire (3,83% vs 0,98% ; $p=0.0032$, $U=10$) et les contacts mandibulaires (2,30% vs 1,25% ; $p=0.0113$, $U=15$) dans les rencontres présentant une ou plusieurs copulations.

Si seulement 8 mâles sur 19 ont copulé au moins une fois, 23 séquences comportementales aboutissant à une copulation ont pu être observées (Fig. 3). L'analyse de la succession des comportements montre que l'auto-toilettage des pièces génitales du mâle intervient de manière aléatoire entre deux séquences copulatoires. Il ne sera donc pas représenté. Par ailleurs, afin de nous rendre compte de l'importance de chaque comportement dans le déroulement de la séquence copulatoire, nous avons représenté celle-ci sous forme d'un diagramme de flux, dans lequel les flèches représentent les transitions entre un comportement donné et celui qui le précède immédiatement ; les chiffres représentent le pourcentage d'apparition de cette transition. Il ressort que 96,2% des copulations sont précédées de boxes antennaires et que 100% de ces dernières sont précédées de stridulations.

La spermathèque d'une femelle a un aspect bleu irisé lorsqu'elle contient des spermatozoïdes et apparaît transparente lorsqu'elle est vide. Toutes les femelles utilisées lors de nos tests étaient fécondées et leurs ovaires n'étaient pas développés. Le nombre de spermatozoïdes stockés dans les spermathèques de 46 femelles est très variable ($m \pm sem = 5167 \pm 566$; 530 à 16900 spermatozoïdes).

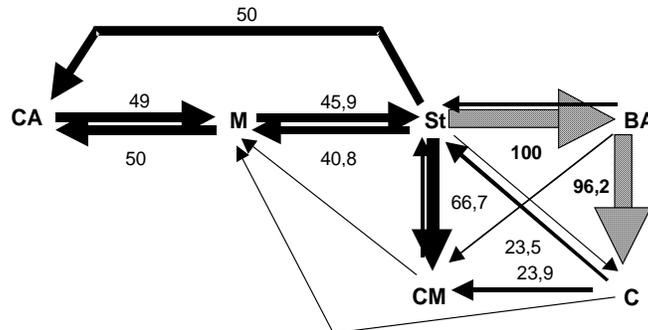


Figure 3 : Diagramme de flux des transitions comportementales effectuées par le mâle *C. elegans* au cours d'une séquence copulatoire (N = 23). Les nombres représentent les pourcentages de transitions entre un comportement X donné et celui qui précède, par rapport à l'ensemble des comportements qui aboutissent à X. CA : Contact Antennaire ; M : Monte ; St : Stridulation ; BA : Boxe Antennaire ; C : Copulation ; CM : Contact Mandibulaire.
 Flux diagram of the behavioural transitions performed by ergatoid males during a mating sequence (N = 23). Number correspond to the percentage of transitions between a given behaviour X and the one immediately preceding, compared with the total number of transitions leading to X. CA : Antennal Contact ; M : Climbing ; St : Stridulation ; BA : Antennal Boxing ; C : Copulation ; CM : Mandibular Contact.

DISCUSSION

Selon la présence ou non de copulation, on observe une grande variation du budget temps du mâle, qui passe beaucoup de temps à striduler. La stridulation et la boxe antennaire sont des étapes obligatoires en préambule à la copulation. La succession de ces trois comportements semble hautement stéréotypée. La stridulation, dont le rôle dans le rapprochement des sexes n'a encore jamais été mis en évidence chez les fourmis, agirait comme moyen de stimulation du couple. La boxe antennaire serait un signal d'immobilisation de la femelle juste avant l'accouplement. Ce comportement s'apparente de par sa fonction possible à un comportement de « martèlement à l'aide des mandibules », observé chez *C. nuda* (Heinze et coll., 1993), ou à un « pincement du corps à l'aide des mandibules » chez *C. wroughtonii* (Stuart et coll., 1987 et Kinomura et Yamauchi, 1987). Des « contacts mandibulaires » sont aussi observés chez *C. elegans*, à ceci près qu'un seul contact a lieu à la fois, le plus souvent en fin de séquence comportementale. Leur rôle reste encore à définir.

Toutes les femelles que nous avons testées se sont révélées fécondées. Les femelles qui n'ont pas été fécondées au cours de nos observations l'étaient donc déjà auparavant. Cela laisse supposer l'existence d'une période de réceptivité limitée des femelles vis à vis des mâles. Nos observations comportementales montrent que les mâles ergatoïdes de *C. elegans* peuvent s'accoupler plusieurs fois avec la même femelle. Cela pourrait expliquer la grande variation observée dans le nombre de spermatozoïdes stockés dans les spermathèques. Le sex-ratio très fortement biaisé en faveur des femelles observé dans les nids laisse supposer que les mâles ergatoïdes peuvent aussi se reproduire avec plusieurs femelles à la suite. Il est ordinairement admis qu'ils se reproduisent exclusivement à l'intérieur du nid (Hamilton, 1967). Toutefois, l'observation répétée sur le terrain de mâles à l'extérieur du nid laisse penser qu'ils assurent aussi un brassage génétique en s'introduisant dans un nid étranger situé à proximité de leur nid d'origine.

REFERENCES

- Bressac C., Chevrier C., 1998. Offspring and sex ratio are independent of sperm management in *Eupelmus orientalis* females. *J. Ins. Physiol.*, 44: 351-359.
- Heinze J., Kühnholz S., Schilder K., Hölldobler B., 1993. Behavior of ergatoïd males in the ant *Cardiocondyla nuda*. *Insectes Soc.*, 40: 272-282.
- Heinze J., Schrempf A., Seifert B., Tinaut A., 2002. Queen morphology and dispersal tactics in the ant *Cardiocondyla batesii*. *Insectes Soc.*, 49: 129-132.
- Hamilton W. D., 1967. Extraordinary sex-ratios. *Science*, 156: 477-488.
- Kinomura K., Yamauchi K., 1987. Fighting and mating behaviors of dimorphic males in the ant *Cardiocondyla wroughtonii*. *J. Ethol.*, 5: 75-81.
- Kugler J., 1983. The males of *Cardiocondyla emery* (Hymenoptera : Formicidae) with the description of the winged male of *Cardiocondyla wroughtonii*, Forel. *Isr. J. entomol.*, 17: 1-21.
- Loiselle R., Francoeur A., 1988. Régression du dimorphisme sexuel dans le genre *Formicoxenus* et polymorphisme comparé des sexes dans la famille des Formicidae (Hymenoptera). *Nat. Can. Rev. Ecol. Syst.*, 115: 367-378.
- Stuart R. J., Francoeur A., Loiselle R., 1987. Lethal fighting among dimorphic males of the ant *Cardiocondyla wroughtonii*. *Naturwissenschaften*, 74: 548-549.
- Yamauchi K., Furukawa T., Kinomura K., Takamine H., Tsuji K., 1991. Secondary polygyny by inbred wingless sexuals in the dolichoderine ant *Technomyrmex albipes*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 29: 313-319.
- Yamauchi K., Kimura Y., Corbara B., Kinomura K., Tsuji K., 1996. Dimorphic ergatoïd males and their reproductive behavior in the ponerine ant *Hypoponera bondroiti*. *Insectes Soc.*, 43 : 119-130.

HIÉRARCHIE ET RÉGULATION DE LA REPRODUCTION CHEZ UNE FOURMI
PONERINAE À REINE PEU DIFFÉRENCIÉE : *PLATYTHYREA CONRADTI*.

M. Molet, K. Yeo, C. Peeters

Laboratoire d'Ecologie, CNRS-UMR 7625, Université Pierre et Marie Curie,
7 quai Saint Bernard, 75005 Paris France

La mise en place d'une hiérarchie fondée sur des interactions agressives équivaut à une régulation comportementale de la reproduction, qui contraste avec la régulation chimique, et qui entre notamment en jeu chez des espèces de fourmis ayant perdu la caste reine (hiérarchie entre ouvrières) ou polygynes (hiérarchie entre reines). Contrairement à d'autres espèces de *Platythyrea* africaines chez lesquelles il n'existe pas de reines mais où la ou les ouvrières dominantes peuvent s'accoupler et pondre des œufs fécondés, chez l'espèce *Platythyrea conradti* la caste reine est toujours présente, quoique morphologiquement peu différenciée et sans ailes (reine ergatoïde). L'observation de 9 colonies de 20 à 150 individus a montré que malgré l'existence d'une reine, une hiérarchie mettant en scène deux types d'agressions s'établit au sein des ouvrières, et que la reine interagit avec elles également, voire est intégrée à la hiérarchie. L'ouvrière dominante se met à pondre si aucune reine n'est présente ou si la reine n'est pas mature. Des dissections et des expériences d'accouplement au laboratoire n'ont pas mis en évidence l'existence de gamergates (ouvrières fécondées et pondeuses). Il semble qu'aucune parthénogenèse thélytoque ne soit possible, les ouvrières ne produisent que des mâles. La hiérarchie en l'absence de reine mature apporte un intérêt individuel à l'ouvrière dominante pondeuse, puisqu'elle peut alors disperser ses gènes via les mâles. En présence d'une reine mature, la hiérarchie a plutôt un rôle prédictif, car la dominante s'assure un accès à la reproduction si la reine meurt. Une autre originalité de *P. conradti* est sa cohabitation avec la minuscule fourmi myrmicine *Pyramica maynei*.

REFERENCES

- Levieux, J., 1976. La nutrition des fourmis tropicales. IV. Cycle d'activité et régime alimentaire de *Platythyrea conradti* Emery (Hymenoptera Formicidae, Ponerinae). *Ann. Univ. Abidjan*, série E (Ecologie), *Tome IX* : 352-367.
- Peeters, C., Liebig, J. & Hölldobler, B., 2000. Sexual reproduction by both queens and workers in the ponerine ant *Harpegnathos saltator*. *Insect soc.* 47: 325-332.

MOTS-CLES : *Platythyrea*, hiérarchie, reproduction, ergatoïde, gamergate

STRUCTURE SOCIO-GENETIQUE DES SOCIETES ET DES POPULATIONS DE
CATAGLYPHIS CURSOR (FORMICIDAE)

M. Pearcy¹, C. Doums², S. Aron¹

¹Laboratoire de Biologie des Communautés Animales, CP 160/12, ULB, 50 Av. F. Roosevelt, B - 1050 Bruxelles

²Laboratoire d'Ecologie, UMR 7625, Université Pierre & Marie Curie, 7 quai St Bernard, 75252 Paris cedex 05

RESUME

Nous avons développé des marqueurs microsatellites et entamé l'étude de la structure socio-génétique des populations chez la fourmi *Cataglyphis cursor*. Nous présentons ici nos premiers résultats quant au coefficient de corrélation génétique entre ouvrières, au nombre d'accouplement des reines, au nombre de reines par colonie, ainsi qu'à la contribution des ouvrières à la production des sexués de la colonie.

INTRODUCTION

L'apparition de l'eusocialité chez les insectes constitue une des transitions majeures de l'évolution et offre un des exemples les plus surprenants d'altruisme et de socialité (Szathmari & Maynard Smith, 1995). La théorie de la sélection de la parentèle (Hamilton, 1964) fournit l'explication actuellement la plus élégante pour justifier la stérilité de la caste ouvrière dans les colonies d'insectes. Dans la mesure où les individus d'une même colonie sont apparentés, l'altruisme de reproduction peut être sélectionné et se maintenir par sélection de la parentèle. Plusieurs facteurs peuvent néanmoins réduire le degré d'apparentement au sein des sociétés. Parmi ceux-ci, le nombre de reines reproductrices dans les colonies (polygynie) et/ou le nombre d'accouplements de celles-ci (polyandrie) sont deux paramètres déterminants.

La fourmi *Cataglyphis cursor* présente plusieurs caractéristiques biologiques qui en font un modèle d'étude particulièrement intéressant pour mettre à l'épreuve la théorie de la sélection de la parentèle. Chez cette espèce, le vol nuptial ne concerne que les mâles, les colonies se multiplient par bourgeonnement, et les ouvrières sont dotées de reproduction par parthénogenèse arrhénotoque (production de mâles) mais également thélytoque (production de femelles). Les ouvrières peuvent donc participer directement à la reproduction des sociétés en produisant des descendants mâles et éventuellement femelles.

Nous avons développé des marqueurs microsatellites afin de déterminer la structure socio-génétique des sociétés de la fourmi *C. cursor*. Nous présentons ici nos résultats quant au coefficient de corrélation génétique entre ouvrières, au nombre d'accouplement des reines, au nombre de reines par colonie, ainsi qu'à la contribution des ouvrières à la production des sexués de la colonie.

MATERIEL ET METHODES

Trente colonies ont été récoltées dans la région de Port Leucate en mai 2001. L'ADN d'une dizaine d'individus a été extrait par précipitation aux sels (High Salt) pour la mise au point des marqueurs microsatellites. L'ADN est fragmenté par une enzyme de restriction et incorporé aux phages. Une fois les bactéries transformées et hybridées, nous avons séquencé 101 clones positifs, parmi lesquels 47 comportaient des séquences microsatellites. Toutes les séquences se sont révélées être de type di-nucléotidique. Le polymorphisme pour sept de ces loci a été testé sur un échantillon de 5 individus x 10 colonies. Nous avons retenu 4 loci présentant de 11 à 14 allèles pour notre analyse.

Pour chaque colonie, nous avons déterminé le génotype de la reine, du liquide séminal contenu dans la spermathèque, de 12 à 16 ouvrières/colonie et de tous les sexués produits par chaque colonie. Les indices de structure génétique des populations (F_{is} , F_{it} et F_{st}) ont été calculés à partir du programme GenePop 3.3 (Raymond & Rousset, 2001). Le coefficient de corrélation génétique moyenne entre ouvrières au sein des colonies a été estimé à l'aide du programme Relatedness 4.2 selon l'algorithme de Queller et Goodnight (1989). Cette valeur a été corrigée pour tenir compte d'un effet de "consanguinité" selon l'équation de Pamilo (1982):

$$r_{ww} = \frac{F_{vw} - \frac{2F_{is}}{1+F_{is}}}{1 - \frac{2F_{is}}{1+F_{is}}}$$

Le nombre d'accouplements minimum des reines a été déterminé de 2 façons différentes: (a) via l'analyse du pedigree des ouvrières ($M_{e,p}$); (b) à partir du calcul de la corrélation génétique:

$$M_e = 1/(2r - 0.5)$$

La participation des ouvrières à la production des sexués a également été analysée à partir de l'analyse des pedigrees des ouvrières et des sexués.

RESULTATS

Les résultats de l'analyse génétique indiquent l'absence de consanguinité ($F_{is} = -0.0158 \pm 0.0178$ non significativement différent de 0, $P > 0.653$), ainsi qu'une divergence génétique importante entre les sociétés ($F_{st} = 0.204$).

La corrélation génétique entre ouvrières est de $r_{w-w} = 0.44$, significativement différente de celle attendue en situation de monogynie et monoandrie ($r_{w-w} = 0.75$, $P < 0.001$). Les observations de terrain montrent que toutes les colonies récoltées comportent une unique reine, confirmant la structure monogyne des sociétés comme initialement observé par Lenoir (1988). L'analyse des pedigrees des ouvrières confirme la structure monogyne pour 27 colonies sur les 30 étudiées (90%). Pour 3 colonies, cependant, nous avons trouvé de 3 à 5 ouvrières sur 12 dont le génotype ne correspondait pas à celui de la mère, ce qui pourrait indiquer un *turnover* (remplacement) des reines. Le nombre moyen d'accouplements, estimé à partir de la corrélation génétique moyenne entre ouvrières au sein des colonies, est de $M_e = 2.69$. Cette valeur est largement inférieure au nombre moyen d'accouplements calculé à partir du pedigree des ouvrières: $M_{e,p} = 4.25$. A ce stade de notre étude, nous ne sommes pas en mesure de déterminer si une telle différence a pour origine un biais de paternité (*paternity skew*) ou une erreur d'échantillonnage (*sampling error*). La valeur précise du nombre d'accouplements via le séquençage des spermathèques n'a pas pu être confirmé car les tentatives d'extraction d'ADN sur les spermathèques ont échoué.

Pour l'ensemble de notre échantillonnage, seules 7 colonies (23%) ont produit plus de 10 sexués. Le sex ratio mâle:femelles calculé sur l'ensemble de la population est fortement biaisé en faveur du sexe mâle et équivaut à 11:1 (219 mâles pour 19 femelles). L'analyse génétique montre que tous les sexués mâles et femelles élevés jusqu'au stade adulte sont issus d'oeufs d'origine royale et non ouvrières. Par ailleurs, la population étudiée est caractérisée par une forte viscosité génétique se traduisant par une corrélation significative entre la distance géographique et la distance génétique (Test de Mantel, $P = 0.046$). Cette tendance est confirmée par la corrélation génétique élevée ($r = 0.24$) entre individus issus des nids voisins les plus proches.

CONCLUSION

Comme l'a suggéré Lenoir (1988), nos analyses génétiques montrent que *Cataglyphis cursor* est une fourmi de type monogyne et polyandre. Cependant, nos résultats ne permettent pas d'exclure l'existence d'une polygynie séquentielle (*turnover* de reines) pour 3 colonies sur 30 (10%). Cet aspect de la reproduction nécessite une étude complémentaire.

Le nombre d'accouplements observé chez *C. cursor* est un des plus élevés connu à ce jour chez les fourmis (voir Boomsma et Ratnieks, 1996; Strassmann, 2001). Bien que les ouvrières soient potentiellement fertiles, nos résultats sont en accord avec le concept de police des ouvrières (*worker policing*) lequel prédit l'absence de sexués adultes d'origine ouvrières lorsque la reine s'accouple avec plus de deux mâles différents.

Enfin, les valeurs du sex ratio et de la structure génétique de la population sont compatibles avec le mode de reproduction par bourgeonnement de cette espèce.

REMERCIEMENTS

Ce projet est financé par le FRIA (M.P.), ainsi que par plusieurs crédits FRFC, FNRS, ULB (S.A.) et CNRS (C.D.). Merci à V. Dumont pour son aide et son soutien.

REFERENCES

- Boomsma J.J., Ratnieks F.L.W. (1996): Paternity in eusocial Hymenoptera. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 351, pp 947 - 975.
- Hamilton W.D. (1964): *Journal of Theoretical Biology* 7, pp 1-52.
- Lenoir A. et al (1988): Habitat exploitation and intercolonial relationships in the ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 95 (1-2), pp 21-44.
- Pamilo P., (1982): Multiple mating in Formica ants. *Hereditas*, 97, pp 37-45.
- Queller D.C., Goodnight K.F. (1989): Estimation of genetic relatedness using allozyme data. *Evolution* 43:258-275.
- Strassmann J. (2001): The rarity of multiple mating by females in the social Hymenoptera. *Insectes Sociaux* 48, pp 01-13.
- Szathmary E., Maynard Smith J. (1995): *The Major Transitions in Evolution*. Oxford: Freeman.

RÉGULATION DE L'ACCÈS À LA REPRODUCTION : APPARITION DU SIGNAL DE
DOMINANCE CHEZ LA FOURMI SANS REINE *STREBLOGNATHUS*.

V. Renault, V. Cu villier, C. Peeters

Laboratoire d'Ecologie, CNRS UMR 7625, Université Pierre et Marie Curie
7 quai St Bernard, 75005 Paris

De nombreux travaux chez les insectes sociaux suggèrent qu'il existe un signal chimique utilisé par l'individu dominant ayant l'accès exclusif à la reproduction (la reine) pour inhiber la reproduction des ouvrières. Chez les fourmis sans reine, c'est une ouvrière qui occupe ce statut de dominante qui n'est pas déterminé par une morphologie différente des autres individus.

Des travaux sur *Streblo gnathus* ont montré qu'il est possible pour l'expérimentateur d'identifier clairement la dominante et le statut hiérarchique des individus de hauts rangs aussi bien par leur comportement caractéristique que par l'analyse de leur profil cuticulaire. Ces individus de hauts rangs sont les seuls à avoir une chance d'accéder un jour à la reproduction. La question se pose alors des rôles respectifs de ces signaux chimique et comportemental.

Nous avons effectué ici des expériences de retrait et réintroduction de dominante dans plusieurs colonies de *Streblo gnathus*, avec un retrait de durée variable, et observé si celle-ci attaquait ou non l'ouvrière qui avait pris sa place, témoignant ainsi d'une reconnaissance du changement du signal chimique. Les résultats montrent que, si la nouvelle dominante est en place depuis trois jours ou plus, elle est toujours attaquée ce qui n'est jamais le cas quand elle est en place depuis moins de deux jours. Celle-ci est toujours immobilisée par des ouvrières de plus bas rangs si elle n'a pas été attaquée, et l'est dans la moitié des cas où elle a été attaquée. Une dominante n'acquiert un développement ovarien de pondreuse que plusieurs semaines après son accès au rang α . Le signal émit par la dominante refléterait donc non pas la capacité réelle à pondre mais des qualités potentielles correspondant à un changement d'état hormonal caractéristique au bout de deux à trois jours de dominance.

Par ailleurs, on a comparé l'établissement de la hiérarchie dans deux environnements sociaux différents. Dans un cas la colonie ne contient que des jeunes ouvrières donc ayant de fortes potentialités. Dans l'autre, une seule jeune ouvrière est accompagnée d'ouvrières âgées aux potentialités faibles. Si les agressions de la dominante ont pour but de régler les conflits entre individus de signaux proches, on s'attend à en observer davantage dans les groupes constitués de jeunes ouvrières. Or, l'agressivité de la dominante n'est pas significativement supérieure dans le groupe contenant plus de compétitrices. Ceci pose la question de la motivation des agressions de la dominante, très nombreuses lors de son établissement, qui seraient peut-être une étape comportementale programmée chez la future pondreuse.

REFERENCES

Cu villier-Hot, V., A. Lenoir, R. Crewe, C. Malosse, et C. Peeters. Fertility signalling and reproductive skew in queenless ants. soumis.

MOTS-CLES : fourmi sans reine, hiérarchie, signal, dominance, conflits, gamergate, reproduction

LA MINIATURISATION: UNE STRATEGIE SIMPLE DES PARASITES POUR TROMPER LEURS HOTES ? UNE ANALYSE DU SEX-RATIO EN CYTOMETRIE DE FLUX.

S. Aron

Unité des Communautés Animales, Université Libre de Bruxelles
B-1050 Bruxelles, Belgique

INTRODUCTION

Au cours des 20 dernières années, le sex-ratio chez les Hyménoptères a fait l'objet d'un nombre considérable d'études théoriques et expérimentales (Charnov et al., 1981; Charnov, 1982; Wrensch & Ebbert, 1993; Godfray, 1994; Godfray & Werren, 1996; Chapuisat & Keller, 1999; Sundström & Boomsma, 2001; Hardy, 2002; West & Sheldon, 2002; West et al., 2002). Cependant, une difficulté majeure dans l'étude du sex-ratio est la détermination des variations du sex-ratio au cours du développement. Le sex-ratio est généralement déterminé à la ponte (sex-ratio primaire) et/ou au stade adulte (sex-ratio secondaire). La différence entre le sex-ratio primaire et secondaire a une double origine. Primo, elle peut être le reflet d'une mortalité différentielle liée au sexe. Les mâles étant haploïdes, ils sont potentiellement sujets à une plus grande mortalité induite par la présence d'allèles récessifs létaux (Crozier, 1971; Smith & Shaw, 1980; Ross, 1997). Secundo, chez les espèces sociales, les variations du sex-ratio peuvent également résulter d'un conflit opposant les reines aux ouvrières quant à l'investissement optimal dans chaque sexe de la descendance (Trivers & Hare, 1976). En raison du déterminisme du sexe haplodiploïde, les ouvrières sont en effet plus étroitement apparentées à leurs sœurs qu'à leurs frères. Elles peuvent donc accroître leur succès reproductif (indirect) en favorisant un sex-ratio biaisé en faveur du sexe femelle. Par conséquent, la différence entre le sex-ratio primaire et le sex-ratio secondaire peut résulter d'un contrôle des ouvrières sur l'investissement relatif dans chacun des sexes de la descendance. Chez un grand nombre d'Hyménoptères sociaux, l'analyse du sex-ratio à l'échelle des populations révèle en effet un investissement énergétique biaisé en faveur du sexe femelle, confirmant le contrôle des ouvrières sur le sex-ratio (Bourke & Franks, 1995; Crozier & Pamilo, 1996). Plusieurs travaux ont montré que les ouvrières biaisent le sex-ratio en éliminant une partie – voire l'intégralité – du couvain mâle (Aron et al., 1994, 1995; Keller et al., 1996; Sundström et al., 1996; Chapuisat et al., 1997).

Cependant, le stade de développement auquel le couvain mâle est identifié et sélectivement éliminé par les ouvrières a une importance théorique capitale (Nonacs & Carlin, 1990). Si les ouvrières ne reconnaissent le sexe du couvain que tardivement, c'est-à-dire après avoir investi une importante quantité d'énergie aveuglément dans les deux sexes de la descendance, le coût associé à l'élimination des mâles peut devenir prohibitif. Au contraire, plus la reconnaissance des sexes est précoce, plus les ouvrières peuvent biaiser le sex-ratio en faveur de leurs propres intérêts génétiques, à un moindre coût énergétique. Malgré son importance théorique, le stade auquel les mâles sont éliminés n'a été que fort peu étudié. Ceci est principalement dû à l'extrême difficulté à déterminer le sexe de la descendance au cours de son développement. A ce jour, le stade de développement auquel le couvain mâle est éliminé par les ouvrières a été étudiée soit indirectement, via des manipulations de couvain en laboratoire (*Linepithema humile* - Passera et Aron, 1996), soit directement, à l'aide de marqueurs moléculaires (*Formica exsecta* - Chapuisat et al., 1997). Ces deux méthodes présentent plusieurs inconvénients: la première à cause de son aspect fastidieux et – surtout – son manque de précision; la seconde, à cause de son coût élevé et de ses exigences quant aux caractéristiques génétiques des reproducteurs.

Ici, je montre que la cytométrie de flux (FCM), une méthode permettant de déterminer le degré de ploïdie des cellules à partir de la quantité d'ADN nucléaire fluorescent qu'elles contiennent, permet de distinguer avec précision les individus mâles (haploïdes) des individus femelles (diploïdes) et ce, dès le premier stade larvaire. A ce jour, la méthode FCM est sans ambiguïté la plus compétitive en termes d'efficacité, de rapidité et de coût pour

déterminer le sexe de la descendance et étudier les variations du sex-ratio au cours du développement, non seulement chez les fourmis mais également chez tous les haplo-diploïdes, sociaux ou non sociaux.

J'illustre ensuite l'apport du FCM dans l'étude du contrôle du sex-ratio chez la fourmi *Plagiolepis pygmaea*, hôte potentiel du parasite social inquilin *P. xene*. L'évolution du parasitisme social, par lequel une espèce parasite manipule les ouvrières d'une espèce hôte afin que ces dernières élèvent le couvain parasite, est un des phénomènes les plus intrigants chez les Hyménoptères. Chez les fourmis, l'inquilinisme correspond à la forme la plus extrême de parasitisme social: les espèces inquilines ont perdu la caste ouvrière et ne produisent que des sexués qui sont élevés par les ouvrières de l'hôte. Une caractéristique propre aux espèces inquilines est la petite taille des sexués, laquelle est généralement similaire à celle des ouvrières de l'hôte (Bourke et Franks, 1991; Nonacs et Tobin, 1992). Cette *miniaturisation* du parasite aurait été favorisée afin de profiter du système de détermination des castes de l'espèce hôte, de telle sorte que le couvain du parasite se développe en sexués avec une quantité de nourriture équivalente à celle nécessaire pour élever les ouvrières de l'espèce hôte (Nonacs et Tobin, 1992). Une prédiction importante de l'hypothèse de la miniaturisation est que la réduction de taille des parasites pourrait limiter la capacité des ouvrières hôtes à distinguer entre le couvain sexué du parasite et son propre couvain ouvrière (Aron et al., 1999). En d'autres termes, la petite taille permettrait aux larves du parasite de passer « inaperçues » dans le couvain hôte, ce qui les protégerait d'une élimination par les ouvrières. Nous avons précédemment apporté 3 arguments en faveur de cette hypothèse (Aron et al., 1999). (1) Les sexués du parasite inquilin *P. xene* ont une taille inférieure ou égale à celle des ouvrières de l'hôte *P. pygmaea*. (2) La variance de la taille des sexués du parasite est significativement inférieure à celle des ouvrières et des sexués de l'hôte, indiquant l'existence d'une très forte sélection stabilisante sur la taille des parasites. (3) Enfin, nous avons également montré que les ouvrières de *P. pygmaea* élèvent les sexués du parasite *P. xene* jusqu'au stade adulte, alors qu'elles détruisent simultanément le couvain sexué (mâle) de leur propre espèce. Ces résultats nous ont conduit à soutenir que la miniaturisation des sexués du parasite lui permet en effet d'échapper au contrôle des ouvrières de *P. pygmaea* (Aron et al., 1999).

Cependant, la prédiction selon laquelle la petite taille des parasites leur permettrait d'échapper au contrôle des ouvrières hôtes peut être testée avec plus de précision en déterminant le stade de développement auquel les mâles de l'hôte sont éliminés par les ouvrières. Selon l'hypothèse de la miniaturisation, les ouvrières hôtes devraient éliminer toute larve dont la taille est supérieure aux plus grandes larves/cocons ouvrières de sa propre espèce. Afin de tester cette hypothèse, nous avons déterminé par cytométrie de flux les variations du sex-ratio au cours de différents stades larvaires chez *P. pygmaea*.

MATERIEL ET METHODES

Analyses en cytométrie de flux

Nous avons tenté de déterminer le degré de ploïdie d'adultes, de larves de différents stades (grandes, moyennes, petites, à l'éclosion), d'embryons (= œufs) et de sperme par la méthode de cytométrie de flux. Ces analyses ont été réalisées sur plusieurs espèces de fourmis, ainsi que sur des guêpes parasitoïdes. Les échantillons ont été analysés après coloration au P.I. sur un FACSCAN et un FACSCALIBUR (Beckton Dickinson).

Élimination du couvain mâle chez *P. pygmaea*

Afin de déterminer le stade larvaire auquel les mâles de *P. pygmaea* sont éliminés, le sex-ratio a été analysé à 3 stades de développement estimés sur la base de la taille des larves (Passera, 1969). Des petites larves glabres (< 0.55 mm, *i.e.* immédiatement à l'éclosion de l'œuf); des larves moyennes ($0.90 < x < 1.15$ mm) dont la taille est toujours inférieure à celle des plus grandes larves ouvrières; et des grandes larves (> 1.15 mm), dont la taille est

toujours supérieure à la taille maximale des larves/cocons ouvrières. L'analyse a porté sur 12 colonies expérimentales élevées en laboratoire, à raison de 15 larves/stade/colonie.

RESULTATS ET CONCLUSION

Analyses en cytométrie de flux

L'analyse en cytométrie de flux permet de distinguer entre échantillons haploïdes et diploïdes sans aucune ambiguïté et en quelques secondes seulement. Le degré de ploïdie peut être déterminé dès le premier stade larvaire. Le FCM ne permet toutefois pas de «sexer» les embryons (œufs). Ceci est vraisemblablement dû au trop petit nombre de cellules à ce stade de développement. Par ailleurs, dans toutes les analyses réalisées, le FCM produit des histogrammes dont le coefficient de variation est très faible. Ce qui permet de détecter de faibles fluctuations de quantité d'ADN nucléaire.

La cytométrie de flux s'avère donc extrêmement utile pour déterminer le sexe du couvain, en particulier chez les espèces où ce dernier ne peut être distingué sur la base (i) de caractères morphologiques externes, (ii) de sa position dans le nid, ou encore (iii) de la taille des cellules dans lesquelles il est élevé (cf. *Apis*).

Élimination du couvain mâle chez *P. pygmaea*

Au printemps (février/mars), les reines de *P. pygmaea* pondent \pm 14% d'œufs haploïdes (Aron et al., 1999). Cette proportion d'haploïdes s'observe également parmi les individus atteignant le premier stade larvaire. Cependant, plus aucune larve mâle n'est observée parmi les larves de taille moyenne et les larves de grande taille.

Nos résultats montrent donc que les mâles de *P. pygmaea* sont éliminés à un stade précoce de leur développement, bien avant d'atteindre la taille critique des plus grandes larves ouvrières. Contrairement à nos travaux antérieurs, ces résultats ne sont pas en accord avec l'hypothèse de la miniaturisation de Nonacs et Tobin (1992). Ils suggèrent que la reconnaissance du sexe du couvain - et l'élimination sélective du couvain mâle de sa propre espèce - par les ouvrières de *P. pygmaea* repose sur un mécanisme d'ordre chimique et/ou physique, inconnu, différent de la taille des larves ou des cocons. En outre, la reconnaissance précoce du sexe du couvain permet aux ouvrières de contrôler le sex-ratio en limitant les coûts associés à l'élimination du couvain mâle.

REFERENCES

- Aron S., Passera L., Keller L., 1999. Evolution of social parasitism in ants: size of sexuals sex ratio and mechanisms of caste determination. *Proc. R. Soc. Lond. Series B*, 266, 173-177.
- Aron S., Passera L., Keller L., 1994. Queen-worker conflict over sex ratio. A comparison of primary and secondary sex ratios in the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis*. *J. evol. Biol.*, 7, 403-418.
- Aron S., Vargo E.L., Passera L., 1995 Primary and secondary sex ratios in monogyne colonies of the fire ant. *Anim. Behav.*, 49, 749-757.
- Bourke A.F.G., Franks N.R., 1991. Alternative adaptations, sympatric speciation and the evolution of parasitic inquiline ants. *Biol. J. Linn. Soc.*, 43, 157-178.
- Bourke A.F.G., Franks N.R., 1995. *Social Evolution in Ants*. Princeton University Press.
- Chapuisat M., Sundström L., Keller L., 1997. Sex-ratio regulation: the economics of fratricide in ants. *Proc R Soc Lond [Biol]*, 264, 1255-1260.
- Chapuisat M., Keller L., 1999. Testing kin selection with sex allocation data in eusocial Hymenoptera. *Heredity*, 82, 473-478.
- Charnov E.L., 1982. *The Theory of Sex Allocation*. Princeton University Press, NJ.
- Charnov E.L., Los-den Hartogh R.L., Jones W.T., van den Assem J., 1981. Sex ratio evolution in a variable environment. *Nature*, 289, 27-33.
- Crozier R.H., 1971. Heterozygosity and sex determination in haplo-diploidy. *Am. Nat.*, 105, 399-412.

- Crozier R.H., Pamilo P., 1996. *Evolution of Social Insect Colonies: Sex Allocation and Kin Selection*. Oxford University Press.
- Godfray H.C.J., 1994. *Parasitoids. Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press.
- Godfray H.C.J., Werren J.H., 1996. Recent developments in sex ratio studies. *Trends Ecol. Evol.*, 11, 59-63.
- Hardy I.C.W., 2002. *Sex Ratios. Concepts and research Methods*. Cambridge University Press.
- Keller L., Aron S., Passera L., 1996. Inter-nest sex-ratio variation and male brood survival in the ant *Pheidole pallidula*. *Behav. Ecol.*, 7, 292-298.
- Nonacs P., Carlin N.F., 1990. When can ants discriminate the sex of brood; a new aspect of queen-worker conflict. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87, 9670-9673.
- Nonacs P., Tobin J.E., 1992. Selfish larvae: development and the evolution of parasitic behavior in the Hymenoptera. *Evolution*, 46, 1605 - 1620.
- Passera L., Aron S., 1996. Early sex discrimination and male brood elimination by workers of the Argentine ant. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 263, 1041-1046.
- Passera L., 1969. Biologie de la reproduction chez *Plagiolepis pygmaea* Latr. et ses deux parasites sociaux *Plagiolepis grassei* Le Masne et Passera et *Plagiolepis xene* Stärcke (Hymenoptera : Formicidae). *Ann. Sc. Nat. Zool. Paris*, 11, 327 - 482.
- Ross K.G., 1997. Multilocus evolution in fire ants – effects of selection, gene flow and recombination. *Genetics*, 145, 961-974.
- Smith R.H., Shaw M.R., 1980 Haplodiploid sex ratios and the mutation rate. *Nature*, 287, 728 - 729.
- Sundström L., Chapuisat M., Keller L. 1996 Conditional manipulation of sex ratios by ant workers: A test of kin selection theory. *Science*, 274, 993-995.
- Sundström L., Boomsma J.J., 2001. Conflicts and alliances in insect families. *Heredity*, 86, 515-521.
- Trivers R.L., Hare H., 1976. Haplodiploidy and the evolution of the social insects. *Science*, 191, 249 - 263.
- West S.A., Reece S.E., Sheldon B.C., 2002. Sex ratios. *Heredity*, 88, 117-124.
- West S.A., Sheldon B.C., 2002. Constraints in the evolution of sex ratio adjustment. *Science*, 295, 1685-1688.
- Wrensh D.L., Ebbert M.A., 1993. *Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites*. Chapman and Hall, New York.

L'ACTION DES FOURMIS SUR UN MUTUALISME FIGUIERS/POLLINISATEURS

B. Schatz, M. Hossaert-McKeyCentre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive – CNRS, 1919 route de Mende,
34293 Montpellier Cedex 5, France

RESUME

Le mutualisme obligatoire de pollinisation entre le figuier méditerranéen (*Ficus carica*) et son pollinisateur spécifique (*Blastophaga psenes*) est la cible d'une grande variété d'espèces allant des parasites spécialisés (*Philotrypesis caricae*) aux fourrageurs opportunistes, comme les fourmis. Nous décrivons ici la communauté de fourmis présentes ainsi que leurs sources d'attraction sur le figuier *F. carica*. Nous distinguons une guildes d'espèces attirées vers les sources sucrées (figues ouvertes, miellat de différents homoptères) et une autre guildes prédatrice de pollinisateurs du figuier et composée de deux espèces co-dominantes *Crematogaster scutellaris* et *Pheidole pallidula*. Des tests de prédation réalisés en laboratoire montrent que les ouvrières de *C. scutellaris* capturent 100% des pollinisateurs *B. psenes* offerts, et aucun des parasites *P. caricae* offerts. Nous discutons de l'impact des fourmis sur le mutualisme figuiers-pollinisateurs.

MOTS-CLES: Communauté de fourmis, mutualisme, prédation, milieu méditerranéen

INTRODUCTION

Les mutualismes sont souvent impliqués dans un réseau complexe d'interactions antagonistes qui influencent fortement les processus co-évolutifs. Identifier et évaluer l'impact des différents facteurs biotiques qui stabilisent, maintiennent ou déstabilisent ces mutualismes se révèle important dans la compréhension de l'influence exercée par ce type de réseau d'interactions. Cette thématique est ici étudiée sur le mutualisme obligatoire de pollinisation entre le figuier méditerranéen (*Ficus carica*) et son pollinisateur spécifique (*Blastophaga psenes*), qui est la cible d'une grande variété d'espèces allant des parasites spécialisés (comme *Philotrypesis caricae*) aux fourrageurs opportunistes (Anstett et coll., 1997), comme les fourmis. Celles-ci sont en effet connues pour constituer un facteur potentiellement important de la dynamique évolutive du mutualisme figuiers-pollinisateurs (Compton & Robertson, 1988; Zachariades, 1994; Dejean et coll., 1997; Cushman et coll., 1998). Parmi les arthropodes et les autres invertébrés associés aux figuiers, l'impact des consommateurs de graines ou de fruits est bien connu, alors que beaucoup moins d'études concernent leur impact sur les pollinisateurs (Bronstein, 1988). L'activité prédatrice des fourmis sur les pollinisateurs est connue chez différentes espèces de figuiers, mais leur action globale semble dépendre du système étudié (Frank, 1983; Bronstein, 1988; Compton & Robertson, 1988; Zachariades, 1994; Dejean et coll., 1997; Dalecky et coll., 2002). Le but de cette étude est de décrire la communauté de fourmis associée aux figuiers méditerranéens et d'examiner son action pendant la période d'émergence des pollinisateurs.

MATERIEL ET METHODES

Le cycle biologique de l'interaction figuiers/pollinisateurs

Dans cette interaction mutualiste obligatoire, le cycle biologique du pollinisateur débute par un maintien des insectes (stade larvaire) dans les figues des figuiers mâles (*F. carica* est fonctionnellement dioïque) au cours de la période hivernale. Fin avril, les pollinisateurs adultes émergent de ces figues en traversant l'ostiole (trou empli de bractées situé à l'apex de la figue), puis ils entrent dans d'autres figues mâles du même arbre pour y pondre. Fin juin/mi-juillet, ils émergent à nouveau et vont polliniser les figues des arbres femelles. Enfin, une fraction d'entre eux émerge fin-juillet et entrent à nouveau dans des figues mâles pour

assurer la maintenance de la population pour l'année suivante (Kjellberg et coll., 1987; Jousselin et coll., 2001).

Présence des fourmis sur les figuiers

Cette étude a été réalisée sur 29 figuiers situés dans la plantation du CEFE (Montpellier, France). Nous avons relevé le nombre d'individus de chaque espèce présent sur trois parties de l'arbre : le tronc (n = 29), une des branches principales (n = 29) et les rameaux terminaux (n = 649 ; nombre moyen de rameaux examinés par arbre : 22.4 ± 7.5). Ce relevé a été effectué pendant la période d'activité maximale des pollinisateurs, c'est-à-dire entre 09h30 et 12h30. Nous avons également noté si les fourmis exploitaient une source (sucrées ou protéïque) au moment de l'observation.

Nous avons poursuivi cette étude sur l'espèce *Crematogaster scutellaris*, qui s'est révélée dominante dans cette plantation de figuiers. Nous avons établi son rythme d'activité en comptant les individus présents entre 08h30 and 17h30 (sur une période de 10 min/h). Nous avons également établi la séquence des comportements prédateurs adoptés par *C. scutellaris* lors de confrontations avec des pollinisateurs (*B. psenes*) ou avec des parasites (*P. caricae*) réalisées à la surface de figues réceptives.

RESULTATS

Présence de fourmis sur les figuiers

Crematogaster scutellaris et *Pheidole pallidula* sont les deux espèces dominantes présentes sur les figuiers, où elles représentent 71.5% des fourmis observées (Tab. 1). Les ouvrières de *C. scutellaris* sont fréquemment observées fourrageant sur les feuilles et les figues. Cette espèce niche souvent à la base du tronc ou dans les parties mortes des branches. Les échanges d'ouvrières (ou même de couvain) entre différents nids suggèrent l'existence de colonies polydomiques occupant plusieurs arbres. Plusieurs espèces peuvent également nicher à la base du tronc (*P. pallidula*, *Plagiolepis pygmaea*) ou dans les parties mortes des branches et des rameaux (*Camponotus lateralis*, *Leptothorax rabaudi*, *Formica truncorum*). D'autres espèces (*Cataglyphis cursor*, *Camponotus piceus*, *Camponotus aethiops*, *Messor barbarus*) sont également présentes sur les différentes parties du figuiers, mais nichent au sol. Observées sur tous les arbres, les fourmis sont plutôt présentes au niveau des rameaux. Les ouvrières de *C. scutellaris* représentent 65.1% des fourmis observées sur les figues durant la période d'émergence des pollinisateurs (20.2% pour *P. pallidula* et 11.0% pour *C. piceus*). Leur nombre est corrélé positivement avec le nombre d'ouvrières de *C. lateralis* ($r = 0.812$; $P < 0.001$; 27df), mais il est corrélé négativement avec celui des autres espèces ($r = 0.570$; $P < 0.005$; 27df).

Les sources d'attraction des fourmis varient selon l'espèce considérée et la présence des autres arthropodes sur l'arbre (Tab. 1). Une analyse en composante principale basée sur l'occurrence des différentes espèces et des sources alimentaires (où le premier axe explique plus de 84% de la variation), nous permet de distinguer deux guildes de fourmis, à savoir les collectrices de substances sucrées et les prédatrices de pollinisateurs. Les trois sources sucrées rencontrées sur les figuiers (les aphides [*Empoasca vitis*], les coccides [*Coccus hesperidum*] et les figues ouvertes) attirent les espèces opportunistes (*C. piceus*, *C. cursor* et *C. aethiops*), ainsi que *C. scutellaris* (43 ouvrières ont été localement observées sur 34 coccides). La présence de pollinisateurs est quant à elle fortement associée à celle de leurs prédateurs, qui correspond surtout à la présence de *C. scutellaris* et à un moindre niveau de *P. pallidula*. La présence de *C. scutellaris* est également fortement associée à celle de *C. lateralis*, même si aucun comportement agressif interspécifique n'a été observé.

Espèces	Espèce qui nichent dans le figuier	Abondance (nombre d'individus et leur fréquence)	Sources sucrées		Prédation de pollinisateurs <i>B. psenes</i>		
			Colle de miellat	Collecte sur les figues ouvertes	Vols alimentaires dans les toiles d'araignées	Nombre de pollinisateurs capturés	Individus observés en attente devant l'ostiole
<i>Crematogaster scutellaris</i>	oui	1683 (57.4)	++++	*	+	++++	+++
<i>Pheidole pallidula</i>	oui	518 (17.7)			+	++	+
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	oui	221 (7.5)					
<i>Camponotus lateralis</i>	oui	173 (5.9)					
<i>Camponotus aethiops</i>	non	133 (4.5)	++	+			
<i>Camponotus piceus</i>	non	122 (4.2)	+	+		+	+
<i>Cataglyphis cursor</i>	non	82 (2.8)	++	+			
<i>Messor barbarus</i>	non	1 (0.0)					
<i>Leptothorax rabaudi</i>	oui						
<i>Formica truncorum</i>	oui						

Tableau 1: Les différentes espèces présentes, avec leur abondance (en nombre d'individus observés sur l'arbre entier et leurs pourcentages de présence) et leur participation à la collecte de substances sucrées et/ou à la prédation des pollinisateurs *B. psenes* (en nombre d'individus observés réalisant un des comportements décrits). (*: valeurs inférieures à 10 ; **: valeurs entre 10 et 20 ; ***: valeurs entre 20 et 50 ; ****: valeurs supérieures à 50)

Prédation des pollinisateurs

Bien que deux espèces viennent voler les pollinisateurs dans les toiles d'araignées, la capture des pollinisateurs s'effectue principalement par prédation directe (Tab. 1). Celle-ci intervient surtout après une embuscade devant l'ostiole d'une figue d'un arbre mâle (Tab. 1) ou parfois lors d'une recherche plus systématique sur les figues, les feuilles, ou les rameaux des arbres femelles. Toutes les espèces ramènent les proies capturées une par une. Les ouvrières de *C. scutellaris* capturent plus de pollinisateurs que les autres espèces de fourmis (Tab. 1) ; elles effectuent également plus d'embuscades devant l'ostiole et entrent parfois leur tête dans l'ostiole pour capturer parfois un pollinisateur (6 succès sur 22 tentatives).

En focalisant le reste de l'étude sur *C. scutellaris*, nous avons pu mettre en évidence que le rythme d'activité des ouvrières, ainsi que le pic du nombre des ouvrières ramenant au nid un pollinisateur capturé, connaissent leurs valeurs maximales entre 10h30 et 12h30, une période qui correspond au pic d'émergence des pollinisateurs. Des estimations graphiques nous ont permis d'estimer que, sur un figuier, une colonie de *C. scutellaris* capture en moyenne 600 pollinisateurs par jour, avec un maximum de 120 proies/h entre 10h30 et 12h30. Impliquant 1600 visites quotidiennes du figuier exploité, la proportion moyenne d'ouvrières revenant avec un pollinisateur capturé est donc de 36.4%. Nous n'avons jamais observé d'ouvrières de *C. scutellaris* ramenant un parasite *P. caricae* capturé.

La séquence des comportements prédateurs de *C. scutellaris* employés face aux pollinisateurs *B. psenes* ou aux parasites *P. caricae* débute par une détection à distance, une ouverture des mandibules et une tentative de saisie rapide. Les pollinisateurs, qui tentent parfois de s'enfuir en sautant à courte distance, semblent assez faciles à capturer car

tous les individus offerts ont été capturés ($n = 100$). Les ouvrières de *C. scutellaris* effectuent plusieurs saisies de la proie (sûrement pour assurer sa mise à mort), ainsi que des mouvements lents de l'abdomen et parfois des dépôts de piste chimique pendant le début du transport de la proie. Les parasites sont plus efficaces pour s'échapper à l'approche du prédateur en s'envolant rapidement vers un autre rameau ou un autre arbre. Les fourmis ne s'intéressent pas ou peu à ces proies, et les évitent parfois. Les parasites ($n = 50$) n'ont été jamais capturés par les fourmis au cours de ces tests réalisés à la surface des figues.

DISCUSSION

Le figuier méditerranéen *Ficus carica* est depuis longtemps un modèle classique de mutualisme obligatoire de pollinisation (Kjellberg et coll., 1987; Anstett et coll., 1997; Jousset et coll., 2001). Cependant, la présence de fourmis est rarement reportée et leur effet potentiel sur les pollinisateurs est ignoré dans la plupart des études. Notre étude montre que plusieurs espèces de fourmis sont présentes sur les figuiers. Leur écorce épaisse et la présence de parties mortes dans les branches principales ou les rameaux offrent des sites de nidification à plusieurs espèces (ici, six espèces nicheuses), comme l'avait mentionné Soulié (1961) pour *C. scutellaris*.

Les figuiers offrent plusieurs sources sucrées stables comme le miellat d'homoptères et les figues ouvertes ainsi que des sources plus saisonnières comme les pollinisateurs (et leurs parasites) ou les graines dans les figues tombées au sol. Pour la période observée, nous avons ainsi pu distinguer une guilda d'espèces opportunistes collectant les différentes sources sucrées et une autre guilda d'espèces prédatrices de pollinisateurs. Cette dernière est essentiellement composée des deux espèces co-dominantes, *C. scutellaris* et *P. pallidula* sur les figuiers, qui sont également co-dominantes dans d'autres biotopes comme les pinèdes ou les chênaies (Cammel et coll., 1996; Way et coll., 1997). Le comportement agressif et l'utilisation de phéromone d'alarme par *C. scutellaris* expliquent que sa présence est associée à une diminution de celle des autres espèces de fourmis (Soulié, 1961; Way et coll., 1997). *Camponotus lateralis* constitue néanmoins une exception puisqu'elle imite la forme, la taille et la couleur de *C. scutellaris*, et est connue pour fourrager dans les mêmes zones avec pas ou peu d'hostilité interspécifique (Kaudewitz, 1955; Soulié, 1961).

Cette étude montre également que le nombre important de pollinisateurs capturés par une colonie de *C. scutellaris*, et à des taux similaires à ceux observés sur des figuiers tropicaux (Zachariades, 1994; Dejean et coll., 1997). Les ouvrières de *C. scutellaris* focalisent leur activité pendant la période d'émergence des pollinisateurs, réalisent des embuscades devant l'ostiole des figues, et entrent même leur tête dans l'ostiole pour y capturer des proies supplémentaires, similairement à ce qui est observé chez des espèces tropicales prédatrices (Schatz & Wcislo, 2001). En capturant les pollinisateurs et pas les parasites, les ouvrières de *C. scutellaris* sont à même d'influencer la dynamique évolutive de la pollinisation du figuier. Néanmoins, des expériences complémentaires concernant l'effet global des fourmis sont nécessaires pour déterminer si l'effet négatif du prélèvement de pollinisateurs parmi la population abondante présente sur les figuiers n'est pas contrebalancé par l'effet positif de l'éloignement des parasites vers les arbres sans fourmis prédatrices. La communauté d'hyménoptères présentée ici offre la possibilité d'analyser la pression biotique exercée sur la dynamique évolutive du mutualisme figuiers-pollinisateurs.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. C. Anstett, F. Kjellberg et D. McKey pour leurs commentaires, D. Leroux pour son aide de terrain, ainsi qu'E. Roncin (LET, Toulouse) et D. Matile-Ferrero (MNHN, Paris) pour leur aide dans l'identification des fourmis et des homoptères, respectivement.

REFERENCES

- Anstett, M.-C., Hossaert-McKey, M. & Kjellberg, F. (1997) Figs and fig pollinators: evolutionary conflict in a coevolved mutualism. *Trends Ecology & Evolution* 12, 94-99.
- Bronstein, J.L. (1988) Predators of fig wasps. *Biotropica* 20, 215-219.
- Cammel, M.E., Way, M.J. & Paiva, M.R. (1996) Diversity and structure of ant communities associated with oak, pines, eucalyptus and arable habitats in Portugcoll. *Insectes sociaux* 43, 37-46.
- Compton, S.G. & Robertson, H.G. (1988) Complex interactions between mutualisms: ants tending homopterans protect fig seeds and pollinating wasps. *Ecology* 69, 1302-1305.
- Cushman, J.H., Compton, S.G., Zachariades, C., Ware, A.B., Nefdt, R.J.C. & Rashbrook, V.K. (1998) Geographic and taxonomic distribution of a positive interaction: ant-tended homopterans indirectly benefit figs accross southern Africa. *Oecologia* 116, 373-380.
- Dalecky, A., Kerdelhué, C., Johnson, S., Razafindratsita V.R., Grassi, C., Razafiarimalala, A.C., Overdoff, D. & Rasplus, J.Y. (2002) Malagasy *Ficus* (Moraceae) and associated fauna. *The Natural History of Madagascar* (ed. by S. Goodman & J. Benstead), in press, University of Chicago Press.
- Dejean, A., Bourgoïn, T. & Gibernau, M. (1997) Ant species that protect figs against other ants: result of territoriality induced by a mutualistic homopteran. *Ecoscience* 4, 446-453.
- Frank, S.A. (1983) Theoretical and empirical studies of sex ratios, mainly in fig wasps. M.S. Thesis, University of Florida, Gainesville.
- Jousselin, E., Hossaert-McKey, M., Vernet, D. & Kjellberg, F. (2001) Egg deposition patterns of fig pollinating wasps: implications for studies on the stability of the mutualism. *Ecological Entomology* 26, 1-7.
- Kjellberg, F., Gouyon, P.H., Ibrahim, M., Raymond, M. & Valdeyron, G. (1987) The stability of the symbiosis between dioecious figs and their pollinators: a study of *Ficus carica* L. and *B. psenes* L. *Evolution* 41, 693-704.
- Kaudewitz, F. (1955) Zum Gastverhältnis zwischen *Crematogaster scutellaris* Ol. mit *Camponotus lateralis bicolor* Ol. *Aus dem Max-Planck-Institut*, 69-87.
- Schatz, B. & Wcislo, W.T. (1999) Ambush predation by the ponerine ant *Ectatomma ruidum* Roger (Formicidae) on a sweat bee *Lasioglossum umbripenne* (Halictidae), in Panama. *Journal of Insect Behaviour* 12, 641-663.
- Soulié, J. (1961) Les nids et le comportement nidificateur des fourmis du genre *Crematogaster* d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie du sud-est. *Insectes sociaux* 8, 213-297.
- Thomas, D.W. (1988) The influence of aggressive ants on fruit removal in the tropical tree, *Ficus capensis*. *Biotropica* 20, 49-53
- Way, M.J., Cammel, M.E., Paiva, M.R. & Collingwood, C.A. (1997) Distribution and dynamics of the Argentine ant *Linepithema (Iridomyrmex) humile* (Mayr) in relation to vegetation, soil conditions, topography and native competitor ants in Portugcoll. *Insectes sociaux* 44, 415-433.
- Zachariades, C. (1994) Complex interactions involving the Cape fig, *Ficus sur* Forsskål, and its associated insects. Thesis, Rhodes University, South Africa, 243 p.

LE SYNDROME DE POLYDOMIE CHEZ *CATAULACUS MCKEYI*,
UNE FOURMI A PLANTE**G. Debout**^{1,2}, **B. Schatz**¹, **E. Provost**³, **M. Renucci**³, **A. Tirard**³, **D. McKey**^{1,2}¹ CEFÉ-CNRS, 1919, route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France.² ISE-M, Université Montpellier II, CC 065, 34095 Montpellier cedex 05, France.³ CNRS-Laboratoire de Neurobiologie, 13402 Marseille cedex 20 – IMEP-Faculté des Sciences de St-Jérôme, BP 451, 13397 Marseille Cedex 20, France.

RESUME

La Caesalpinioïdée *Leonardoxa africana africana*, répartie dans la forêt atlantique littorale du Cameroun, est spécifiquement associée aux fourmis *Petalomyrmex phylax* et *Cataulacus mckeyi*. Le fonctionnement écologique de ce système est bien connu à l'échelle locale : la relation mutualiste *P. phylax* – *L. a. africana* est souvent parasitée par *C. mckeyi*. La relation mutualiste correspond à une « offre » de nourriture et de sites de nidification pour les fourmis *P. phylax*, qui protègent efficacement le feuillage contre les herbivores. *Cataulacus mckeyi*, elle, profite de la plante sans exprimer les comportements de protection. Même si une grande variabilité s'exprime dans la majorité des traits biologiques de cette espèce, il semble que la stratégie de nidification de *C. mckeyi* soit caractérisée par de la *polydomie facultative*. Cette particularité lui conférerait un avantage à la colonisation à courte distance. Une colonie peut ainsi occuper plusieurs arbres voisins, et les coloniser par « bourgeonnement » ; à l'inverse de *P. phylax* chez qui l'occupation d'un nouvel arbre semble toujours impliquer une fondation indépendante. Une approche pluridisciplinaire tenant compte du répertoire comportemental, de la structure sociale, de la génétique et de l'identité chimique nous a permis de définir sans ambiguïté les limites des différentes colonies. Nous discutons des implications de ce type de polydomie sur l'allocation des ressources dans le maintien de la colonie (production en ouvrières), ainsi que dans son développement (stratégie reproductive avec un biais vers l'un des sexes). Nous présentons aussi quelques unes des conclusions issues d'une revue bibliographique effectuée sur les caractéristiques des fourmis polydomes.

INTRODUCTION

Chez les abeilles et les guêpes sociales, chaque colonie est constituée d'un nid unique. A l'inverse, une colonie de fourmis peut occuper un seul site de nidification – monodomie – ou plusieurs sites séparés spatialement mais toujours socialement connectés – polydomie (Holldöbler & Wilson 1977, 1990). Une colonie peut donc être définie comme un groupe d'ouvrières apparentées génétiquement et des individus reproducteurs associés, le ou les nids étant les "structures" qui abritent cette colonie. La fréquence de la polydomie chez les fourmis est peut être liée à l'absence d'ailes chez les ouvrières, ce qui facilite ainsi les connections entre les différentes unités discrètes de la colonie. Malheureusement, beaucoup de confusions demeurent sur le sens exact des mots « nid », « polydomie » et « polycalie », et les problèmes de terminologie sont souvent sources d'erreurs.

Pourtant, l'identification correcte des limites d'une colonie est un pré-requis indispensable pour toutes les études empiriques de biologie et d'évolution chez les fourmis, sur des thèmes tels que la sélection de parentèle, l'allocation au sexe et les niveaux de sélection. En ce qui concerne plus particulièrement l'allocation des ressources, la colonie est l'unité de base sur laquelle sont basées toutes les théories. La présence de sous-groupes spatialement discrets au sein d'une colonie génétiquement plus ou moins homogène est d'un grand intérêt car ils permettent d'isoler les effets du conflit reine-ouvrières sur l'allocation des ressources des possibles autres facteurs confondants. Evidemment, la polydomie crée de la complexité, et il est intéressant de voir si ce nouveau niveau d'organisation affecte la façon dont la sélection naturelle agit sur les traits liés à la socialité. Enfin, il est à noter que le succès écologique est fréquent parmi les espèces polydomes.

MATERIEL ET METHODES

« Le système *Leonardoxa* » comme modèle biologique

Les 4 sous-espèces de *Leonardoxa africana* (Césalpinioïdée africaine de sous-bois) se distribuent à l'intérieur du massif forestier littoral du Golfe de Guinée de manière strictement discontinue. La variation géographique des traits biologiques (fixés ou encore variables à l'intérieur des sous-espèces) du complexe *L. africana* concerne surtout des caractères liés à l'interaction avec les fourmis. Les sous-espèces myrmécophytes de ce genre monotypique possèdent deux caractères d'importance pour les fourmis : (i) des domaties (parties renflées et creuses), dans lesquelles des fourmis symbiotiques, spécifiques et mutualistes nidifient ; (ii) des nectaires extrafloraux, qui sont leur source de nourriture principale, voire unique. En retour, les fourmis protègent plus ou moins efficacement les jeunes feuilles de la plante contre les herbivores ; ces jeunes feuilles ne présentant pas de défenses mécaniques.

La sous-espèce *L. a. africana*, répartie dans la forêt atlantique littorale du Cameroun, est spécifiquement associée aux fourmis *Petalomyrmex phylax* et *Cataulacus mckeyi*. Les principales caractéristiques de ce système sont : (a) *L. a. africana* est une plante répartie en patchs bien circonscrits, (b) les deux espèces de fourmis sont spécifiquement inféodées à cette plante, (c) chaque arbre abrite un nid d'une seule des deux espèces de fourmis, (d) *P. phylax* occupe en moyenne 75% des arbres d'une population ; la fréquence d'occupation de *C. mckeyi* varie de 0 à 30%. Le fonctionnement écologique original du système est bien connu à l'échelle locale : comme la présence de *C. mckeyi* qui exclut le mutualiste des sites potentiels de nidification, et par là même diminue la protection apportée à la plante, cette espèce est décrite comme un parasite de la relation mutualiste *P. phylax* – *L. a. africana*. La conclusion centrale des premiers travaux est que la nature de la relation de chaque espèce avec la plante est fortement conditionnée par la stratégie d'histoire de vie de la fourmi : la relation mutualiste de *P. phylax* correspond à une stratégie d'utilisation pérenne de l'espace, la relation parasite de *C. mckeyi* correspond à une stratégie plus dispersive.

Expériences réalisées

A Boundé (sud Cameroun), tous les nids ont été cartographiés dans un quadrat de 2500m² (50m x 50m) situé au milieu d'une des deux principales populations étudiées de *L. a. africana*, et où la fréquence d'occupation de *C. mckeyi* est importante, et. L'agrégation a été estimée en calculant les distances au plus proche voisin de chaque nid, et en comparant les moyennes avec des valeurs théoriques obtenues par simulation (1000 simulations Monte-Carlo; programme fourni par S. Benhamou, CEFÉ). Les nids dans un état *i* sont agrégés si et seulement si la distance moyenne observée entre 2 nids *i* (MOS) est plus petite ET la distance moyenne entre un nid *i* et un nid non-*i* (MOA) est plus grande que les distances théoriques (les distances théoriques correspondent à une dispersion aléatoire des nids).

Le degré de fermeture sociale des nids a été évalué grâce à des expériences de transplantations d'ouvrières suivant un protocole standardisé : (i) 124 expériences croisées sur 38 nids ont été réalisées (plus les témoins): ont été notés la distance entre l'arbre donneur et l'arbre receveur, et le destin de la transplantée à l'issue de l'expérience (acceptation, rejet, comportement ambigu). (ii) 19 % des comportements n'ont pas pu être précisés, mais ne caractérisent aucun groupe de nids. L'observation de comportements d'acceptation très discriminants a permis de distinguer 6 colonies « supposées » polydômes (composées de 2 à 5 nids) sur un total de 25 colonies. La structure sociale de 5 colonies polydômes (soit 14 nids), et de 27 colonies monodômes (comme témoin) a été déterminée par comptage de l'ensemble des individus des différentes castes.

Une banque microsatellite a été mise au point pour l'espèce *C. mckeyi* et 11 locus ont été retenus pour leur polymorphisme (Debout *et coll.*, sous presse). Pour l'étude de l'appareillage entre nids, les 5 loci les plus polymorphes ont été considérés (de 4 à 16 allèles). Pour chaque nid, 10 ouvrières prises au hasard ainsi que la reine (quand elle existe) ont été typées pour ces locus. Ce typage permettra de vérifier l'identité génétique de chaque

colonie, évaluer les variations d'apparementement entre ouvrières des nids d'une colonie polydome, et détecter l'existence éventuelle de polyandrie.

Enfin, en collaboration avec l'Université de Marseille, une analyse en chromatographie en phase gazeuse est en cours afin de caractériser les profils cuticulaires d'ouvrières. Les données concerneront les nids de 3 colonies polydomes ainsi que 7 colonies monodomes. Nous pourrions ainsi tester l'existence d'une « odeur coloniale » et comparer l'homogénéité cuticulaire entre ouvrières entre colonies mono- et polydomes.

RESULTATS

Nous montrons tout d'abord que : (i) les nids vides ne sont pas agrégés ($z_{MOS} = 2,6$; $P < 0,05$ / $z_{MOA} = 1,6$; NS), (ii) les nids de *P. phylax* ne sont pas agrégés ($z_{MOS} = 0,4$; NS / $z_{MOA} = 3,2$; $P < 0,05$), et (iii) la MOS et la MOA des nids de *C. mckeyi* sont respectivement plus petite ($z_{MOS} = 2,7$; $P < 0,05$) et plus grande ($z_{MOA} = 5,0$; $P < 0,05$) qu'attendu. Nous en déduisons que les nids de *C. mckeyi* ont une distribution agrégée au sein d'un patch de *L. a. africana*. Un effet important de la distance sur la fermeture coloniale est mis en évidence (test exact de Fisher bilatéral $P < 0,001$) : tous les nids distants de moins de 1m présentent des comportements d'acceptation des ouvrières issues de nids différents, alors que quand la distance entre les nids dépasse 6m, ce comportement n'est plus observé. L'observation de comportements d'acceptation très discriminants a permis de repérer 5 colonies polydomes (composées de 2 à 5 nids) sur un total de 25 nids analysés pour les comportements.

Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence par une analyse de l'allocation des ressources à l'échelle des colonies. Elles ont toutes une stratégie d'allocation des ressources biaisée vers la croissance de la colonie : l'investissement dans les ouvrières par rapport à l'investissement total est supérieur à 0,7 pour 93% des colonies. De plus, la sexe ratio d'investissement est très variable (de 0 à 1!), mais aucun effet de la 'domie' sur la distribution des sexe ratios n'a été trouvé (test exact de Fisher bilatéral $P > 0,1$). Les colonies ne produisant que des mâles (42% des colonies) biaisent la sexe ratio de la population vers les mâles (SRpop = 0,55). A l'échelle des nids, la proportion de nids n'investissant que dans un sexe est équivalente quelque soit la 'domie' (test exact de Fisher bilatéral $P > 0,1$). Nous notons aussi une abondance de nids sans reine au sein des colonies polydomes, suggérant que la monogynie caractéristique de l'espèce est conservée dans ces colonies.

Les premiers résultats des analyses génétiques sont concluants et semblent effectivement révéler une forte différenciation entre colonies et une bonne homogénéité intra-colonie. Les conclusions liées aux analyses génétiques et chimiques seront plus précises lors du colloque de septembre 2002.

CONCLUSION

Chez *C. mckeyi*, une grande variabilité s'exprime dans la taille et les patterns d'agrégation des colonies, dans l'allocation des ressources énergétiques entre ouvrières et sexués, ainsi que dans la nature plus ou moins parasite de l'interaction. Nous avons montré qu'un autre trait d'importance est variable chez cette espèce : la capacité à former des colonies polydomes. Toutes les colonies de cette espèce sont monogynes : la polydomie ne serait donc pas liée à une polygynie facultative. Aucun syndrome propre aux colonies polydomes n'est mis en évidence alors que l'espèce dans son ensemble tend à exprimer des traits proches du syndrome de polydomie. Deux explications semblent possibles: (1) la polydomie chez *C. mckeyi* est un phénomène courant et très labile (liée à la stratégie d'approvisionnement?); (2) les traits observés sont dus à d'autres phénomènes (polyandrie?).

Le syndrome de polydomie chez les fourmis

Les avancées récentes dans nos connaissances de la biologie des fourmis rendent nécessaire l'établissement d'une nouvelle définition, claire et sans ambiguïté de ce qu'est une structure polydome. Dans une revue à paraître (Debout *et coll.*, en prép.), nous avons recensé tous les cas connus et définis comme tels de polydomie chez les fourmis, pour essayer d'abord de redéfinir les différents niveaux de la polydomie, puis de caractériser ce syndrome en recherchant un ensemble de traits d'histoire de vie toujours associés à cette structure des colonies.

En prenant comme définitions communes qu'une colonie est un groupe d'ouvrières apparentées et un ou plusieurs individus reproducteurs, et que le nid est la structure spatiale qui abrite la colonie, nous définissons une colonie comme polydome si et seulement si les individus (ouvrières et couvain) sont présents dans tous les nids et continuellement échangés entre eux, et si ces nids fonctionnent comme une seule unité sociale. Cette définition précise, et très largement acceptée, diffère de celle de la polycalie où tous les nids contiennent au moins une femelle pondreuse, des ouvrières et du couvain (Forel, 1874). Valable généralement pour les colonies de *Formica* sp., cette définition excluait les espèces monogynes étudiées sur la structure complexe des colonies.

D'après notre étude, le syndrome de la polydomie est caractérisé par plusieurs traits spécifiques comme: (a) une distribution spatiale agrégée des nids, (b) une fermeture coloniale très marquée et une agressivité intracoloniaire très faible, (c) un sexe ratio de la colonie généralement biaisé vers les mâles, (d) un apparentement génétique fort entre individus de nids de la même colonie, (e) un profil cuticulaire « commun » à tous les individus de la colonie. De manière générale, nous mettons en évidence une tendance au budding, l'absence de corrélation entre polygynie et polydomie, l'existence d'une polydomie plutôt saisonnière chez les fourmis tempérées (Alloway et coll., 1982 ; Herbers, 1987, 1989) et plutôt continue chez les espèces tropicales. Enfin, nous montrons également que beaucoup d'espèces arboricoles sont polydomes, cet aspect ayant souvent été négligé (sans doute parce qu'il nécessite une analyse en 3D de la structure des nids). Cette étude bibliographique révèle un besoin important en études empiriques claires et en prédictions théoriques testables, afin de comprendre les causes et les conséquences de la polydomie chez les fourmis. Les espèces chez lesquelles la polydomie est un trait variable entre et au sein des populations sont des espèces censées être des modèles d'étude prometteurs pour décortiquer les pressions de sélection qui agissent sur ce trait et sur les traits associés. C'est dans cette optique que nous travaillons sur l'espèce *C. mckeyi*, fourmi à plante associée à la légumineuse *L. a. africana*.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été financés par l'Institut Français de la Biodiversité (IFB). Nous remercions le Ministère camerounais de la Recherche, des Sciences et des Techniques pour avoir permis cette recherche, les laboratoires de l'INRA-CBGP et du CNRS-CEFE (Montpellier) pour avoir accueilli nos travaux moléculaires, et l'équipe du Laboratoire de Neurobiologie et de l'Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie (Marseille) pour avoir mené à bien les analyses chimiques sur les composés cuticulaires des fourmis.

REFERENCES

- Alloway T M., Bushinger A, Talbot M, Stuart R J, Thomas C. 1982. Polygyny and polydomy in three north American species of the ant genus *Leptothorax* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche* 89: 249-274.
- Debout G., Dalecky A., Mondor G., Estoup A. & Rasplus J.-Y. 2002. Isolation and characterisation of polymorphic microsatellites in the tropical plant-ant *Cataulacus mckeyi* (Formicidae: Myrmicinae). *Mol. Ecol. Notes*, sous presse.

- Debout G. & McKey D. 2002. Polydomy in *Cataulacus mckeyi* and social implications. En prép.
- Debout G., Schatz B., Elias M. & McKey D. 2002. Polydomy in ants, a review. En prép.
- Forel A. 1874. *Les fourmis de la Suisse*. Société Hevétique des Sciences Naturelles & Académie Française des Sciences. 452 pp.
- Herbers J M. 1987. Population structure in *Leptothorax longispinosus*. In: *Chemistry and Biology of Social Insects*, Anonymous München: pp. 35-36.
- Herbers J M. 1989. Community structure in north temperate ants: temporal and spatial variation. *Oecologia* 81: 201-211.
- Hölldobler B, Wilson E O. 1977. The number of queens: an important trait in ant evolution. *Naturwissenschaften*, 64: 8-15.
- Hölldobler B, Wilson E O. 1990. *The ants*, Belknap Press - Harvard Univ. Press.

MODIFICATIONS DES COMMUNAUTÉS FONGIQUES DU SOL SOUS L'ACTION DE PLUSIEURS ESPECES DE TERMITES MACROTERMITINAE

M. Diouf^{1,2}, A. Brauman¹, C. Rouland-Lefèvre²

1 UR IBIS, IRD-Bel Air, Dakar, Sénégal

2 UMR BFS, U. Paris XII-Val de Marne 94010 – Créteil cedex

RESUME

Les structures de récoltes construites par les termites peuvent représenter un apport de sol en surface de près de 3 tonnes par hectare et par an. Ces structures biogéniques présentent des caractéristiques physico-chimiques et une population bactérienne nettement différentes de celles du sol témoin. Compte tenu de l'importance des champignons dans le fonctionnement biologique du sol, une étude a été entreprise en microbiologie et en biologie moléculaire afin de voir si cette modification de la microflore pouvait également être observée au niveau des communautés fongiques.

INTRODUCTION

De nombreux travaux sur la faune du sol ont montré que celle-ci participe activement à l'organisation physico-chimique des constituants du sol et au maintien des propriétés édaphiques à travers ses effets sur la décomposition de la matière organique, la concentration et le stockage des nutriments, la redistribution et l'organisation des constituants organiques et minéraux du sol mais aussi par l'élaboration de structures physiques comme les galeries et les agrégats (Beare *et al.*, 1997 ; Lavelle et Spain, 2001). Parmi cette faune du sol, les organismes "ingénieurs" (*sensu* Jones *et al.*, 1994) ont de profonds effets sur la constitution et la structure du sol ce qui peut en modifier le fonctionnement. La première manifestation de l'activité des organismes ingénieurs est la formation de structures biogéniques de nature, taille et constitution très diverses, ce sont : les buttes, les placages, les galeries et les chambres des termites ; les galeries et les turricules des vers de terre. Ces structures présentent des caractéristiques physico-chimiques et une activité bactérienne différentes du sol témoin (Fall *et al.*, 1999 ; Seugé, 2002).

Le rôle des populations fongiques dans le fonctionnement des sols est fondamental. Les champignons du sol sont en effet les principaux acteurs du recyclage des molécules végétales difficilement biodégradables comme la cellulose et la lignine et leur importance dans la nutrition azotée des plantes ainsi que dans le stockage du phosphore n'est plus à démontrer.

L'objectif de ce travail est donc de déterminer si les modifications des caractéristiques physico-chimiques et de la composante bactérienne mises en évidence dans certaines structures biogéniques superficielles de termites par rapport au sol environnant s'étendent à la communauté fongique.

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique

Des placages de trois espèces de termites champignonnistes de la sous-famille des *Macrotermitinae* (Isoptères, Termitidae): *Macrotermes subhyalinus*, *Odontotermes nilensis* et *Ancistrotermes guineensis* ont été récoltés sur un terrain herbacé de l'ENSA (Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie -Thiès - Sénégal), juste à la fin de la saison des pluies. Sur le même terrain, des prélèvements de sol non remanié ont été effectués à deux profondeurs différentes : 0-20cm et 20-40cm. Pour chaque profondeur, 5 échantillons de 250g ont été collectés et mélangés pour constituer un sol témoin composite. Les pourcentages d'humidité de sols ont été déterminés, puis les sols conservés à 4 °C avant leur étude.

Numération, isolement et culture des souches fongiques

La numération des souches fongiques a été réalisée par la technique des suspensions-dilutions, sur le milieu solide de Sabouraud additionné d'un antibiotique : le Chloramphenicol (Sigma) à 0.005% à partir de 20g de sol (ou de placages) mis en solution dans 200ml de solution dispersante. Les cultures sont incubées à 30° C et comptées tous les jours pendant 5 jours. Les différents morphotypes sont ensuite isolés sur le même milieu de Sabouraud.

Richesse spécifique

Celle-ci est estimée en fonction d'une part de la fréquence des différents morphotypes cultivables rencontrés d'autre part par électrophorèse en gradient dénaturant (DGGE) après amplification selon la technique de Vanio et Hantula, 2000.

RESULTATS

1-Numération

Le nombre de champignons isolés par gramme de sol sec n'est pas statistiquement différent entre le sol témoin superficiel et le sol témoin profond (Tableau 1). Par contre les structures construites par les 3 espèces de termites sont significativement plus riches en souches fongiques que les deux sols témoin. Les constructions de *M. subhyalinus* et *O. nilensis* présentent une densité fongique similaire enrichie plus de 10 fois par rapport au sol témoin. Les placages de *A. guineensis* présentent la plus importante densité fongiques, 15 fois supérieure à ce qui est observé dans les placages des deux autres espèces.

Structures	Nombre de colonies/g sol sec)	
Témoin superficiel (0-20 cm)	8440,200 (± 2620,050)	a
Témoin profond (20-40cm)	3538,200 (± 505,750)	a
Placages de <i>Macrotermes subhyalinus</i>	85688,200 (± 19193,200)	b
Placages d' <i>Odontotermes nilensis</i>	85313,800 (± 20691,381)	b
Placages d' <i>Acistrotermes guineensis</i>	130574,083 (± 12301,542)	c

Tableau 1 : Comptage de colonies et des morphotypes de champignons par la méthode des suspensions-dilutions.

2- Richesse spécifique

La répartition des champignons suivant leurs traits morphologiques a permis de distinguer respectivement 11, 12, 15, 18 et 21 morphotypes dans respectivement le sol témoin superficiel, le sol témoin profond, les placages d' *O. nilensis*, de *M. subhyalinus* et d'*A. guineensis*.

	<i>A.guineensis</i>	<i>O. nilensis</i>	<i>M. subhyalinus</i>	Témoin super	Témoin profond
Trv	0,65	2,28	-	73,2	28,57
T2	-	-	-	1,03	28,57
As	8,39	-	-	-	-
Ajb	7,1	-	-	-	-
Ae	3,23	-	-	-	-
O5	0,65	5,15	-	-	-
O7	-	4,12	-	-	-
M1	1,29	13,4	13,4	-	-
M2	2,58	-	12,2	-	-

Tableau 2 : pourcentage de représentation des souches sélectionnées dans les différents échantillons

Cette diversité est corrélée positivement à la densité fongique des échantillons ($R=0.951$, $n=5$ et $p<0.01$). D'autre part, le dendrogramme de similarité réalisé à partir de la présence ou de l'absence de ces morphotypes dans les différents échantillons montrent d'une part que les échantillons de placages sont plus proches entre eux que des sols témoins, d'autre part que les placages de *M. subhyalinus* et de *O. nilensis* ont plus de similitude entre eux qu'avec les structures d'*A. guineensis*.

A partir des cultures, un certain nombre de souches ont été isolées en fonction de leur représentativité numérique soit dans les sols témoins soit dans les structures (Tableau 2).

3-Structure des communautés fongiques

L'étude de la structure des communautés fongiques par la technique moléculaire de la DGGE a permis de mettre en évidence une plus grande diversité puisque 20 bandes pour *M. subhyalinus*, 28 bandes pour *O. nilensis*, 23 bandes pour *A. guineensis*, et respectivement 21 et 20 bandes pour les sols témoins superficiel et profond ont été trouvés (Fig.1).

Cependant, comme précédemment la plus grande diversité est trouvée dans les placages d'*A. guineensis* et la plus faible dans le sol témoin. Le dendrogramme de similarité réalisé à partir des profils d'électrophorèse montre une répartition des différentes structures semblables à ce qui a été obtenu par l'étude directe des morphotypes (Fig.2)

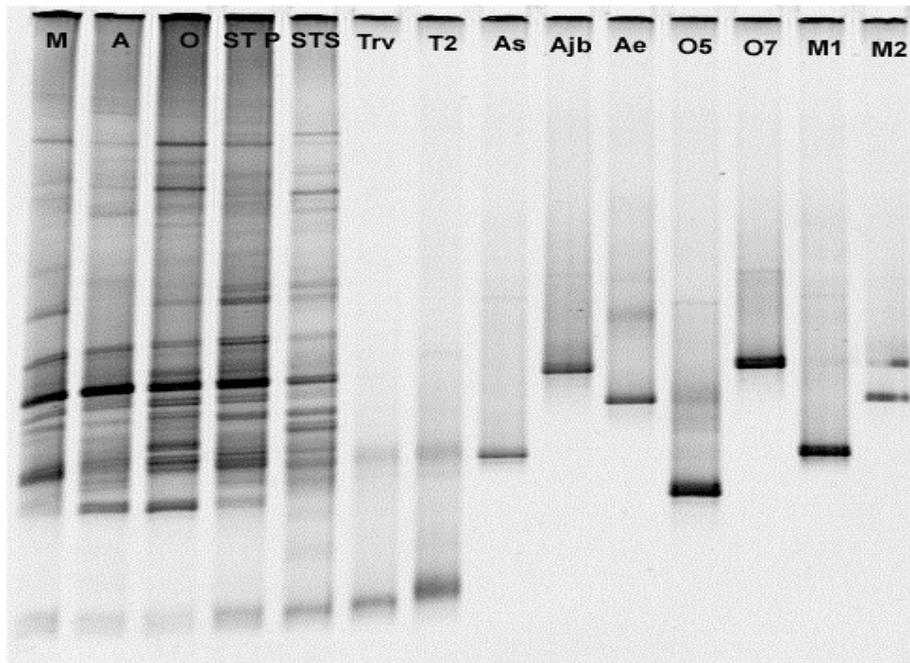


Fig. 1 : Profil en DGGE des différentes structures, des sols témoin et des souches sélectionnées.

La comparaison des migrations en DGGE des souches sélectionnées avec les profils totaux des différents échantillons (Fig.1) montre que toutes les souches quantitativement importantes en culture sont également présentes dans les profils électrophorétiques des échantillons.

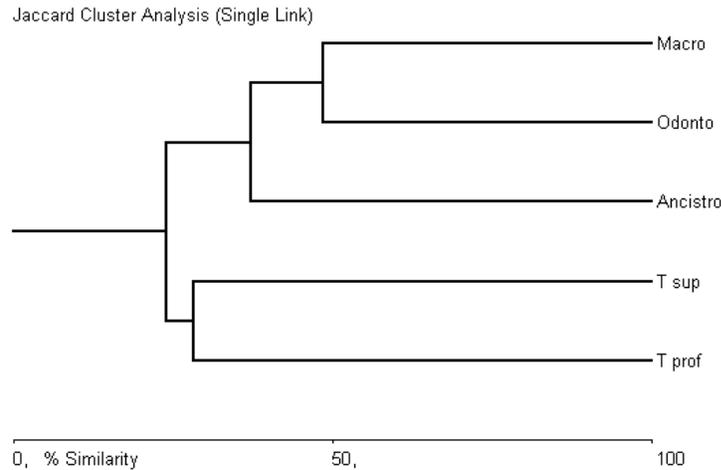


Fig. 2 :Dendrogramme de similarité obtenu à partir de la répartition et de l'intensité des bandes d'ADN obtenues en DGGE.

DISCUSSION

Les placages des termites étudiés dans ce travail présentent une nette augmentation de leur densité fongique par rapport au sol environnant ce qui est en accord avec les observations de Mohindra et Mukerji (1982) qui signalent une augmentation de la densité fongique de buttes de termites par rapport au sol témoin. Les placages sont caractérisés par un apport de nouveaux substrats, une augmentation de la teneur en eau, un enrichissement en glycoprotéines et en acides aminés provenant des sécrétions des termites qui les ont construits (Seugé *et al.*, 1999 ; Fall *et al.*, 2001). L'ensemble de ces modifications contribuerait à la réactivation des micro-organismes dormants et des propagules.

L'augmentation de la densité fongique dans les structures termitiques est corrélée à une augmentation de la diversité des morphotypes cultivables par rapport au sol témoin. Quelle que soit la technique utilisée (microbiologie classique ou biologie moléculaire), les dendrogrammes de similarité, réalisés à partir de la diversité fongique des différentes structures, montrent que d'une part les structures biogéniques sont plus proches entre elles que du sol témoin, d'autre part qu'il existe plus de similitudes entre les structures d'*O. nilensis* et celles de *M. subhyalinus* qu'avec celles d'*A. guineensis*.

Le dernier résultat fort de ce travail est de montrer que les souches cultivables, bien que ne représentant que 10% des souches présentes dans le sol (Lavelle et Spain, 2001) constituent, dans le milieu étudié, une part quantitativement élevée des communautés fongiques telluriques.

REFERENCES

- Beare M. H., Hu H., Coleman D. C., Hendix P. F. 1997. Influence of mycelial fungi on soil aggregation and organic matter storage in conventional and no-tillage soils. *Applied Soil Ecology*, **5** : 211-219
- Fall S., Brauman A., Chotte J.L. 2001. Comparative distribution of organic matter in particules and aggregate size fractions in the mounds of termites with different feeding habits in Sénégal : *Cubitermes niokoloensis* and *Macrotermes bellicosus*. *A.S.E.*, **17**, 131-140.
- Jones C.G., Lawton J.H., Shachak M. 1994. Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, **69**, 373-386
- Lavelle P., Spain A.V. 2001. *Soil Ecology*. Kluwer Acad. Publ., N.L., 684p.
- Mohindra P. and Mukerji K. G. (1982)- Fungal ecology of termite Mounds ; *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **19** (3) : 351-361

Seugé C., Rouland C., Fall S., Brauman A., Mora P. 1999. Importance of earthworms'casts and sheetings of some termite species in different fallows (Kolda, Sénégal). In "La jachère en Afrique Tropicale", vol II, 141-149.

Vainio E.J., Hantula J. 2000. Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA. *Mycol. Res.*, 104, 927-936.

INFLUENCE DE *CREMATOGASTER SCUTELLARIS* (HYMENOPTERA : MYRMICINAE)
SUR DEUX COMMUNAUTÉS DE FOURMIS

J.F. Marlier¹, B. Schatz², J.C. de Biseau¹

¹ Biologie des communautés animales, Université Libre de Bruxelles
C.P. 160/12, Av. F.D. Roosevelt n°50 B-1050 Bruxelles, Belgique

² Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive (CEFE)

UPR 9056 CNRS, 1919 route de Mende, F-34293 Montpellier Cedex 5, France

RESUME

Faisant partie d'un genre à répartition plutôt tropicale, *Crematogaster scutellaris* est la seule espèce européenne qui présente les caractéristiques principales des *Crematogaster* dominantes. Nous avons comparé la communauté de fourmis sur deux sites d'études, l'un représentant l'habitat naturel de *C. scutellaris*, et l'autre une plantation de figuiers. Dans son habitat naturel, *C. scutellaris* est dominante dans les arbres et co-dominante au sol avec *Pheidole pallidula*. La variation d'abondance des espèces de fourmi en différents endroits du terrain expérimental s'explique par la proximité immédiate de *C. scutellaris* mais aussi par d'autres facteurs comme la ségrégation temporelle des rythmes d'activité et les différences de micro-habitats (milieu hétérogène). Dans la plantation de figuiers, milieu plus homogène et plus ouvert, *C. scutellaris* est co-dominante avec *P. pallidula* dans les arbres où elle nidifie. Au sol, *C. scutellaris* n'est pas dominante et la présence d'autres espèces est beaucoup plus marquée. *Lasius neglectus*, une espèce invasive présente sur le terrain, était peu abondante lors de nos relevés. Nos observations suggèrent toutefois que la compétition entre cette espèce et *C. scutellaris* devrait être forte, et nécessiterait une étude plus approfondie.

INTRODUCTION

Les fourmis du genre *Crematogaster* sont généralement arboricoles, creusent leurs nids dans les troncs ou les branchettes, ou construisent des nids cartonnés. Elles sont souvent dominantes dans leur milieu, empêchant des termites (Leponce *et al.*, 1999) ou d'autres fourmis de coloniser l'arbre qu'elles occupent (Room, 1971 ; Cole, 1983a, 1983b ; Dejean, 1999 ; Dejean *et al.*, 2000 ; Dejean & Gibernau, 2000). Même si de nombreux relevés les placent parmi les espèces les plus fréquentes, dépassant parfois d'autres espèces réputées comme dominantes (celles du genre *Oecophylla*, par exemple), il n'existe pas d'explication convaincante sur les raisons de leur succès écologique.

La seule espèce européenne de ce genre qui présente des caractéristiques similaires aux *Crematogaster* tropicales dominantes est *C. scutellaris* qui est arboricole, polydome, abondante dans son biotope (ici, le bassin méditerranéen) et qui présente un comportement nidificateur flexible ainsi qu'un fourragement sur de grandes distances (Soulié, 1962 ; Casevitz-Weulersse, 1970, 1972, 1991). Dans son habitat typique (les forêts de pins et de chênes lièges), elle est considérée comme dominante ou co-dominante avec *P. pallidula* (Cammell *et al.*, 1996 ; Way *et al.*, 1997). Cependant, peu de choses sont connues sur son niveau de dominance et la compétition intra- et interspécifique. Cette étude s'inscrit dans un cadre plus large de recherche sur les aspects de la biologie de *C. scutellaris* (niveau d'agressivité intra- et interspécifique, compétition pour l'accès aux sources alimentaires, utilisation de la sécrétion défensive) permettant d'expliquer l'établissement de la dynamique de la dominance qu'elle exerce sur les communautés méditerranéennes de fourmis. Les résultats présentés ici concernent la comparaison entre deux sites d'étude : une pinède représentant l'habitat naturel de *C. scutellaris* et une plantation de figuiers, où *C. scutellaris* est moins abondante et forme des colonies plus petites.

MATERIEL ET METHODES

Le premier site d'étude est situé à La Garde-Freinet (Var, France). Le sol de type siliceux comporte de grands bancs de roche, entre lesquels sont présentes plusieurs espèces d'arbres (*Pinus pinea* L., *Quercus suber* L., *Q. ilex* L., *Juniperus oxycedrus* L. et *Phyllirea angustifolia* L.), ainsi qu'une couverture de lichens, de cistes (*Cistus monspeliensis* L. et *C. salviaefolius* L.), de lavandes (*Lavendula stoechas*), de thym (*Thymus vulgaris*), et une strate herbacée caractérisée par une grande variété d'espèces annuelles. Représentant l'habitat naturel de *C. scutellaris*, ce site correspond à une zone de 11200 m² (160 m x 70 m) où sont présents de nombreux nids de cette espèce.

Le second site d'étude est une plantation de figuiers (*Ficus carica* L.) âgée de 35 ans, d'une surface de 4000 m² (200m x 20m, 5 rangées espacées de 3m) et située sur le terrain expérimental du CEFÉ (Montpellier). Ce milieu, non naturel, a été choisi comme point de comparaison où l'espèce *C. scutellaris* semble moins présente (nombre et taille des colonies). De plus, la présence d'une seule essence, de petite taille sur un sol dégagé nous a permis d'étudier plus en détail la structure de la communauté de fourmis.

Nous avons inspecté les arbres des deux sites d'étude pour y noter la présence de *C. scutellaris* et des autres espèces de fourmis. Nous avons aussi relevé la présence des nids de *C. scutellaris*. A Montpellier, nous avons pu détecter les nids des autres espèces dans les arbres, ce qui ne fut pas possible à La Garde-Freinet en raison de la taille des arbres et de la configuration du sol. Pour déterminer le niveau de compétition interspécifique et mettre en évidence les espèces potentiellement compétitrices, nous avons utilisé des appâts placés autour de six colonies de *C. scutellaris*. Nous avons fait de même pour six arbres où cette espèce était absente. Dans chaque cas, 8 appâts (source d'eau sucrée de ≈ 0,5 M) sont placés autour de l'arbre (distance ≈ 2 m), et 2 dans l'arbre (à 0,5 et 1,5 m de haut). Les sources sont placées entre 8h et 9h du matin, le premier relevé est effectué 1h30 à 2h après l'installation des appâts. Les fourmis présentes sont comptées le matin (10h00), en début d'après-midi (14h00) et le soir (18h00). Les résultats comparés ici proviennent de juin 2001 pour La Garde-Freinet et juin 2002 pour Montpellier.

RESULTATS

Les espèces présentes sur les deux sites sont assez similaires, et caractéristiques du milieu méditerranéen (Tab. 1). *Crematogaster scutellaris* est présente dans 59,72% des arbres du terrain de La Garde-Freinet, tandis que ce pourcentage n'atteint que 37,59% à Montpellier. Si l'on ne considère que le Chêne liège et le Pin parasol pour le terrain de La Garde-Freinet, ce pourcentage atteint 77,44%. Sur ce terrain, les autres espèces sont peu présentes (entre 1 et 5%) sauf pour *Camponotus lateralis* qui atteint 17,59%. Cette dernière espèce s'observe dans les mêmes proportions sur le terrain de Montpellier tandis que les autres espèces sont beaucoup plus présentes (entre 20 et 30%), dépassant même *Crematogaster scutellaris*, comme c'est le cas pour *Plagiolepis pygmaea* (78,10%) et *Camponotus aethiops* (46,72%). Le genre *Lasius* est représenté sur chacun des deux terrains par une espèce particulière : *Lasius sp.* à La Garde-Freinet et *L. neglectus* à Montpellier. D'autres espèces sont présentes sur les sites d'étude mais ne sont répertoriées ici, soit parce qu'elles ont été observées en trop petite quantité soit simplement parce qu'elles restent au sol. C'est le cas de *Messor barbarus* et *Cataglyphis cursor* pour les deux terrains, *Camponotus sylvaticus* pour La Garde-Freinet et *Leptothorax rabaudi* pour Montpellier.

Tableau 1 : Fréquentation des arbres par les différentes espèces sur les deux sites (*: voir texte)

%		La Garde-Freinet	Montpellier	Chi ²
% de fréquentation des espèces	<i>Crematogaster scutellaris</i>	59,72 / 77,44*	39,78	P < 0,0001
	<i>Crematogaster auberti</i>	1,85	-	-
	<i>Plagiolepis pygmaea</i>	2,31	74,45	P < 0,0001
	<i>Pheidole pallidula</i>	2,31	32,48	P < 0,0001
	<i>Camponotus aethiops</i>	0,93	63,14	P < 0,0001
	<i>Camponotus piceus</i>	4,17	63,14	P < 0,0001
	<i>Camponotus lateralis</i>	17,59	22,99	P = 0,1459
	<i>Lasius neglectus</i>	-	45,99	-
	<i>Lasius sp.</i>	5,09	-	-
	Nombre total d'arbres		216	274

La présence des différentes espèces à Montpellier est beaucoup plus élevée, suggérant l'existence d'une compétition interspécifique plus intense. De plus, 13,14% des arbres du terrain de Montpellier contiennent des nids de *C. scutellaris*. A La Garde-Freinet on atteint les 39,35% si on tient compte des toutes les espèces d'arbres. Si l'on considère séparément les chênes lièges et les pins parasols, la proportion d'arbres habités par *C. scutellaris* est de 78,95% et de 74,07%, respectivement. Néanmoins, il faut tenir compte de la nidification polydomique de cette espèce.

Tableau 2 : Compétition aux sources alimentaires sur les deux sites d'étude

arbre observé	avec nid de <i>C. scutellaris</i>				<i>C. scutellaris</i> absente			
	au sol		dans l'arbre		au sol		dans l'arbre	
	LGF	MTP	LGF	MTP	LGF	MTP	LGF	MTP
Terrain								
<i>C. scutellaris</i>	31,25	7,64	86,11	38,89	5,56	0	0	0
<i>P. pallidula</i>	26,39	35,42	0	25	20,83	36,81	8,33	16,67
<i>C. aethiops</i>	0	17,36	0	8,33	0	18,06	0	16,67
<i>C. piceus</i>	0	6,25	0	0	0	2,78	0	27,78
<i>C. lateralis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. pygmaea</i>	4,17	8,33	0	0	1,39	5,56	0	8,33
<i>L. neglectus</i>	-	2,78	-	0	-	1,39	-	0
<i>C. auberti</i>	3,47	-	0	-	17,36	-	36,11	-
<i>C. cursor</i>	4,17	4,17	0	0	15,28	13,19	0	0
<i>Lasius sp.</i>	0	-	0	-	2,08	-	41,67	-
Appâts non-exploités	29,17	14,58	13,89	13,89	36,11	20,14	13,89	22,22

LGF : terrain de La Garde-Freinet ; MTP : Terrain de Montpellier ; - signifie que l'espèce est absente ; les valeurs représentent les pourcentages d'occupation des appâts

La détermination du niveau de compétition interspécifique nous permet de mettre en évidence l'abondance relative des différentes espèces en fonction de la présence ou de l'absence d'un nid de *C. scutellaris* (Tab. 2). Celle-ci, autour des arbres contenant un de ses nids, est plus abondante sur le terrain de La Garde-Freinet (31,25% contre 7,64% à Montpellier). Il en est de même dans les arbres où elle est la seule espèce présente à La Garde-Freinet (86,11%). Quand *C. scutellaris* est absente, d'autres espèces se manifestent plus au sol : *Crematogaster auberti* pour La Garde-Freinet et *Cataglyphis cursor* pour Montpellier.

Par contre *Pheidole pallidula*, *Lasius neglectus*, *Plagiolepis pygmaea* et *Camponotus aethiops* ne semblent pas influencés par la présence de *C. scutellaris*. Dans les arbres on observe surtout *Lasius sp.* et *C. auberti* à La Garde-Freinet, *C. aethiops*, *P. pallidula* et *C. piceus* à Montpellier.

De manière générale, en présence de *C. scutellaris*, les appâts semblent plus partagés entre les différentes espèces à Montpellier qu'à La Garde-Freinet. En absence de *C. scutellaris*,

entre 3 et 5 espèces se partagent les ressources sur les deux sites. Les appâts non-exploités représentent 15 à 30%. Signalons que l'activité générale des fourmis lors de l'expérience en juin à Montpellier était assez faible en comparaison à de précédentes observations. *Lasius neglectus* était moins présente en juin qu'en avril (15%).

DISCUSSION

Par rapport au terrain de Montpellier, *C. scutellaris* est plus abondante sur le terrain de La Garde-Freinet, qui correspond mieux à son habitat typique (Casevitz-Weulersse, 1972, 1991; Cammell *et al.*, 1996). Dans son milieu naturel, cette espèce semble être la seule espèce dominante dans les arbres, alors qu'au sol, elle est co-dominante avec *P. pallidula*, ce qui a été observé par plusieurs auteurs (Cammell *et al.*, 1996 ; Way *et al.*, 1997). La co-dominance avec *P. pallidula* peut s'expliquer par une absence de défense d'un territoire absolu par *C. scutellaris*, laissant la possibilité à d'autres espèces d'exploiter les sources inoccupées. Cependant, lors de rencontres interspécifiques aux sources de nourriture, *C. scutellaris* chasse toujours *P. pallidula* (Marlier, obs. pers.).

A Montpellier, *C. scutellaris* est co-dominante avec *P. pallidula* dans les arbres où elle a un nid, et elle n'est pas dominante au sol. En général les autres espèces sont beaucoup mieux représentées qu'à La Garde-Freinet et ne semblent pas influencées par la présence de *C. scutellaris*. *Lasius neglectus*, une espèce invasive (Boomsma *et al.*, 1990) présente à Montpellier était peu abondante dans nos relevés. Cette espèce était beaucoup plus abondante lors de précédents relevés (avril 2002) et nos observations suggèrent que la compétition avec *C. scutellaris* devrait être forte. Des expériences complémentaires seront nécessaires pour étudier l'interaction avec *L. neglectus*, qui ne semble tolérer aucune autre espèce sur les arbres où elle fourrage.

D'autres espèces sont influencées par la présence de *C. scutellaris* comme *C. auberti*, *C. cursor*, *Lasius sp.* ou *C. piceus*. La présence de *C. cursor* autour des nids de *C. scutellaris* s'explique par son activité de fourragement aux heures les plus chaudes de la journée, alors que les autres espèces cessent leurs activités. Les arbres testés en absence de *C. scutellaris* se trouvent en milieu plus ouvert (La Garde-Freinet) ou sont plus petits et n'arrêtent pas le soleil (Montpellier), ce qui explique la présence plus importante de *C. cursor*. *Crematogaster auberti* est une espèce terricole (Soulié, 1962), dont nous ignorons à ce stade de l'étude si sa présence est réduite par celle de *C. scutellaris* ou si tout simplement elle ne niche que dans des milieux plus ouverts et inoccupés par cette dernière. Les arbres non-occupés par *C. scutellaris* sont occupés soit par *Lasius sp.*, soit par *C. auberti*.

CONCLUSION

Dans son habitat naturel, *C. scutellaris* est dominante dans les arbres où elle a un nid et co-dominante au sol avec *P. pallidula* (Cammell *et al.*, 1996 ; Way *et al.*, 1997). Dans les figuiers du terrain de Montpellier, milieu plus homogène et plus ouvert, elle est co-dominante avec *P. pallidula* dans les arbres où elle a un nid. Elle n'est pas dominante au sol et les autres espèces sont plus présentes qu'à La Garde-Freinet. S'il apparaît que *C. scutellaris* peut influencer la présence de certaines espèces, les différences d'abondance peuvent aussi s'expliquer par les différentes tolérances thermiques des espèces, séparant les rythmes d'activité de celles-ci dans le temps (Cros *et al.*, 1997 ; Cerda *et al.*, 1998) et par les différences au niveau de l'habitat, les séparant dans l'espace.

REMERCIEMENTS : Nous remercions l'équipe « Coévolution » de nous avoir accueilli au CEFÉ (Montpellier). Ce travail est soutenu par une bourse de thèse FRIA (Fonds pour la Formation à la Recherche dans l'Industrie et l'Agriculture) et une bourse de mission de la Communauté française de Belgique.

BIBLIOGRAPHIE

- Boomsma J.J. (1990) Proc. 11th International Congress IUSI, pp. 271-272.
- Cammell M.E., Way M.J. & Paiva M.R. (1996) *Insectes soc.* 43 : 37-46.
- Casevitz-Weulersse J. (1970) *L'entomologiste* 16 : 68-75.
- Casevitz-Weulersse J. (1972) *Bull. Soc. Ent. France* 77 : 12-19.
- Casevitz-Weulersse J. (1991) *Annls Soc. Entomol. Fr. (N.S.)* 27 : 103-111.
- Cerda X., Retana J. & Cros S. (1998) *Functional Ecology* 12 : 45-55.
- Cole B.J. (1983a) *J. Anim. Ecol.* 52 : 339-347.
- Cole B.J. (1983b) *J. Anim. Ecol.* 52 : 349-355.
- Cros S., Cerda X. & Retana J. (1997) *Ecoscience* 4 : 269-278.
- Dejean A. (1999) *Selbyana* 20 : 133-145.
- Dejean A. & Gibernau M. (2000) *Sociobiology* 35 : 385-401.
- Dejean A., McKey D., Gibernau M & Belin M. (2000) *Sociobiology* 35: 403-423.
- Leponce M., Roisin Y. & Pasteels J.M. (1999) *Insectes soc.* 46 : 126-130.
- Room P.M. (1971) *J. Anim. Ecol.* 40 : 735-751.
- Soulié J. (1962) *Ann. Sci. Naturelles Zoo.* 12^e S, 4 : 669-825.
- Way M.J., Cammell M.E., Paiva M.R. & Collingwood C.A. (1997) *Insectes soc.* 44 : 415-433.

CONTRIBUTION DU CHAMPIGNON DANS LA DEGRADATION DU MATERIEL VEGETAL
ET CAPACITES DIGESTIVES DES FOURMIS CHAMPIGNONNISTES
(*ATTA* ET *ACROMYRMEX*)

F.-J. Richard¹, C. Rouland², C. Errard¹

¹ Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS 6035. Faculté des Sciences et Techniques, Parc de Grandmont, 37200 Tours, France.

² Laboratoire d'Ecophysiologie des Invertébrés, Université Paris XII Val de Marne, Avenue du général De Gaulle. 94010 Créteil Cedex, France.

RESUME

Les fourmis champignonnistes (tribu des Attini) sont connues pour leur symbiose obligatoire avec le champignon qu'elles cultivent et qui leur servirait d'aliment. Les ouvrières découpent et apportent des fragments de végétaux nécessaires au développement et à la croissance du champignon. Afin de mieux comprendre ce système symbiotique nous avons comparé les enzymes digestives de fourmis et de leur champignon respectif (meule) chez deux espèces d'*Atta* (*A. cephalotes* et *A. colombica*) et une espèce d'*Acromyrmex* (*A. octospinosus*). Les majors des trois espèces présentent une activité particulièrement importante pour l' α -1,4 glucosidase, et une activité relativement faible - voire nulle - pour les autres substrats testés. En revanche, l'activité du champignon est plus importante que celle des ouvrières pour l' α -galactoside, et la β -galactoside. Mais surtout il se caractérise par de très fortes capacités enzymatiques sur l'amidon, notamment chez *Atta colombica*, le xylane et la carboxyméthylcellulose (CMC). En revanche, contrairement aux fourmis, les champignons présentent une faible activité α -glucosidase. Chez les 3 espèces étudiées, la dégradation des polysaccharides serait donc réalisée par le champignon, la fourmi possédant quant à elle les enzymes nécessaires à l'hydrolyse des dextroses en sucres simples utilisables directement par l'organisme. Ce travail permet ainsi de préciser la contribution du champignon dans la dégradation du matériel végétal consommé par les fourmis.

MOTS CLEFS : fourmis champignonnistes, symbiose, métabolisme digestif, enzymologie, *Atta* et *Acromyrmex*.

INTRODUCTION

Dans les forêts tropicales, les fourmis sont les premiers catalyseurs d'énergie. Elles contribuent à l'aération des sols, au recyclage des matières organiques et permettent la dissémination des graines de nombreuses plantes. Elles participent ainsi à l'équilibre de nombreux écosystèmes.

Les fourmis champignonnistes (genre *Atta* et *Acromyrmex*) sont présentes dans la zone néotropicale de l'Amérique latine. Le développement de plantations (monoculture d'eucalyptus) en Amérique du sud et de ce fait l'abondance des ressources ont favorisé la prolifération de ces espèces. Ces fourmis ont donc aujourd'hui le statut de ravageurs.

Les fourmis découpent et apportent du matériel végétal frais au nid. Ces derniers serviront de substrats pour la culture du champignon. La relation entre les fourmis et le champignon est une symbiose obligatoire. Les fourmis ne consommant pas directement les débris de végétaux, leur collecte n'est pas régulé par un système de satiété, ce qui explique qu'une colonie soit capable de couper toutes les feuilles d'un arbre en une journée.

Le champignon, essentiel pour leur survie, ne constituerait que 5% de l'alimentation des ouvrières, le reste étant fourni par la sève des végétaux (Bass & Cherrett, 1995). En revanche, ses fructifications (renflement terminaux des hyphes) sont mâchées et régurgitées par les ouvrières pour les larves (Wetterer, 1994). Le champignon cultivé semble être la

seule source de nourriture du couvain. Afin de mieux connaître l'alimentation des fourmis, des études sur les capacités digestives de ces dernières ont été menées. La fourmi *Acromyrmex octospinosus* sécréterait ses propres enzymes pour la digestion des polymères α -glucosidiques qu'elle consomme (Febvay & Kermarrec, 1983). Chez *Atta sexdens*, le champignon dégrade la cellulose de façon importante, devenant ainsi consommable par les fourmis (Bacci, et al., 1995). Chez *Acromyrmex subterraneus* les ouvrières ont une forte activité amylase, maltase, et saccharase alors que dans le champignon les activités principales sont celles intervenant dans la dégradation des constituants pariétaux (D'Etterre et al. 2002). Afin de mieux connaître les capacités digestives des fourmis et de dégradation des végétaux des champignons symbiontes, nous avons recherché la présence de certaines enzymes digestives chez trois espèces d'attines (*Atta cephalotes*, *Atta colombica*, et *Acromyrmex octospinosus*) ainsi que chez leur champignon respectif.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences sont réalisées sur trois espèces de fourmis attines récoltées au Panama, à Gamboa (avril 2002) : *Atta cephalotes*, *Atta colombica* et *Acromyrmex octospinosus*. Les conditions d'élevages sont proches des conditions naturelles (température : 25°C, hygrométrie : 50%). Tous les jours, les nids sont humidifiés et les colonies approvisionnées de matériel végétal frais (roses, troène), de morceaux d'oranges.

Les tests enzymatiques sont réalisés avec 0,5g d'ouvrières majors et 0,5g de meule de champignon pour les trois espèces. Chaque échantillon est broyé mécaniquement dans 5 ml d'eau distillée pendant 10 minutes. Les broyats ainsi obtenus sont centrifugés à 4°C pendant 20 minutes à 10 000t/mn. Le surnageant est mis à dialyser contre l'eau distillée à 4°C pendant 12h dans des boyaux de naturin, résistant aux cellulases. Ce dialysat constitue la solution enzymatique étudiée pour les dosages.

15 substrats ont été utilisés : 4 oligosaccharides naturels (maltose, saccharose, laminaribiose, cellobiose), 5 polysaccharides (amidon, laminarine, carboxymethylcellulose, xylane, pullulane) et 6 hétérosides synthétiques (α et β glucosides, α et β galactosides, β -xyloside, et N-acetyl glucosamine).

Les activités enzymatiques ont été dosées selon la méthode décrite par Rouland et al. (1986). Les extraits enzymatiques sont incubés à 37°C avec un tampon pH 5 (Mac Ilvain, 1921) pendant 30mn.

Les sucres réducteurs produits par l'hydrolyse des polysaccharides sont révélés par une technique de microdosage (Williams, et al., 1978) utilisant les réactifs de Somogyi et Nelson (Nelson, 1944; Somogyi, 1945). Les activités spécifiques sont exprimées en μ g de sucres réducteurs par gramme de fourmis ou gramme de champignon par minute.

RÉSULTATS

L'activité polysaccharidique (fourmis + champignon) (figure 1) est particulièrement forte chez *Atta colombica*, puis va en décroissant pour *Atta cephalotes* et *Acromyrmex octospinosus*. L'espèce *A. colombica* se caractérise par une très forte activité amylasique alors qu'*A. cephalotes* dégrade principalement la laminarine. L'activité hétérosidasique globale (figure 2) (fourmis + champignon) est nettement plus importante chez *A. octospinosus*, que chez *At. colombica* ou *A. cephalotes*. Les trois espèces présentent une activité α -glucosidasique plus de 5 fois supérieure à celles relevées pour les autres substrats. Les activités oligosaccharidiques (fourmis + champignon) (figure 3) sont sensiblement équivalentes entre *A. octospinosus* et *A. colombica* et plus faibles pour *A. cephalotes*.

Comparaison des activités enzymatiques fourmis/champignon : la division des rôles (fourmis/champignon) pour la dégradation de l'amidon et la laminarine est significativement

différente entre *A. octospinosus* et *A. colombica* (KW : H (n = 9, ddl2) = 7.2, p = 0.02). Concernant l'amidon, les ouvrières d'*A. octospinosus* ont une activité enzymatique trois fois supérieure à celle du champignon, alors que chez *A. colombica* c'est le champignon qui a une activité plus de trois fois supérieure à celle des fourmis.

Les activités enzymatiques ($\frac{\text{champignon}}{\text{(fourmis + champignon)}}$) sont significativement différentes entre *A. octospinosus* et *A. cephalotes* pour la laminarine, la cellulose, le xylane et le pullulane (KW : H (n=9, ddl2) =7.2, p= 0.02 ; et pour la cellulose : H=5,6, et p = 0,06). Ainsi, dans le cas du pullulane, l'activité est cinq fois plus élevée chez la fourmi *A. octospinosus* que chez son champignon, alors que pour *A. cephalotes* cette activité est exclusivement réalisée par le champignon. Pour les trois espèces, les autres activités enzymatiques ne sont pas significativement différentes chez les fourmis et leur champignon symbionte.

DISCUSSION

Nos résultats permettent de mieux comprendre les rôles respectifs des fourmis et du champignon dans la dégradation de la matière végétale. Les trois espèces étudiées présentent des caractéristiques communes et des particularités.

Chez les trois espèces, les fourmis assurent la dégradation du glycogène, de la chitine (N-acétyl), du maltose et du saccharose. Pour la laminaribiose et le cellobiose, les activités enzymatiques sont équivalentes chez les fourmis et les champignons des trois espèces.

Acromyrmex octospinosus se distingue par la forte activité laminarinase de son champignon et par des capacités enzymatiques équivalentes entre les fourmis et le champignon pour la dégradation de la cellulose et des hémicelluloses. *Atta colombica* se caractérise par une forte activité polysaccharidique du champignon et une forte activité oligosaccharidique des fourmis. Chez *Atta cephalotes* la dégradation du pullulane, du xylane et des hémicelluloses est essentiellement réalisée par le champignon. Les fourmis et le champignon présentent les mêmes capacités enzymatiques pour la dégradation de l'amidon et de la laminarine. En revanche, ce sont les fourmis qui ont l'activité enzymatique la plus importante pour la dégradation des oligosaccharides.

Les trois espèces cultivent un champignon et sont dépendantes de ce dernier. En effet, cette étude a mis en évidence les complémentarités de leurs relations symbiotiques pour la dégradation des végétaux. De plus, les symbioses sont différentes entre les trois espèces, le partage des rôles entre les fourmis et le champignon variant selon les substrats.

REMERCIEMENTS

Je remercie le Professeur J. Boomsma ainsi que toute son équipe pour leur aide lors de la récolte des colonies au Panama.

REFERENCES

- Bacci Jr, M., M. M. Anversa & F. C. Pagnocca, 1995. Cellulose degradation by *Leucocoprinus gongylophorus*, the fungus cultured by the leaf cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Anatomie van Leeuwenhoek*. 67: 385-386.
- Bass, M. & J. M. Cherrett, 1995. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. *Physiol. Entomol.* 20: 1-6.
- D'Ettorre, P., P. Mora, V. Dibangou, C. Rouland & C. Errard, 2002. The role of the symbiotic fungus in the digestive metabolism of two species of fungus-growing ants. *J. Comp. Physiol.* 172: 169-176.
- Febvay, G. & A. Kermarrec, 1983. Enzymes digestives de la fourmi attine *Acromyrmex octospinosus* (Reich) : caractérisation des amylases, maltase et tréhalase des glandes labiales et de l'intestin moyen. *C. R. Acad. Sc. Paris*. 296: 453-456.

Mac Ilvain, T. C., 1921. A buffer solution for colorimetric comparison. *J. Biol. Chem.* 49: 183-188.

Nelson, N., 1944. Photometric adaptation of Somogyi method for determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 153: 375-380.

Rouland, C., C. Chararas & J. Renoux, 1986. Etude comparée des osidases de trois espèces de termites africains à régime alimentaire différents. *C. R. Acad. Sc. Paris.* 302: 341-345.

Somogyi, M., 1945. Determination of blood sugar. *J. Biol. Chem.* 160: 61-68.

Wetterer, J. K., 1994. Nourishment and evolution in fungus-growing ants and their fungi. In: Nourishment and evolution in insect societies (Wetterer, J. K.), Westview Press, Boulder. 449 p., pp.309-328.

Williams, J., H. Villaroya & F. Petek, 1978. B- galactosidase II, III, and IV from seeds of *Trifolium repens*. *Biochem. J.* 175: 1069-1077.

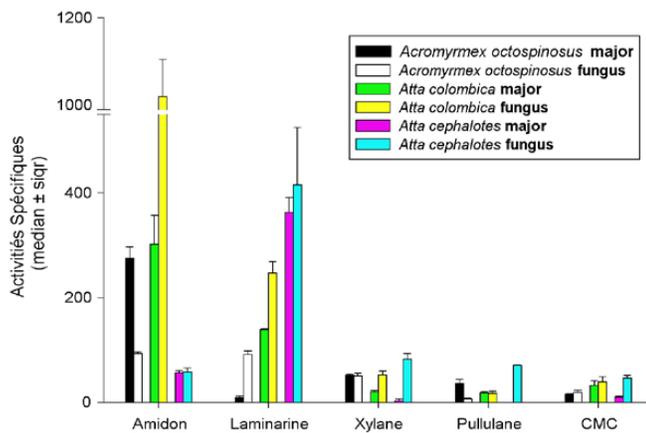


Figure 1. Spectres de différents polysaccharides des fourmis (majors) et de leur champignon chez trois espèces. L'activité spécifique est exprimée en μg de sucres réducteurs par gramme de fourmis ou gramme de champignon par minute.

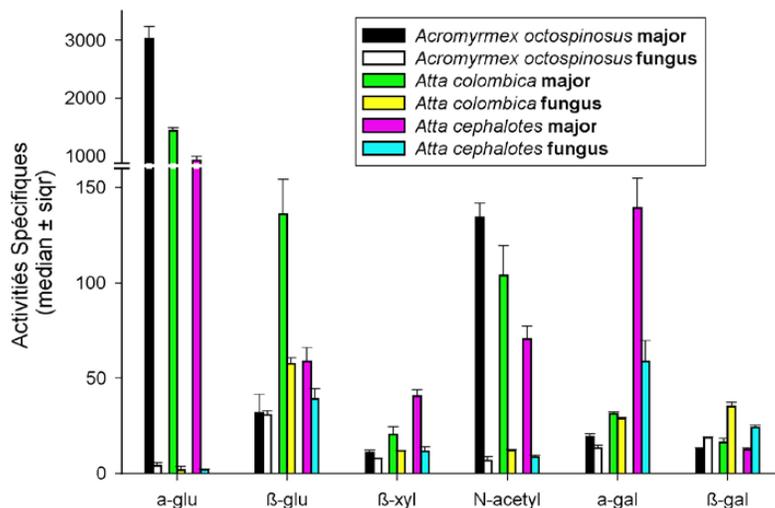


Figure 2. Spectres de différents hétérosides des fourmis (majors) et de leur champignon chez trois espèces. L'activité spécifique est exprimée en μg de sucres réducteurs par gramme de fourmis ou gramme de champignon par minute.

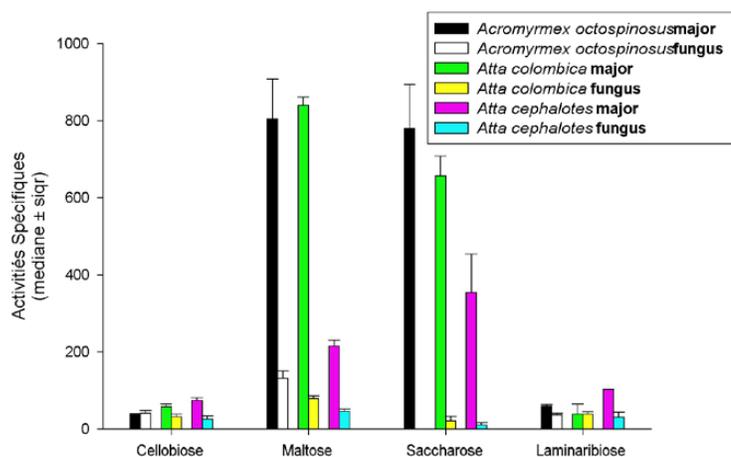


Figure 3. Spectres de différents oligosaccharides des fourmis (majors) et de leur champignon chez trois espèces. L'activité spécifique est exprimée en μg de sucres réducteurs par gramme de fourmis ou gramme de champignon par minute.

METAMORPHOSE DU PROFIL D'HYDROCARBURES CUTICULAIRES LORS DE
L'ACTIVATION OVARIENNE CHEZ LA FOURMI *LINEPITHEMA HUMILE*.

J.C. de Biseau¹, L. Passera², D. Daloz³, S. Aron¹

¹ Laboratoire de Biologie des Communautés Animales, Université Libre de Bruxelles CP160/12, 50 av. F. Roosevelt, 1050 Bruxelles, Belgique

² Laboratoire de Cognition Animale, Université Paul-Sabatier, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 4, France

³ Laboratoire de Chimie Bio-organique, Université Libre de Bruxelles CP160/07, 50 av. F. Roosevelt, 1050 Bruxelles, Belgique

RESUME

L'étude d'une population méditerranéenne de la fourmi d'Argentine, *Linepithema humile*, montre que les reines et les ouvrières possèdent des profils d'hydrocarbures cuticulaires qualitativement très différents. Les ouvrières se caractérisent principalement par la présence d'alcane lourds (C36 à C40). Chez les reines, ces composés sont pratiquement absents et sont remplacés par des alcanes plus légers (C27 à C35). Les jeunes femelles ailées possèdent un profil comparable à celui des ouvrières. Au cours du développement ovarien, une métamorphose du profil d'hydrocarbures s'observe chez les femelles fécondées ou non.

INTRODUCTION

Chez les fourmis, de nombreuses études ont montré l'existence d'une corrélation entre le profil d'hydrocarbures cuticulaires (HC) et la reconnaissance des congénères (Bonavita-Cougourdan et al., 1987 ; Vander Meer & Morel, 1998 ; Lenoir et al., 1999, 2001). Le rôle précis des HC en tant que signaux chimiques permettant l'identification des conspécifiques hétérocoloniaux a été clairement démontré chez la fourmi *Cataglyphis niger* (Lahav et al., 1999). Les HC sont donc considérés aujourd'hui comme les principaux signaux responsables de l'odeur coloniale (Lenoir et al., 2001). Chez certaines espèces, une analyse discriminante des profils d'HC permet également de faire la distinction entre castes ou entre individus remplissant des fonctions différentes au sein d'une même colonie (Bonavita-Cougourdan et al., 1990 ; Wagner et al., 1998 ; Tentschert et al., 2002).

Récemment, plusieurs travaux ont mis en évidence une transformation du profil d'HC en fonction de l'activité ovarienne chez les Ponerinae. Les modifications observées sont strictement quantitatives chez *Dinoponera quadriceps* (Monnin et al., 1998 ; Peeters et al., 1999) et *Diacamma ceylonense* (Cuvillier-Hot et al., 2001), tandis qu'elles sont quantitatives et partiellement qualitative (présence de 13,23-Dimethylheptatriacontane uniquement chez les individus fertiles) chez *Harpegnathos saltator* (Liebig et al., 2000). Très peu d'informations existent quant aux les différences de profils cuticulaires entre individus fertiles et stériles dans les autres sous-familles de Formicidae. Chez *Camponotus vagus*, le profil d'HC de la reine semble très proche de celui des ouvrières à l'entrée de l'hibernation alors qu'il s'en distingue très nettement en période d'activité ovarienne (Bonavita-Cougourdan et al., 1990). Chez *Leptothorax acervorum* et *L. gredleri*, les profils d'HC des reines et des

ouvrières peuvent être nettement distingués par une analyse en composantes principales (Tentschert et al., 2002). A l'inverse, le profil d'HC de la reine est indiscernable de celui des ouvrières chez *Cataglyphis niger* (Lahav et al., 2001). Ces différentes espèces présentent toutes une structure sociale monogyne ou faiblement polygyne, ainsi que des ouvrières potentiellement fertiles. Dans le présent travail, nous montrons pour la première fois une métamorphose très nette du profil d'HC en fonction de l'activité ovarienne chez la fourmi d'Argentine *Linepithema humile*, une fourmi hautement polygyne dont les ouvrières sont totalement stériles.

MATERIEL ET METHODES

Les fourmis ont été récoltées à Port Leucate (France) en janvier/février 2001. et ont été élevées dans des conditions standards de laboratoire (Passera et al., 1988) Chaque colonie expérimentale était composée de 20 à 30 reines et environ 4000 ouvrières mais sans couvain. Après 3 semaines, les reines ont été ôtées afin d'induire l'élevage de couvain sexué mâle et femelle (Passera et al. 1988). Au fur et à mesure de leur apparition, les nymphes mâles et femelles ont été placées séparément dans des petits nids d'élevage contenant 500 ouvrières orphelines. Les jeunes femelles vierges ont été réparties en deux lots. Dans le premier lot, les femelles vierges ont été maintenues en élevage avec les ouvrières. Bien que non fécondées, elles perdent leurs ailes après 1 - 14 semaines et se mettent à pondre en moyenne 18 jours après la perte des ailes (Passera et Aron, 1993). Dans le second lot, les jeunes femelles vierges ont été placées en présence de mâles. Tous les matins, les femelles désailées, supposées fécondées (reines), ont été prélevées ; certaines ont été analysées immédiatement, d'autres ont été installées en élevage avec 500 ouvrières.

Pour les analyses chimiques, 50 ouvrières ou 10 à 15 femelles (gynes ou reines) ont été tuées par congélation, puis placées dans un bain de 200 à 300 µl de pentane pendant 5 minutes. L'identification des HC a été réalisée par GC/MS (Fisons VG autospec MS couplé à Fisons GC 8065 ; colonne 25mx0.25mm OV1 ; programme :), à la fois en EI et en CI (pentane). Le profil d'HC de quelques reines et de quelques gynes a également été déterminé par SPME (Supelco 7-µm PDMS).

Après extraction des HC, les reines et les gynes ont été disséquées afin de vérifier le contenu de la spermathèque et le degré de développement ovarien (nombre d'ovocytes mûrs et de corps jaunes dans les deux ovaires).

RESULTATS

Nos résultats montrent que les ouvrières et les reines présentent des profils d'hydrocarbures cuticulaires qualitativement et quantitativement très différents. Le profil des ouvrières se caractérise principalement par la présence d'alcane lourds (C36 à C40) tandis que celui des reines fécondées pondueuses est dominé par des alcanes plus légers (C27 à C35).

Trois à 7 jours après l'éclosion, les jeunes femelles ailées possèdent un profil comparable à celui des ouvrières. Au fur et à mesure du développement ovarien, une métamorphose du profil d'hydrocarbures s'observe chez ces femelles, qu'elles soient fécondées ou non. Trois semaines après la chute des ailes, des œufs sont observés dans les nids et la dissection révèle une activité ovarienne nette chez les reines et les gynes. A ce stade, les jeunes reines et les jeunes gynes pondueuses présentent un profil d'HC très proche de celui des vieilles reines pondueuses.

DISCUSSION

Chez *Linepithema humile*, les profils d'HC des ouvrières et des reines présentent des différences qualitatives et quantitatives très importantes. C'est la première fois qu'une telle variation du profil d'HC entre individus appartenant à une même colonie est observée chez les fourmis. Dans la mesure où les colonies invasives de la fourmi d'Argentine sont toujours fortement polygynes, on peut considérer qu'il existe au sein du nid deux sous-populations d'individus présentant des profils d'HC très différents. Plus précisément, il apparaît ici que les reines peuvent partager entre elles une odeur qui leur est propre et qui diffère très nettement de celle des ouvrières. La stabilité de cette situation est peu compatible avec le modèle classique proposé pour expliquer l'origine de l'odeur coloniale chez les fourmis (Lenoir et al., 2001). De plus, les résultats obtenus avec *L. humile* ne correspondent à aucun des deux modèles concernant le rôle des reines dans l'élaboration de l'odeur coloniale (Lahav et al., 1998 ; Lenoir et al., 2001). En particulier, le modèle suggéré dans le cas des espèces polygynes postule que ce sont les ouvrières qui sont à l'origine de l'odeur coloniale et que les reines acquièrent une odeur individuelle proche de l'odeur « moyenne » de la colonie. Ce modèle, testé et confirmé chez *Cataglyphis niger* (Lahav et al., 1998) ne s'applique absolument pas à *L. humile*. La fonction biologique des différences majeures du profil d'HC entre reines et ouvrières chez *L. humile* reste à élucider.

REFERENCES

- Bonavita-Cougourdan A., Clément J.L., Lange C., 1987. Nestmate recognition: the role of cuticular hydrocarbons in the ant *Camponotus vagus* Scop. J. Entomol. Sci., 22, 1-10.
- Bonavita-Cougourdan A., Clément J.L., Povéda A., 1990. Les hydrocarbures cuticulaires et les processus de reconnaissance chez les fourmis : le code d'information complexe de *Camponotus vagus*. Actes Coll. Insectes Soc., 6, 273-280.
- Cuvillier-Hot V., Cobb M., Malosse C., Peeters C., 2001. Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. J. Insect Physiol., 47, 485-493.
- Lahav S., Soroker V., Vander Meer R.K., Hefetz A., 1998. Nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*: do queens matter ? Behav. Ecol. Sociobiol., 43, 203-212.
- Lahav S., Soroker V., Hefetz A., Vander Meer R.K., 1999. Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. Naturwissenschaften, 86, 246-249.
- Lahav S., Soroker V., Vander Meer R.K., Hefetz A., 2001. Segregation of colony odor in the desert ant *Cataglyphis niger*. J. Chem. Ecol., 27, 927-943.

- Lenoir A., Fresneau D., Errard C., Hefetz A., 1999. Individuality and colonial identity in ants : the emergence of the social representation concept. In : Information preprocessing in Social Insects, Detrain C., Deneubourg J.L., Pasteels J.M. (eds), Birkhäuser, Basel, pp. 219-237.
- Lenoir A., D'Etterre P., Errard C., Hefetz A., 2001. Chemical ecology and social parasitism in ants. *Annu. Rev. Entomol.* 46, 573-599.
- Liebig J., Peeters C., Oldham N.J., Markstadter C., Holldobler B., 2000. Are variations in cuticular hydrocarbons of queens and workers a reliable signal of fertility in the ant *Harpegnathos saltator* ? *PNAS*, 97, 4124-4131.
- Monnin T., Malosse C., Peeters C., 1998. Solid-phase microextraction and cuticular hydrocarbon differences related to reproductive activity in queenless ant *Dinoponera quadricpes*. *J. Chem. Ecol.*, 24, 473-490.
- Passera L., Aron S. 1993. Factors controlling dealation and egg-laying in virgin queens of the Argentine ant *Linepithema humile* (Mayr) (= *Iridomyrmex humilis*). *Psyche*, 100, 51-63.
- Passera L., Keller L., Suzzoni J.P., 1988. Control of brood male production in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Insectes Soc.*, 35, 19-33.
- Peeters C., Monnin T., Malosse C., 1999. Cuticular hydrocarbons correlated with reproductive status in a queenless ant. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 266, 1323-1327.
- Tentschert J., Bestmann H.J., Heinze J., 2002. Cuticular compounds of workers and queens in two *Leptothorax* ant species – a comparison of results obtained by solvent extraction, solid sampling, and SPME. *Chemoecology*, 12, 15-21.
- Vander Meer R.K., Morel L., 1998. Nestmate recognition in ants. In : Pheromone communication in social insects - Ants, wasps, bees and termites, Vander Meer R.K., Breed M.D., Winston M.L., Espelie K.E. (eds), WestviewPress, Oxford, pp. 79-103.
- Wagner D., Brown M.J.F., Broun P., Cuevas W., Moses L.E., Chao D.L., Gordon D.M., 1998. Task-related differences in the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants, *Pogonomyrmex barbatus*. *J. Chem. Ecol.*, 24, 2021-2037.

DISCRIMINATION INTRA- ET INTERSPÉCIFIQUE
CHEZ LA FOURMI VAGABONDE *WASMANNIA AUROPUNCTATA*

**Christine Errard¹, Hervé Jourdan^{2,3}, Céline Glaude¹, Jacques Delabie⁴
et Abraham Hefetz⁵**

¹ Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS 6035, Faculté des Sciences et Techniques, Parc de Grandmont, 37200 Tours, France.

² Laboratoire Zoologie Appliquée, IRD, 98848 Nouméa Cedex, Nouvelle Calédonie.

³ Laboratoire d'Ecologie Terrestre, (UMR CNRS 5552), Université Toulouse III, 31062 Toulouse, France.

⁴ Laboratório de Mirmecologia, Convênio UESC/CEPLAC, C.P. 7, 45600-000 Itabuna, Bahia, Brésil.

⁵ Department of Zoology, Tel Aviv University, Israel

RESUME

Pour mieux comprendre le succès invasif de la myrmicine néotropicale *Wasmannia auropunctata*, nous avons réalisé des tests comportementaux pour mesurer l'agressivité intra-spécifique allocoloniale provenant de différentes localités du Brésil et de Nouvelle-Calédonie (région d'introduction récente). Des rencontres allospécifiques ont également été réalisées entre *W. auropunctata* et d'autres espèces envahissantes (*Linepithema humile* et *Tetramorium bicarinatum*). En Nouvelle-Calédonie, ces tests révèlent une grande tolérance entre conspécifiques, quel que soit l'éloignement, alors qu'au Brésil, la tolérance est réduite. Toutefois, une forte potentialité d'agression envers les allospécifiques est conservée. La comparaison entre les signatures chimiques des populations néo-calédoniennes ne fait apparaître aucune différence qualitative significative, quelle que soit leur localité d'origine. Au Brésil, les mêmes analyses révèlent des différences significatives. Compte tenu de ces résultats, il semble que *W. auropunctata* se comporte comme une seule supercolonie en Nouvelle-Calédonie, alors qu'elle se comporte comme une espèce multi-coloniale au Brésil. On peut faire l'hypothèse d'un renforcement de l'unicolonialité en région envahie, par perte d'éléments de reconnaissance. Ce mécanisme est proposé comme une clé d'explication pour son succès envahissant.

MOTS CLES : fourmi vagabonde, unicolonialité, reconnaissance coloniale, signature chimique, succès envahissant.

Intraspecific and interspecific discrimination in the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Hym. Formicidae)

Behavioural tests (intra and interspecific) associated with cuticular hydrocarbon analysis in *Wasmannia auropunctata* have been conducted in its native (Ilheus area, Brazil) and invasive (New Caledonia archipelago) ranges. We observed high intraspecific aggressiveness between Brazilian populations but low agonistic behaviour between New Caledonian populations. However, interspecific aggression is still present. Chemical

analyses of the cuticular hydrocarbons profiles show no significant differences in relative proportions between New Caledonian populations but high variation in Brazilian populations. Given these results, *W. auropunctata* appears to behave as a single supercolony at New Caledonian scale and as a multicolonial species in native range. We hypothesise a reinforcement of unicolonial ability in invasive range, through a lower intraspecific discrimination, due to a lack of cuticular cues. This mechanism is proposed as a key for the invasive success.

KEYWORDS : Tramp ant, nestmate recognition, cuticular hydrocarbons, unicoloniality, invasive success

INTRODUCTION

Reconnue comme l'une des fourmis envahissantes les plus menaçantes (Lowe et coll. 2000), *Wasmannia auropunctata* est actuellement en pleine expansion dans la ceinture tropicale du globe. Originnaire d'Amérique tropicale où sa présence est normalement discrète milieu forestier non perturbé) ou non (populations explosives dans les cacaoyères et autres milieux perturbés)(Delabie 1988), elle aurait envahi la Nouvelle-Calédonie dès les années 1970. Disséminée par les échanges et les activités humaines, elle développe de très importantes pullulations, responsable de l'élimination à plus ou moins long terme de la faune locale (Lubin 1984, Jourdan 1997, 1999, Jourdan et Chazeau 1999, Jourdan et coll. 2001, 2002). Cette petite myrmicine présente tous les traits biologiques d'une fourmi vagabonde au sens de Passera (1994). L'agressivité et l'unicolonialité ont souvent été mis en exergue pour expliquer le succès invasif des *tramp species* (Human et Gordon 1999, Holway et Suarez 1999). Si l'unicolonialité est bien établie dans les zones envahies par *W. auropunctata* en Nouvelle-Calédonie, la question reste posée pour sa zone d'origine (Le Breton et coll., sous presse). Aussi, afin de mieux comprendre le succès envahissant de *W. auropunctata*, nous avons étudié l'existence d'une perte de discrimination intra-spécifique et le maintien ou non d'une agressivité inter-spécifique, par une étude comparative entre son aire d'origine (Brésil) et une zone d'invasion (Nouvelle-Calédonie).

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique :

Pour les tests intra-spécifiques allocoloniaux, nous avons utilisé des colonies de *Wasmannia auropunctata* récoltées dans 4 localités correspondant à de grandes cacaoyères (plusieurs km²) dans l'état de Bahia, au Brésil (Santa Luzia : SL, Uruçuca : U, Itajuípe : IT et Ilhéus : IL), et dans 5 localités en Nouvelle-Calédonie (Ponerihouen : PH, Pouémbout : PO, Pindai : PI, Rivière Bleue : RB et Nouméa : N).

Pour les tests inter-spécifiques, nous avons utilisé des colonies de deux autres fourmis vagabondes : *Linepithema humile* récoltées à Port-Leucate (France) et *Tetramorium bicarinatum* récoltées à Ilhéus (Brésil).

Études comportementales :

- rencontres intra-spécifiques : lors de chaque rencontre, 2 individus provenant de la même colonie ou de colonies différentes (0.1 à 385 km pour les nids de Nouvelle-Calédonie et 0.1 à 110 km pour les nids du Brésil) sont réunis dans une petite arène (ϕ 4,5 cm). Pour chaque rencontre on relève le niveau d'agression maximal atteint au bout de 5 min (Holway et coll. 1999). Pour chaque type de rencontres il y a 15 répétitions. Pour chaque distance, on calcule un score moyen d'agression à partir des scores obtenus pour chaque rencontre.
- rencontres inter-spécifiques : Dix ouvrières de *W. auropunctata* sont placées dans une petite arène (ϕ 4,5 cm) avec 10 ouvrières de *L. humile* ou de *T. bicarinatum*. Après 30 min on dénombre les individus blessés et morts de chacune des espèces. Un indice d'agression est calculé d'après Clément (1986). Pour chaque type de rencontre, il y a 10 répétitions.

Analyses chimiques :

Pour chaque localité (Brésil et Nouvelle-Calédonie), les hydrocarbures cuticulaires sont extraits au pentane et analysés en chromatographie en phase gazeuse. Chaque extraction est réalisée à partir de 10 ouvrières (4 à 5 répliques par localité). Pour la GC-MS, les extraits de 20 individus sont utilisés.

Les pics des profils chimiques identifiés sont utilisés pour une analyse quantitative basée sur le pourcentage relatif de chaque pic en relation avec la surface totale de tous les pics présents. Ces données sont traitées à l'aide de l'Analyse de Classification Hiérarchique (distance euclidienne, méthode du saut minimum) (Statistica for Windows 95 ©).

RESULTATS

Études comportementales :

Rencontres intra-spécifiques : pour les populations brésiliennes, *W. auropunctata* montre une réponse de type multicoloniale : il existe une agressivité entre des ouvrières provenant de nids différents et éloignés ($F = 46.29$; $dl_{6,143}$; $P < 10^{-5}$). Dans 23% des cas, les rencontres se sont soldées par une piqûre. Elles paraissent capables de se discriminer entre elles selon leur origine. Il n'y a pas de corrélation entre agressivité et distance (Figure 1).

Au contraire, en Nouvelle-Calédonie, les individus ne présentent pas d'agressivité intra-spécifique ($F = 1.23$; $dl_{6,56}$; $P = 0.30$), ceux-ci semblant incapables de se discriminer quelle que soit la distance entre les nids. De plus, il n'y a pas de différence significative dans les temps de contact antennaires entre ouvrières ($F = 1.38$; $dl_{6,133}$; $P = 0.22$) (Figure 2).

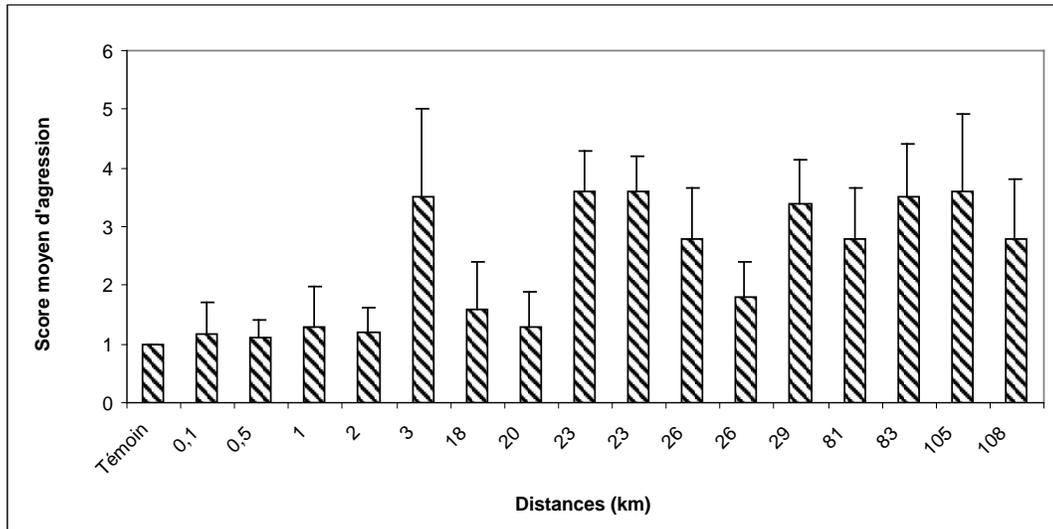


Figure 1 : Score moyen d'agression entre ouvrières en fonction de la distance entre les nids d'origine (Brésil).

Figure 1: Average aggressive score in respect of inter-nest distances (Brazilian populations).

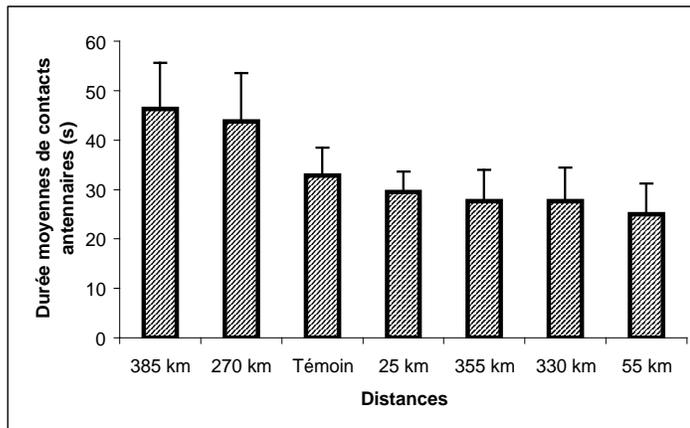


Figure 2 : Durée moyenne des contacts antennaires entre ouvrières de Nouvelle-Calédonie

Figure 2: Average antennal contact duration between New Caledonian

- Lors des rencontres inter-spécifiques, la figure 3 montre que quelle que soit l'espèce rencontrée, l'indice d'agression de *W. auropunctata* est significativement supérieur à celui présenté par *L. humile* ou *T. bicarinatum* ($F = 5.78$; $dl_{2,57}$; $P < 10^{-3}$).

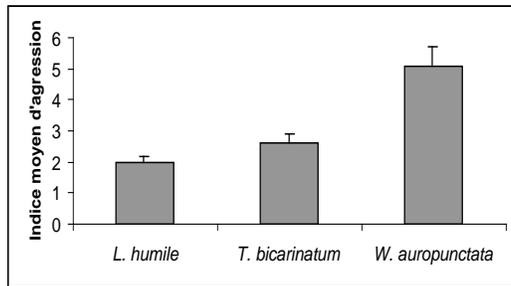


Figure 3 : Indice moyen d'agression lors de l'ensemble des rencontres interspécifiques de *L. humile*, *T. bicarinatum* et *W. auropunctata*.

Figure 3: Average aggressive score for interspecific encounters between *L.*

Ces indices indiquent une forte mortalité lors des rencontres. Ainsi, bien que plus lente que *L. humile*, *W. auropunctata* attaque son adversaire en essayant d'atteindre sa tête qu'elle balaye avec son aiguillon. L'ouvrière ainsi traitée meurt très rapidement après être prise de tremblements. *W. auropunctata* semble donc être une espèce très agressive non seulement écologiquement, mais aussi dans tous les autres sens que ce terme implique.

Analyses chimiques :

Le profil chimique de *W. auropunctata* possède 21 composés (figure 4) utilisés pour les analyses hiérarchiques en cluster.

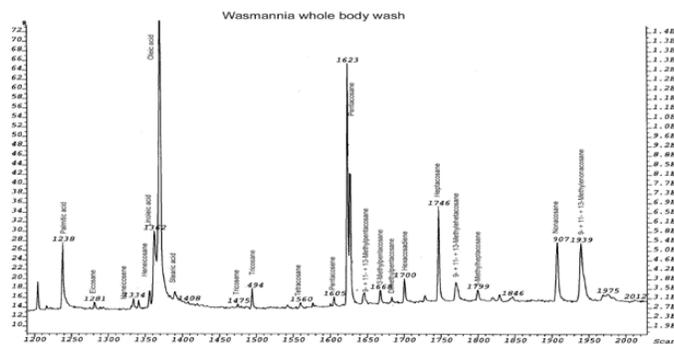


Figure 4 : Chromatogramme en phase gazeuse du profil chimique cuticulaire d'ouvrières de *W. auropunctata*.

Figure 4: Gas chromatogram of cuticular chemical profile of *W. auropunctata* workers.

La représentation schématique (Figure 5a) permet de distinguer 3 types de profils chimiques pour les populations brésiliennes, correspondant à des variations quantitatives significatives. On notera que certaines cacaoyères de Itajupe et d'Ilhéus ont été établies avec des plants de cacaoyers originaires d'Uruçuca, ce qui permet de donner une explication au pattern observé. Au contraire, en Nouvelle-Calédonie, les profils chimiques des individus ne diffèrent pas significativement (Figure 5b). Seules quelques légères variations quantitatives des hydrocarbures sont observées. Ainsi, les profils d'une même localité se retrouvent dispersés.

CONCLUSION

Cette étude permet d'établir que dans sa région d'origine, *W. auropunctata* se présente comme une espèce à sociétés de type multicoloniale, alors qu'en Nouvelle-Calédonie, où elle a été introduite, elle semble avoir établi une seule et unique "supercolonie". Cette situation rappelle celle observée, en France, pour *L. humile* sur le littoral Méditerranéen (Giraud et coll. 2002). Compte tenu de nos résultats, nous pouvons également proposer l'hypothèse d'un renforcement de l'unicolonialité en région envahie, par perte d'éléments de reconnaissance. Ce mécanisme est proposé comme une clé d'explication pour le succès envahissant de cette espèce.

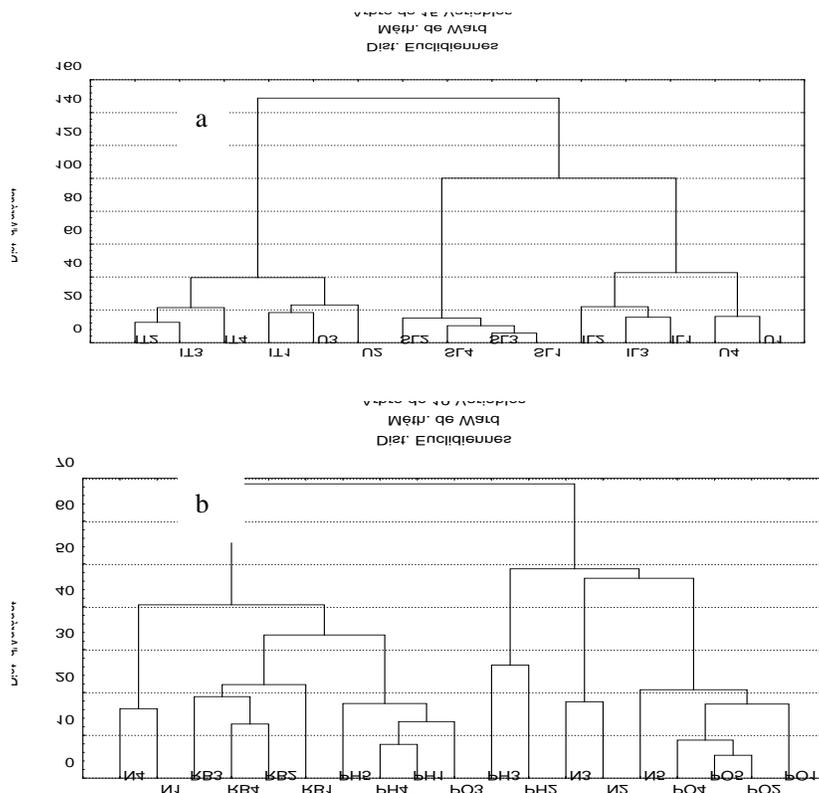


Figure 5 : Analyses Hiérarchiques basées sur les profils cuticulaires d'ouvrières prélevées dans : (a) 4 localités du Brésil (Santa Luzia: SL1,SL2, SL3, SL4 ; Itajuípe : IT1, IT2, IT3, IT4 ; Ilhéus : IL1, IL2, IL3, IL4 ; Uruçuca : U1, U2, U3, U4) et (b) 4 localités de Nouvelle-Calédonie (Pouembout : PO1, PO2, PO3, PO4, PO5 ; Nouméa : N1, N2, N3, N4, N5 ; Penéhiouen: PH1, PH2, PH3, PH4, PH5 et Rivière Bleue : RB1, RB2, RB3, RB4).

Figure 5: Hierarchical Cluster Analysis for *W. auropunctata* workers cuticular hydrocarbon profiles from: (a) Four Brazilian localities (Santa Luzia: SL1,SL2, SL3, SL4 ; Itajuípe: IT1, IT2, IT3, IT4 ; Ilhéus: IL1, IL2, IL3, IL4 ; Uruçuca: U1, U2, U3, U4) and four New Caledonian

localities (Pouembout: PO1, PO2, PO3, PO4, PO5 ; Nouméa: N1, N2, N3, N4, N5 ; Ponérihouen: PH1, PH2, PH3, PH4, PH5 et Rivière Bleue: RB1, RB2, RB3, RB4).

REMERCIEMENTS

Nous remercions J. Chazeau et J. Le Breton (IRD Nouméa) pour la récolte de *W. auropunctata* de Nouvelle-Calédonie, J.R.M. dos Santos et J.C.S. do Carmo (CEPLAC, Itabuna) pour les récoltes de *W. auropunctata* du Brésil, ainsi que L. Passera (Université de Toulouse) pour la récolte de *L. humile*. Ces travaux ont bénéficié d'un soutien du MATE (Financement GIP ECOFOR) dans le cadre de l'appel d'offres " écosystèmes tropicaux 1999-2002 " et Delabie J. est boursier du CNPq, projet 520910/96/6.

REFERENCES

- Clément J.C., 1986. Open and closed societies in *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae). Geographic and seasonal variations. *Sociobiology*, 11 (3): 311-323.
- Delabie J.H.C., 1988. Ocorrência de *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae) em cacauais na Bahia. *Rev. Theobroma*, 18(1): 29-37.
- Giraud T., Pedersen J.S., Keller L., 2002. Evolution of supercolonies : The Argentine ants of southern Europe. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99, 9: 6075-6079.
- Holway D.A., Suarez A.V., 1999. Animal behavior: an essential component of invasion biology. *Trend Ecol. Evol.* 14: 328-330.
- Human K. G., Gordon D.M., 1999. Behavioral interactions of the invasive Argentine ant with native ant species. *Insectes Soc.*, 46: 159-163.
- Jourdan H. 1997. Threats on Pacific islands: the spread of the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae). *Pac. Cons. Biol.*, 3: 61-64.
- Jourdan H., 1999. Dynamique de la biodiversité de quelques écosystèmes terrestres néo-calédoniens sous l'effet de l'invasion de la fourmi peste *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera: Formicidae). *Entomologie et écologie Tropicale*. Toulouse, Université Paul Sabatier, pp 473.
- Jourdan H., Chazeau J., 1999. Les fourmis comme bio-indicateurs : l'exemple de la myrmécofaune néo-calédonienne. *Actes des Colloques Insectes Soc.*, 12: 165-170.
- Jourdan H., Bonnet de Larbogne L., Chazeau J. 2002. The recent introduction of the neotropical ant *Wasmannia auropunctata* (Roger) into Vanuatu archipelago (Southwest Pacific). *Sociobiology*, 40 (3): 483-509
- Jourdan H., Sadler R. A., Bauer A. M., 2001. The impact of the little fire ant invasion (*Wasmannia auropunctata* (Roger)) on the New Caledonian herpetofauna: results of a study in sclerophyll forest habitat. *Sociobiology*, 38: 283-301.
- Le Breton J., Jourdan H., Chazeau J., Dejean A. (en révision). Low agonistic behavior in the ant *Wasmannia auropunctata* (Hym., Formicidae): evidences of large scale unicoloniality in its invasive range into New Caledonia. *Aggress. Behav.*
- Lowe S., Browne M., Boudjelas S., 2000. 100 of the world's worst invasive alien species. *Aliens* 12 S: 1-12.

Lubin Y.D., 1984. Changes in the native fauna of the Galapagos Islands following invasion by the little red fire ant *Wasmannia auropunctata*. *Bil. J. Linn. Soc.*, 21:229-242.

Passera L., 1994. Characteristics of tramp species. In: *Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species*, Williams D.F. (ed.), Westview Press, Boulder, pp. 23-43.

INHIBITION ROYALE DE LA PONTE DES OUVRIERES CHEZ *BOMBUS TERRESTRIS*
(HYMENOPTERA : APIDAE, BOMBINAE)

C. Alaux¹, P. JAISSON¹, A. Hefetz²

1 Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée - FRE CNRS 2413, Université Paris 13, 93430 Villetaneuse, France

2 Département de Zoologie, Faculté des Sciences de la Vie G.S Wise- Université Tel Aviv, Ramat Aviv, 69978 Tel Aviv, Israel

RESUME

Les bourdons de l'espèce *Bombus terrestris* qui présentent l'intérêt d'avoir une structure sociale annuelle et simple, avec une unique reine qui ne s'accouple qu'une fois, constituent un bon modèle pour l'étude des conflits reine/ouvrières pour la production de mâles. Durant la phase sociale (phase initiale du développement colonial) la reine inhibe la ponte des ouvrières jusqu'à la phase de compétition caractérisée par l'émergence de ces conflits. Différents mécanismes proximaux du contrôle royal (phéromonal, comportemental et signal chimique royal) ont donc été testés. Nos résultats montrent que le contrôle royal n'est pas acquis directement par la production de phéromones inhibitrices ou la réalisation d'interactions agonistiques. En présence de la reine il existerait une autorégulation de l'oviposition des ouvrières durant la phase sociale. L'initiation de la phase de compétition semble plutôt résulter d'un changement du signal royal étroitement lié à la production de reines.

INTRODUCTION

Chez les Hyménoptères, les femelles proviennent d'œufs fertilisés et sont donc diploïdes, alors que les mâles sont issus d'ovocytes non fécondés. La théorie de la sélection de parentèle prédit des conflits reine/ouvrières pour la production d'œufs haploïdes dans les colonies monogynes et monoandres (Hamilton, 1964a et b) du fait d'un plus fort coefficient de parenté des ouvrières avec leurs fils ($r = 0.5$) plutôt qu'avec leurs frères ($r = 0.25$). Ces conflits reine/ouvrières ont reçu une attention importante au plan théorique, qui a conduit à diverses prédictions quant à leur régulation. Tout d'abord, des contrôles phéromonaux ou comportementaux de la reine ont été envisagés (Fletcher et Ross, 1985). Ce premier type de contrôle, généralement admis sous le nom de *queen policing* (Oster et Wilson, 1978), consiste en un effort individuel à annihiler la reproduction des ouvrières. Alors que dans les colonies à fort effectif, il est admis que le contrôle de la reine est acquis par l'intermédiaire de complexes phéromonaux ou *primer pheromones* inhibant l'ovogenèse des ouvrières (Wilson, 1971). Mais le fossé entre les prédictions de la théorie de la sélection de parentèle et la réalité des mécanismes régissant l'organisation des sociétés d'Hyménoptères a fait postuler une hypothèse alternative impliquant la présence d'une phéromone « signal honnête ». Cette dernière communiquerait la présence de la reine au lieu de contrôler directement la fertilité des ouvrières (Keller et Nonacs, 1993) et indiquerait l'habileté de la reine à dominer physiquement les ouvrières ainsi que sa fécondité. L'espèce de bourdon

Bombus terrestris, avec son système social monogyne et monoandre, constitue un bon modèle pour l'étude de la régulation de ces conflits reine/ouvrières pour la production de mâles. Le développement colonial est caractérisé par trois phases distinctes. A sa sortie de l'hibernation la reine suit une phase solitaire jusqu'à l'établissement de la phase sociale, où elle est dominante et où elle est la seule à se reproduire, pondant uniquement des œufs diploïdes donnant des ouvrières. Ensuite, la reine diverge vers la production d'œufs haploïdes donnant des mâles. Les conflits reine/ouvrières sont restreints à la phase de compétition (PC). Un groupe d'ouvrières dominantes parvient à se reproduire et engage des interactions agonistiques avec les autres ouvrières et la reine. Les bourdons possèdent une position intermédiaire dans la famille des Apidées d'après les paramètres morphologiques, la taille des colonies et les caractères du cycle colonial. Il est donc intéressant de savoir si les mécanismes de dominance de la reine sont intermédiaires également (combinaison comportementale et phéromonale) comme l'a suggéré Honk (1982). L'objectif de cette étude est d'identifier les mécanismes proximaux du contrôle royal, qui constitue la base de la régulation des conflits reine/ouvrières. Les hypothèses d'un contrôle phéromonal, comportemental ou par l'intermédiaire d'un signal seront testées à l'aide de dispositifs spécifiques.

MATERIEL ET METHODES

Chez *Bombus terrestris*, la reproduction des ouvrières n'est pas complètement inhibée et a lieu généralement à partir du point de compétition marquant le début de la PC. Ainsi, la ponte d'œufs haploïdes par les ouvrières avant la PC démontrerait un « échappement » de l'inhibition royale.

Inhibition phéromonale (phéromones volatiles):

Deux nids de tailles égales sont juxtaposés et séparés par deux grilles (distantes de 1 cm.). Les ouvrières et la reine ne peuvent passer d'un compartiment à l'autre ni avoir de contacts physiques ou antennaires avec les individus voisins. Dans le compartiment sans reine, cinq ouvrières prises au hasard dans la fondation d'origine ont été placées avec du couvain d'ouvrières afin de fournir le substrat nécessaire à la ponte. Des groupes d'ouvrières témoins sans reines ont été constitués dans les mêmes conditions. Afin de contrôler le facteur âge, toutes les ouvrières testées sont jeunes (âgées de 1 à 2 jours). Ainsi, si les ouvrières testées ne pondent pas avant la PC alors que les ouvrières témoins pondent, la production d'une *primer pheromone* volatile par la reine peut être envisagée, la double grille ne constituant pas un obstacle à sa diffusion. Puis la présence de phéromones royales volatiles influençant l'ontogenèse hiérarchique a été étudiée. Dans les groupes d'ouvrières testés au cours du premier protocole, les interactions agonistiques ont été comptées au cours d'observations quotidiennes de 20 minutes afin d'en suivre l'évolution. Un indice de dominance a été établi à l'aide des données basiques que sont les rencontres entre ouvrières. Pour chaque rencontre, ont été notés l'identité de l'ouvrière qui avance et de celle qui se retire après les contacts antennaires. L'indice de dominance est défini par :

$Id = 1 - (\text{nombre de retraits} / \text{nombre de rencontres})$ (Bloch et al., 1996).

Inhibition comportementale ou phéromonale (phéromones peu volatiles) :

Deux nids de dimensions égales sont juxtaposés et séparés par une grille à maille assez fine pour ne laisser passer que les ouvrières d'un compartiment à l'autre, la reine étant

bloquée dans la partie où elle a initié la fondation de la colonie. Ce dispositif (*queenexclusing*) permet de vérifier l'existence d'un contrôle physique par la reine. En effet, si en l'absence de la reine les ouvrières ne pondent pas avant la PC, elles seraient soumises à un *queen policing* direct et efficace lors de leurs allers et venues entre les compartiments. Ceci permet de tester aussi la production par la reine de phéromones inhibitrices cuticulaires et peu volatiles. Au contraire, si des pontes sont observées avant la PC dans le compartiment sans reine, une nouvelle hypothèse se présente. La présence de la reine ne serait plus perçue dans le deuxième compartiment et les ouvrières s'engageraient donc vers la production de mâles, ce qui impliquerait que la reine indique sa présence et son statut par l'intermédiaire d'un signal non volatile (hypothèse avancée par Keller et Nonacs, 1993).

RESULTATS

Inhibition phéromonale (phéromones volatiles):

Dans tous les groupes d'ouvrières testés, des pontes ont été observées avant la PC. Elles ont eu lieu en moyenne 7.6 ± 0.5 jours ($n = 11$) après la constitution des groupes. Dans les groupes témoins, les pontes ont été observées au bout de 8 ± 0.7 jours ($n = 5$); ce qui ne diffère pas des précédentes (Test U de Mann-Whitney, $p = 0.486$). L'hypothèse prévoyant la production par la reine de phéromones volatiles inhibant la ponte des ouvrières jusqu'à la PC n'est donc pas validée par nos résultats. De plus, la reine ne semble pas influencer le comportement des ouvrières et l'ontogenèse de la hiérarchie par l'intermédiaire de phéromones volatiles. Dans les groupes testés et les groupes contrôles, les interactions agonistiques, après avoir atteint un pic, diminuent progressivement jusqu'à disparaître (fig.1a). Il semble que pour un groupe de cinq ouvrières, cinq jours soient nécessaires pour qu'une hiérarchie s'installe et soit stable. A partir de sa mise en place, les interactions se réduisent à de simples contacts antennaires marqués par le retrait d'une des deux ouvrières. Une hiérarchie de dominance (marquée par la relation entre l'indice de dominance et le développement ovarien) s'est bien établie et elle est dominée par une seule ouvrière dans les deux types de groupe (fig. 1b). La distribution des stades ovocytaires des ouvrières ne diffère pas non plus (Test exact du χ^2 , $p = 1$).

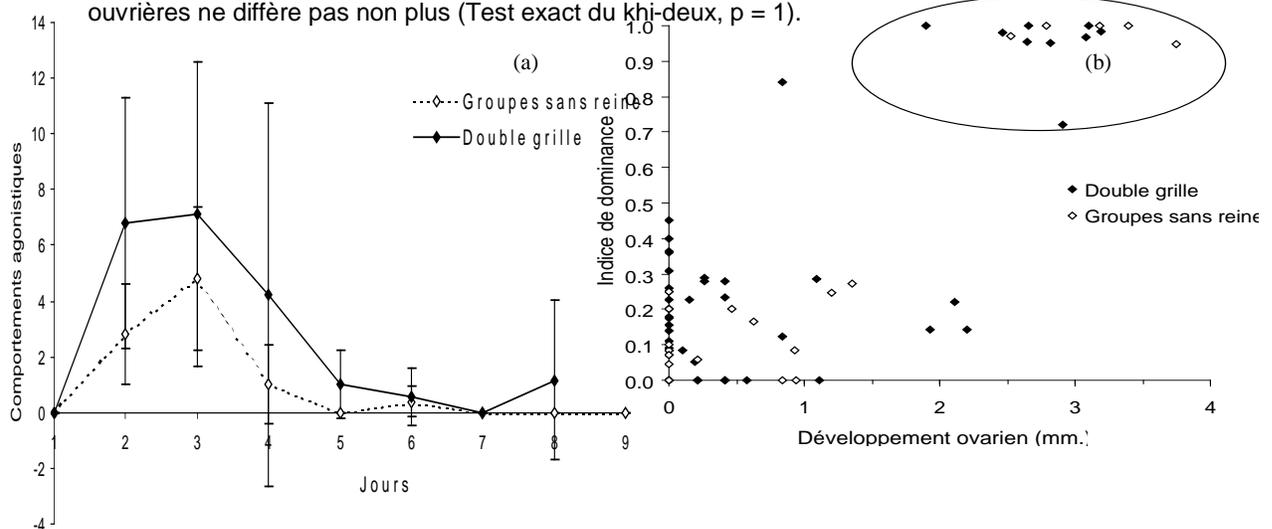


Fig. 1a: Evolution du nombre de comportements agonistiques ($x \pm e.s.$) dans les groupes de 5 ouvrières séparées de la reine par une double grille ($n = 9$) et les groupes de 5 ouvrières sans reines ($n = 5$).

Fig. 1b: Relation entre le développement ovarien et l'indice de dominance dans les groupes de 5 ouvrières séparées de la reine par une double grille ($n = 9$) et les groupes de 5 ouvrières sans reine ($n = 5$) ; les ouvrières pondueuses sont à l'intérieur du cercle.

Inhibition comportementale ou phéromonale (phéromones peu volatiles) :

Des pontes ont été observées dans le compartiment sans reine (dans 11 colonies sur 17 testées). La ponte des ouvrières dans le compartiment sans reine a toujours lieu entre la production de reine et le point de compétition (Fig.3). L'occurrence de ces trois événements correspond à des phases bien distinctes (Test U de Mann-Whitney, $p < 0.01$) (tab.1) et sont toutes corrélées : phase de compétition/production de reines ($r = 0.87$, $p < 0.001$), phase de compétition/pontes des ouvrières en *queenexclusing* ($r = 0.73$, $p < 0.01$) et production de reines/pontes des ouvrières en *queenexclusing* ($r = 0.64$, $p < 0.05$).

	Queenexcludin	Contrôles	Test U de Mann-Whitney
g			
Phase de compétition	36.4 ± 5.4 j., $n = 11$	32.8 ± 4.6 j., $n = 20$	$p = 0.62$
Production de reines	22 ± 6.3 j., $n = 11$	20.6 ± 3.6 j., $n = 20$	$p = 0.31$
Pontes des ouvrières en <i>queenexclusing</i>	30.4 ± 3.9 j., $n = 11$		

Tab.1 : Dates d'apparition des différents événements observés dans les colonies *queenexclusing* et contrôles.

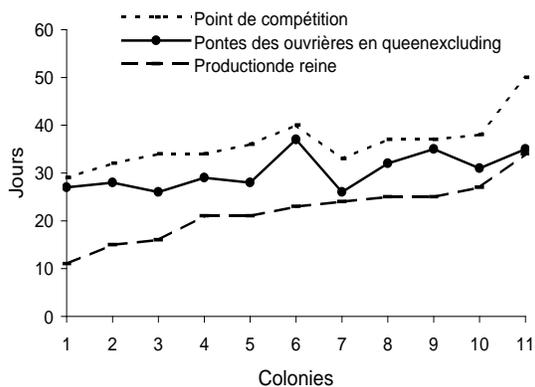


Fig. 3: Dates d'occurrences (jours à partir de l'émergence de la première ouvrière) des événements coloniaux (production de reines et point de compétition) et de la ponte des ouvrières en *queenexclusing* dans les 11 colonies.

DISCUSSION

Notre étude révèle que la reine n'inhibe la ponte des ouvrières ni par l'intermédiaire de complexes phéromonaux (volatiles ou non), ni par des interactions agonistiques. Le contrôle serait plutôt acquis indirectement par un signal reflétant la présence de la reine et son potentiel de dominance; il serait donc dépendant d'une reconnaissance individuelle. Ceci expliquerait la présence, autour de la reine, d'ouvrières possédant des ovocytes mûrs mais dont l'oviposition est inhibée. Une reconnaissance au cours de contacts antennaires et un profil cuticulaire spécifique sont nécessaires. Les ouvrières semblent donc obéir à une autorégulation de l'oviposition en présence de la reine. La période critique de la détermination de la caste royale dure environ 10 jours (5 jours au stade œuf + environ 5

jours sous forme larvaire (Cnaani et al., 2000)), ce qui correspond à l'intervalle observé entre la première ponte d'œufs se développant en reine et la ponte des ouvrières en absence de la reine. Ceci suggère que les ouvrières se mettent à pondre à partir d'un moment précis marqué par un changement de signal qui coïncide avec l'initiation de la production de jeunes reines. La perte de contrôle de la reine pourrait correspondre à un déclin du signal au cours du développement colonial qui s'accompagnerait de la production de larves royales. Les ouvrières, percevant ce déclin, se mettraient à pondre et entreraient en compétition avec la reine. En effet il apparaît que la ponte d'œufs se développant en reines précède toujours la reproduction des ouvrières et que ces deux événements sont étroitement liés. Mais il existe un délai entre la ponte des ouvrières en *queenexcluder* et la phase de compétition. Ceci peut s'expliquer, en condition normale, par le fait que la phase de compétition ne serait observable qu'au moment du pic conflictuel, alors qu'elle pourrait débiter avant et ne pas être visible. Ainsi les ouvrières tenteraient de se reproduire lorsqu'elles détecteraient un changement de signal de la reine accompagnant la transition des œufs diploïdes vers la formation de reines à la fin du cycle colonial; ceci correspondant à leur dernière opportunité de pondre. D'après Röseler (1991), chez les bourdons une phéromone royale inhiberait le développement des œufs femelles en reines. Il est donc intéressant à terme de définir si la reproduction des ouvrières et la production de reines sont régis par le même signal royal.

L'étude de la régulation des conflits dans les colonies de bourdons *B. terrestris* ouvre de nouvelles perspectives vers une meilleure compréhension de la reproduction des ouvrières et à terme de l'eusocialité des Hyménoptères.

REFERENCES

- Bloch, G., Borst, D. W., Robinson, G.E., Hefetz, A., 1996. Effects of social conditions on juvenile hormone mediated reproductive development in *Bombus terrestris* workers. *Physiol. Entomol.*, 21, 257-267.
- Cnaani, J., Robinson, G. E., Hefetz, A., 2000. The critical period for caste determination in *Bombus terrestris* and its juvenile hormone correlates. *J. Comp. Physiol.*, 186, 1089-1094.
- Fletcher, D. J., Ross, K. G., 1985. Regulation of reproduction in eusocial Hymenoptera. *Ann. Rev. Entomol.*, 30, 319-343.
- Hamilton, W. D., 1964a. The genetical evolution of social behaviour. I. *J. Theor. Biol.*, 7, 1-16.
- Hamilton, W. D., 1964b. The genetical evolution of social behaviour. II. *J. Theor. Biol.*, 7, 17-52.
- Honk, C. G. J., van, 1982. The social structure of *Bombus terrestris* colonies: a review. *The Biology of Social Insects*. M. D. Breed and C. D. Michener (eds). Colorado, Westview Press, Boulder, pp. 196-199.
- Keller, L., Nonacs, P., 1993. The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal ? *Animal Behaviour*, 45, 787-794.
- Oster, G. F., Wilson, E. O., 1978. *Caste and ecology in the social insects*. Princeton, Princeton University Press.

Röseler, P. F., Röseler, I., Honk, C. G. J., van, 1981. Evidence for inhibition of corpora allata activity in workers of *Bombus terrestris* by a pheromone from the queen's mandibular glands. *Experientia*, 37, 348-351.

IDENTIFICATION D'UN SIGNAL DE FERTILITE CUTICULAIRE
CHEZ *DIACAMMA CEYLONENSE*, UNE FOURMI SANS REINE

S. Baratte, C. Peeters, M. Cobb

Laboratoire d'Ecologie, CNRS UMR 7625, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai Saint Bernard 75005 Paris, France.

L'altruisme de reproduction qui définit les espèces eusociales est généralement assuré par l'existence de castes morphologiquement spécialisées : la reine est la seule à se reproduire et les ouvrières stériles l'assistent dans cette tâche. Toutefois il existe des fourmis primitives qui ne produisent plus de reine. Bien que toutes les ouvrières soient sexuellement totipotentes, la régulation de reproduction est maintenue chez ces espèces et assurée comportementalement par des interactions agressives qui autorisent, au final, les seules ouvrières dominantes à se reproduire (les gamergates). Puisque aucune différence physique ne distingue a priori les membres d'une colonie, les signaux chimiques doivent jouer, plus qu'ailleurs, un rôle clé dans la reconnaissance des dominantes et de leur statut reproductif.

Les hydrocarbures cuticulaires semblent être de bons candidats pour assurer cette fonction et chez *Diacamma ceylonense* il est possible grâce à eux de discriminer statistiquement les ouvrières fertiles des ouvrières non fertiles (Cuvillier-Hot *et al.*, 2001). Afin de confirmer qu'il existe chez des insectes sociaux des signaux cuticulaires de fertilité, nous avons sélectionné arbitrairement six hydrocarbures caractéristiques de la cuticule des gamergates. Ces six méthyl-alcanes ont été individuellement synthétisés en laboratoire puis appliqués expérimentalement à différentes concentrations sur des ouvrières non fertiles (nurses). Malgré les subtiles différences chimiques qui distinguent ces six molécules, concernant à la fois leur longueur (27 ou 29 carbones) et la position du groupement méthyle (sur les carbones 9, 11 ou 13), seul le 13-Me C27 provoque les comportements spécifiques de soumission qui accompagnent normalement la reconnaissance de la gamergate au sein d'une colonie.

En prouvant que le 13-Me C27 est une phéromone à effet 'releaser', sans pour autant affirmer qu'elle est la seule à agir en tant que signal de fertilité chez *D. ceylonense*, ces résultats soutiennent l'hypothèse d'une discrimination par les fourmis des profils cuticulaires de chacune. La discrimination de ce phénotype lié à la fertilité conditionnerait alors conjointement le profil des agressions, la nature de la hiérarchie et finalement la régulation des conflits de reproduction.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Richard Beard (Department of Chemistry, Keele University, U.K.) pour la synthèse des hydrocarbures testés dans cette étude.

REFERENCES

Cuvillier-Hot, V., Cobb, M., Malosse, C. & Peeters, C. (2001) Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. J. Insect. Physiol. 47: 485-493

MOTS-CLÉS : *Diacamma*, phéromone, fertilité, hydrocarbures cuticulaires, gamergate

SPECIFICITE DES PISTES DE RECOLTE DE NOURRITURE CHEZ LES TERMITES :
LE CAS DE *MACROTERMES ANNANDALEI* ET DE *M. BARNEYI*

M. Bourillot¹, A. Robert¹, E. Semon², C. Bordereau¹

¹Université de Bourgogne, UMR-CNRS 5548, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon, France

²INRA, UMR-INRA-ENESAD, 17 rue Sully, 21065 Dijon cedex, France

RESUME

Les termites utilisent des phéromones de pistes pour s'orienter, mais de nombreuses espèces possèdent la même molécule comme composé principal de leur phéromone. Ceci pose le problème de la spécificité des pistes et de l'isolement des populations récoltantes. Nous avons pu montrer que *Macrotermes annandalei* et *M. barneyi*, deux termites champignonnistes sympatriques du Vietnam dont le composé majoritaire de la phéromone de piste est le (Z)-dodec-3-ène-1-ol, sont capables de reconnaître leurs pistes respectives. Dans ce cas la spécificité ne provient pas de la phéromone de piste elle-même mais des fèces déposées sur la piste.

MOTS CLES : termites, phéromones de piste, spécificité.

ABSTRACT

When moving out of their nest, termites lay down trail-following pheromones for orientation and recruitment. Surprisingly, the same major compound is used as a trail pheromone by many species. This poses the problem of the species specificity of trails and of the isolation of foraging populations. However, we have shown that two sympatric species of Asiatic fungus-growing termites, *M.annandalei* and *M. barneyi*, that possess the same trail pheromone ((Z)-3-dodecen-1-ol), are able to recognize their respective trails. In this case, the species specificity of trails arises from the faeces and not from the trail pheromone itself.

KEY WORDS : termites, trail pheromone, species-specificity.

INTRODUCTION

Chez les termites, Abe (1987) distingue le type écologique « one piece », où les colonies s'établissent dans le bois dont ils se nourrissent, et le type « separate », où les populations construisent de véritables nids et où les ouvriers doivent récolter la nourriture à l'extérieur. Un saut évolutif majeur sépare ces deux types écologiques. En effet, pour les termites de type « separate », des systèmes d'orientation performants sont nécessaires. Les Isoptères étant le plus souvent dépourvus d'yeux, c'est la communication chimique qui joue le rôle principal dans ces processus. La majorité des espèces de termites sont de type « separate ». C'est le cas de *Macrotermes annandalei* et de *M. barneyi*, deux espèces champignonnistes asiatiques dont les ouvriers récoltent de la nourriture sur les mêmes zones sans toutefois se mélanger (Peppuy, 1999). Sachant que ces *Macrotermes* utilisent la

même molécule comme composante principale de leur phéromone de piste, le (Z)-dodec-3-ène-1-ol (Peppuy, 1999 ; Peppuy *et al.*, 2001a et b), nous avons recherché l'origine de cet isolement des populations récoltantes.

MATERIEL ET METHODES

Espèces étudiées : Les expériences ont été réalisées sur des colonies de *Macrotermes barneyi* et de *M. annandalei* fondées au Vietnam en 1996, rapportées en France la même année et élevées dans une salle maintenue à une température moyenne de 24°C, à un taux d'humidité relative de 80% et où l'alternance jour / nuit est de 12h / 12h. La population de ces colonies est actuellement estimée à plusieurs milliers d'individus.

Tests de suivi de pistes en champ libre : Des ouvriers entiers ou des organes prélevés par dissection (glandes sternales, tube digestif, tégument) sont extraits dans l'hexane pendant 12 heures. Des pistes artificielles faites à partir de ces extraits sont tracées sur une feuille de papier filtre à l'aide d'une seringue Hamilton. Le test utilisé est un test en Y qui consiste à mesurer la longueur de piste parcourue en fonction de la concentration ou de l'origine spécifique de la piste (voir Peppuy *et al.* 2001 a pour les détails).

Suivis de piste dans le dispositif expérimental à pistes parallèles : Dans le but de tester au laboratoire la spécificité des pistes dans des conditions aussi proches que possible des conditions naturelles, nous avons utilisé le dispositif expérimental mis au point et décrit par Affolter et Leuthold (2000). Le choix des termites pour une piste homo ou hétérospécifique a été enregistré à l'aide d'une caméra vidéo CCD-IRIS, puis quantifié pendant 2 heures en comptant le nombre de grands ouvriers passant pendant chaque quart d'heure dans l'une ou l'autre piste. Un comptage est également effectué 24 heures après le début de l'expérience.

Analyses chimiques : Les analyses en GC-MS après microextraction en phase solide (SPME) ont été effectuées selon les techniques décrites par Peppuy *et al.* (2001 a, b)

RESULTATS

Suivis de piste en champ libre : Les résultats sont résumés dans le Tableau 1.

Chez *M. annandalei*, la réponse des ouvriers est spécifique face à des pistes de concentration identique (10^{-2} ou 10^{-1} éq.ouvrier/cm), les ouvriers choisissent préférentiellement et de manière significative leur propre piste. Ils font le même choix si leur piste est 2 fois ou dix plus concentrées que celles de *M. barneyi*. En revanche, si on leur propose une piste de *M. barneyi* deux fois plus concentrée que la leur ($2 \cdot 10^{-1}$ contre 10^{-1} éq.ouvrier/cm), ils choisissent la piste *M. barneyi*. Si la piste *M. barneyi* est 10 fois plus concentrée (10^{-1} contre 10^{-2} éq.ouvrier/cm), les ouvriers de *M. annandalei* empruntent plus

souvent leur propre piste (20 fois contre 10), mais la réponse est à la limite des valeurs significatives.

Chez *M. barneyi*, pour des pistes de concentration identique, la réponse des ouvriers n'est spécifique que pour des concentrations faibles (10^{-2} éq.ouvrier/cm). À 10^{-1} éq.ouvrier/cm, les ouvriers de *M. barneyi* empruntent aussi bien leurs propres pistes que celles de *M. annandalei*. Si leurs pistes sont plus concentrées que celles de *M. annandalei* (2 ou 10 fois plus), ils les choisissent préférentiellement. Les pistes de *M. annandalei* deux fois plus concentrées que celles de *M. barneyi* ($2 \cdot 10^{-1}$ contre 10^{-1} éq.ouvrier/cm) ne sont pas préférentiellement choisies par les ouvriers de *M. barneyi*, elles le sont si la concentration est dix fois plus importante (10^{-1} contre 10^{-2} éq.ouvrier/cm).

Pisteur	N°	Extrait						%	χ^2
		Macrotermes annandalei			Macrotermes barneyi				
		$2 \cdot 10^{-1}$	10^{-1}	10^{-2}	$2 \cdot 10^{-1}$	10^{-1}	10^{-2}		
M.annandalei	60		44			16		73,0	***
	30			27			3	90,0	***
	30	25				5		83,3	***
	30		28				2	93,3	***
	30		8		22			26,7	*
	30			10		20		33,3	-
M.barneyi	60		27			33		55,0	-
	30			7			23	76,7	**
	30	18				12		40,0	-
	30		26				4	13,3	***
	30		7		23			76,7	**
	30			6		24		80,0	***

Tableau 1 : Résultats des tests de suivi de piste en champ libre. Les concentrations données sont en équivalents ouvriers par cm de piste (eq.ouvrier/cm). (N°) : nombre de tests. (%) : Pourcentage de suivi de piste homospécifique. (χ^2) : Test du khi-carré. – pas de préférence significative ; * significatif à $P < 0,05$; ** significatif à $P < 0,01$; *** significatif à $P < 0,001$.

Suivis de piste dans le dispositif expérimental à pistes parallèles :

Si l'on donne le choix aux termites entre deux pistes vierges, aucune préférence significative pour l'une ou l'autre piste n'est enregistrée. Pour *M. annandalei*, les insectes ont choisi quatre fois l'une des pistes et deux fois l'autre (non significatif, $P < 0,781$; Test de Monte-Carlo). Pour *M. barneyi*, ce choix a été de six contre deux (non significatif, $P = 0,829$; Test de Monte-Carlo).

Si le choix est donné entre une piste vierge et une piste empruntée pendant 24 h, la piste établie est choisie préférentiellement et invariablement aussi bien par *M. annandalei* que par *M. barneyi* (cinq fois sur cinq, significatif, $P = 0,968$; Test de Monte-Carlo).

Dans le cas d'un choix entre une piste homo ou hétérosécifique, *M. annandalei* (Figure 1) emprunte préférentiellement sa piste dans les premiers temps de l'expérience. Toutefois, au bout de 24 heures, un équilibre s'établit entre les deux pistes. Chez *M. barneyi* (Figure 2), aucun choix significatif n'est opéré par les termites au cours des deux heures.

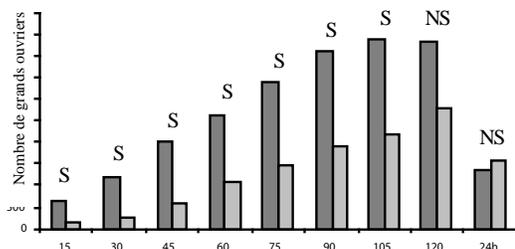


Figure 1 : nombre d'individus passés sur la piste *M.*

annandalei (gris foncé) et *M. barneyi* (gris clair) en fonction du temps. NS= test statistique non significatif ; S= test statistique significatif (Test de Wilcoxon). N=5. Espèce testée : *M. annandalei*.

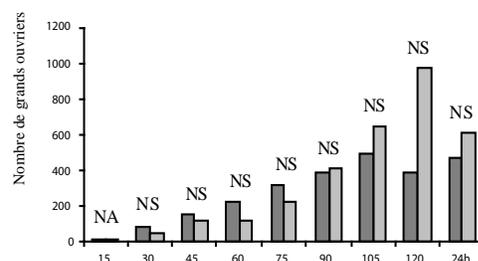


Figure 2 : nombre d'individus passés sur la piste *M.*

annandalei (gris foncé) et *M. barneyi* (gris clair) en fonction du temps. NS= test statistique non significatif ; NA= test non applicable (Test de

Analyses en GC-MS après SPME :

L'analyse chimique des composés présents à la surface de la glande sternale, glande qui sécrète la phéromone de piste, permet de mettre nettement en évidence (*Z*)-dodec-3-ène-1-ol (à raison d'environ 1 ng par ouvrier chez *M. annandalei* et 1,5 ng chez *M. barneyi*), mais aucun autre composé spécifique de la glande sternale n'a pu être détecté. En revanche, les hydrocarbures cuticulaires des deux espèces sont très nettement différents.

Origine de la spécificité des pistes:

N'ayant pas décelé de composés de la sécrétion sternale susceptibles d'intervenir dans la spécificité des suivis de pistes, nous avons cherché à savoir si les hydrocarbures cuticulaires ou les excréments pouvaient être impliqués dans ce phénomène. On peut en effet envisager que des hydrocarbures tégumentaires sont déposés sur le substrat lorsque l'ouvrier de termite frotte la face ventrale de son abdomen pour appliquer la phéromone de piste. D'autre part, les termites maculent leurs pistes d'excréments sous forme de petites boulettes fécales (Grassé, 1985). Ni l'un ni l'autre de ces extraits n'induit, seul, de suivi de piste ($X=2,1$ cm pour l'extrait de tégument, $N=30$, $X=1,4$ cm pour l'extrait de contenu intestinal, $N=30$). Additionnés de (*Z*)-dodec-3-ène-1-ol synthétique, les extraits d'hydrocarbures cuticulaires n'induisent de réponses spécifiques significatives chez aucune des deux espèces, mais les pistes préparées à partir de contenu intestinal sont spécifiques chez *M. annandalei* (42 choix homospécifiques sur 60 tests ; significatif à $P<0,01$).

DISCUSSION

Chez les termites, on peut aujourd'hui distinguer 3 situations : le cas où les phéromones de piste ne sont absolument pas spécifiques et où la réponse des termites est liée uniquement à la concentration de la phéromone (c'est ce qui est observé chez les termites champignonnistes *Pseudacanthotermes spiniger* et *P. militaris*), le cas où les phéromones

sont totalement spécifiques, (chez certains *Nasutitermes* du Brésil), enfin le cas intermédiaire où la spécificité des réponses est modulée par la concentration phéromonale (Bordereau *et al.* 2002). Dans ce dernier cas, il est fort probable que l'on se trouve en présence d'un système à plusieurs composantes avec un signal anonyme induisant le suivi de piste et un ou des signaux spécifiques. C'est ce qui a été suggéré pour des termites africains (Kaib *et al.* 1982). C'est probablement le cas chez *M. annandalei* et chez *M. barneyi* où la spécificité des pistes est claire, même si elle est plus discrète et plus labile chez *M. barneyi*, et où cette spécificité disparaît si l'on modifie la concentration des pistes. Au seuil d'activité du (Z)-3-dodécène-1-ol, composant majoritaire de la phéromone de piste chez ces espèces, les composants spécifiques induiraient la réponse spécifique des ouvriers. À forte concentration le (Z)-3-dodécène-1-ol masquerait l'action des éléments spécifiques en attirant fortement les ouvriers.

Quant à l'origine de la spécificité des pistes, nos résultats montrent clairement qu'elle ne provient pas de la phéromone de piste. Non seulement, aucun composé spécifique n'a été décelé à la surface des glandes sternales des 2 espèces, mais les pistes artificielles préparées à partir des glandes sternales seules n'apportent pas de réponses spécifiques de la part des ouvriers. En fait, la spécificité semble bien provenir des macules fécales qui balisent les pistes de termites, puisque des pistes artificielles préparées à partir de contenus intestinaux induisent des suivis de piste spécifiques. Il sera intéressant de rechercher la nature des composés intervenant dans ce phénomène.

REMERCIEMENTS : les auteurs tiennent à exprimer leur reconnaissance au professeur R. H. Leuthold pour avoir aimablement fourni plusieurs exemplaires de son dispositif expérimental à pistes parallèles et ainsi contribué à cette étude.

REFERENCES

- Abe T., 1987. « Evolution of life types in termites ». In *Evolution and coadaptation in biotic communities*, Eds Kawano S., Connell J. H., Hidaka T., University of Tokyo Press, 125-148.
- Affolter J. and Leuthold R. H., 2000. Quantitative and qualitative aspects of trail pheromones in *Macrotermes subhyalinus* (Isoptera, Termitidae). *Ins. Soc.*, 47 : 256-262.
- Bordereau C., Robert A., Canello E., Sémon E. 2002. Species specificity of trail and sex pheromones in termites. Proc. XIV IUSSI Congress, Sapporo.
- Grasse P.P., 1985. *Termitologia* TIII. Masson Ed.- 715pp.
- Kaib M., Bruinsma O., Leuthold R. H., 1982. Trail-following in termites : evidence for a multicomponent system. *J. Chem. Ecol.*, 8 (9) : 1193-1205.
- Peppuy A., 1999. Termites du Nord Vietnam, communication chimique et isolement spécifique. Thèse Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), 146 pp.
- Peppuy A., Robert A., Semon E., Ginies C., Lettere M., Bonnard O. and Bordereau C., 2001a. (z)-dodec-3-en-1-ol, a novel trail pheromone identified after solid phase microextraction from *Macrotermes annandalei*. *J. Insect Physiol.* 47 (2001) 445-453.
- Peppuy A., Robert A., Semon E., Bonnard O., Ngo Truong Son and Bordereau C., 2001b. Species specificity of trail pheromone of fungus-growing termites from northern Vietnam. *Ins.Soc.*, 48 (2001) 245-250.

UTILISATION DE MARQUEURS CHIMIQUES ET MOLÉCULAIRES : L'ÉTUDE DES COLONIES PARISIENNES DU TERMITE *RETICULITERMES SANTONENSIS*

S. Dronnet, P. Uva, J.-P. Christides, A.-G. Bagnères

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, CNRS UMR 6035, Université de Tours,
Faculté des Sciences et Techniques, Parc de Grandmont, 37200 Tours, France.
E-mail :bagneres@univ-tours.fr, dronnet@univ-tours.fr

RÉSUMÉ

Dans cette étude sur le termite souterrain *Reticulitermes santonensis*, espèce présente à Paris, nous proposons une double approche méthodologique pour analyser les colonies aux niveaux intra- et inter-colonial. Les profils d'hydrocarbures cuticulaires (HCs) et les microsattellites sont les deux types de marqueurs retenus pour appréhender cette recherche :

- intra-colonial : inférence de la structure reproductive basée sur l'analyse microsattellites des génotypes d'ouvriers en milieu urbain (*F*-statistics, relatedness)
- inter-colonial : discrimination des colonies à l'aide d'une comparaison des données chimiques (HCs, ACP) et génétiques (microsattellites, approche phylogénétique).

INTRODUCTION

L'espèce de termite souterrain *Reticulitermes santonensis* cause de sérieux dommages en milieu urbain, particulièrement à Paris où elle est connue pour s'attaquer aux bâtiments depuis les années 1950, mais également aux arbres d'alignement des rues adjacentes aux bâtiments infestés, et ceci dans plusieurs arrondissements (Lohou et al., 1997). Identifier les différentes colonies dans les aires infestées, connaître leurs limites physiques et les éventuelles connections entre les colonies s'est avéré nécessaire pour les contrôler d'une manière ciblée et efficace.

Les précédents travaux sur les colonies de *Reticulitermes* ont fait appel à l'utilisation de marqueurs chimiques tels que les hydrocarbures cuticulaires pour étudier les processus de reconnaissance des congénères ou encore la discrimination des castes (Howard, 1978 ; Bagnères et al., 1990, 1998). D'autre part, depuis les travaux de Clément (1986) et Reilly (1987) utilisant les allozymes, de nouveaux marqueurs génétiques moléculaires hautement polymorphes ont permis d'analyser l'organisation sociale et la structure génétique des populations de *Reticulitermes*, tels les microsattellites (Vargo, 2002 ; Dronnet et al., 2002).

Évaluer la structure reproductrice des colonies est aussi important que d'être capable d'identifier les différentes colonies, puisque le mode de reproduction (essaimage, bouturage) et la composition des colonies (présence ou non de nombreux reproducteurs secondaires ou néoténiques, ...) influencent notablement la dynamique de propagation des colonies.

Notre objectif est de présenter des approches méthodologiques pour étudier les colonies de *Reticulitermes santonensis* à deux niveaux : le niveau *intra-colonial*, qui concerne l'inférence de la structure reproductrice des colonies, fait appel aux microsatellites, tandis que le niveau *inter-colonial*, dont l'analyse permet de distinguer les différentes colonies, est abordé par une analyse double, chimique (hydrocarbures cuticulaires) et génétique (microsatellites).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Colonies étudiées. Pour l'analyse au niveau intra-colonial, les ouvriers de *Reticulitermes santonensis* provenant de sept colonies ont été prélevés dans les localités suivantes (les codes d'identification des colonies sont en accord avec Dronnet et al., 2002) :

- 5 colonies parisiennes : 8^{ème} arrdt (8C), 13^{ème} (13AB et 13C), 17^{ème} (Clichy 17A), Créteil (CRE7),
- 2 colonies non-parisiennes : Joué-les-Tours (JO1) (Indre-et-Loire) et Olonnes (OL) (Vendée).

L'analyse au niveau inter-colonial (microsatellites et hydrocarbures cuticulaires) a été basée sur cinq colonies : les trois colonies 8C, 17A, JO1 et deux autres colonies IV1 (Ivry-sur-Seine) et CRE (Créteil).

Marqueurs microsatellites. L'ADN génomique a été extrait individuellement pour vingt ouvriers issus de chaque colonie. Les produits amplifiés à cinq loci microsatellites (Vargo, 2000) ont été séparés sur gel de polyacrylamide à l'aide d'un séquenceur d'ADN LiCor. La taille des allèles a été déterminée avec Gene Profiler v4.03 (Scanalytics©).

- *Analyse de la structure reproductrice des colonies.* Les valeurs de parenté ont été calculées avec le programme Relatedness v.5.00 (Queller et Goodnight, 1989). Les écart-types de parenté ont été estimés par jackknife sur tous les loci. Les *F*-statistiques ont été calculées avec Genetic Data Analysis v.1.1 (Lewis et Zaykin, 2000).

- *Discrimination des colonies.* L'approche phylogénétique choisie permet de définir les distances entre les individus sur la base de la proportion des allèles partagés. Les individus sont comparés à chaque locus selon la relation de Lynch (1990) : $S_{xy} = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$ où n_{xy} est le nombre de bandes partagées entre les individus x et y , et n_x et n_y sont les nombres de bandes des individus x et y respectivement. La distance génétique entre les individus est ensuite définie selon $D_{xy} = 1 - S_{xy}$, D_{xy} variant de 0 (toutes les bandes sont partagées) à 1 (aucune bande n'est partagée). Identity v.1.0 (Wagner et Sefc, 1999) a permis de configurer les données microsatellites au format requis par le programme Microsat (Minch et al., 1997). À partir de la matrice de distances construite avec les 100 individus, un arbre est obtenu avec la méthode de Neighbor-Joining à l'aide de Paup v.4.0b10 (Swofford, 2001).

Hydrocarbures cuticulaires. Onze à treize ouvriers pour chacune des cinq colonies étudiées chimiquement ont été extraits individuellement dans du pentane et analysés par chromatographie en phase gazeuse (Perkin-Elmer Autosystem XL, colonne DB1 de 25 m).

- *Discrimination des colonies* : les proportions relatives d'hydrocarbures cuticulaires ont été déterminées pour chaque individu, puis une analyse en composante principale (ACP) a été réalisée avec Statistica v. 5.1 (StatSoft®). La séparation des groupes sur l'ACP a été évaluée par le Test *t* de Fisher non paramétrique.

RÉSULTATS

Structure reproductrice des colonies.

- *Analyse des pedigrees.* L'analyse des génotypes pour chaque colonie a révélé que toutes les colonies étaient non-Mendéliennes, c'est-à-dire qu'elles ne pouvaient être des familles simples menées par un seul couple de reproducteurs, mais au contraire étaient complexes.

- *Inférence du système de reproduction* (Tableau 1). FIT est le coefficient de consanguinité de l'individu par rapport à la population totale, FCT celui de la colonie par rapport à la population totale et FIC celui de l'individu par rapport à la colonie.

	F _{IT}	F _{CT}	F _{IC}	r
Résultats empiriques				
(i) toutes les colonies (n=7)	0.30 (0.22-0.38)	0.32 (0.28-0.35)	-0.04 (-0.11-0.06)	0.49 (0.42-0.56)
(ii) colonies parisiennes (n=5)	0.23 (0.13-0.39)	0.26 (0.20-0.33)	-0.04 (-0.12-0.12)	0.38 (0.29-0.47)
Systèmes de reproduction simulés *				
(A) Un couple de reproducteurs	0.00	0.25	-0.33	0.50
(B) Reproduction entre néoténiques				
(i) N _f = N _m =1, X=1	0.33	0.42	-0.14	0.62
(ii) N _f = N _m =1, X=3	0.57	0.65	-0.22	0.82
(iii) N _f = N _m =10, X=1	0.33	0.34	-0.01	0.51
(iv) N _f = N _m =10, X=3	0.37	0.38	-0.02	0.56
(v) N _f =200, N _m = 100, X=3	0.33	0.34	-0.00	0.50

Tableau 1 : Comparaison des mesures empiriques d'*inbreeding* (*F*-statistiques) et de parenté moyenne (*r*), obtenues pour les colonies de *R. santonensis* (intervalles de confiance à 95%), avec les valeurs simulées (Thorne et al., 1999) de différents systèmes de reproduction. (N_f et N_m = nb reproducteurs néoténiques femelles et mâles, produits par génération X).

FIC est très proche de 0, ce qui indique un nombre élevé de reproducteurs de remplacement. La parenté moyenne est inférieure à 0.50. Les valeurs empiriques correspondent aux valeurs simulées des colonies (Thorne et al., 1999) avec reproduction entre néoténiques depuis au moins trois générations

Différents patterns possibles de reproduction peuvent être envisagés : seuls un roi et une reine non apparentés auraient fondé la colonie puis auraient été relayés par de nombreux cycles de reproduction intra-coloniale entre néoténiques, ou encore il y aurait eu plus d'un roi et d'une reine non apparentés à l'origine de la colonie (pléométrie, cas non montré ici) puis de nombreux cycles de reproduction intra-coloniale via les néoténiques. Ce dernier cas est suggéré pour quelques colonies au vu de la présence d'un locus avec plus de quatre allèles. Étant donné la complexité du système, d'autres patterns de reproduction avec, par exemple, des situations intermédiaires sont également envisageables.

Discrimination des colonies

Analyse des hydrocarbures cuticulaires

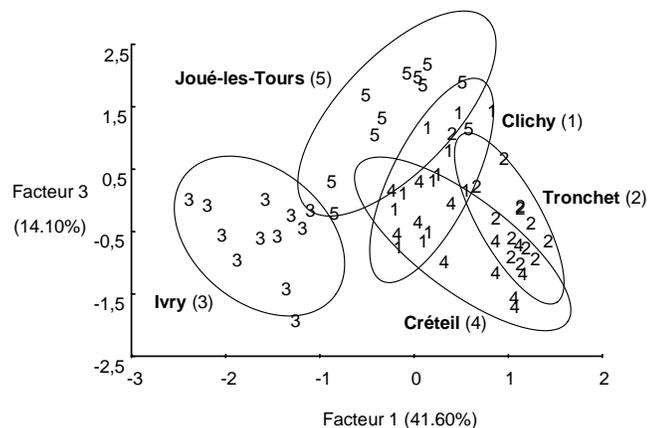


Figure 1 : Analyse en composantes principales des proportions relatives d'hydrocarbures cuticulaires chez *R. santonensis*. Projection des individus des 5 colonies sur les axes factoriels 1 et 3 avec les ellipses de confiance à 90% (colonies : 1 : 17A, 2 : 8C,

Les cinq colonies ont pu être différenciées par les proportions relatives d'hydrocarbures cuticulaires (Figure 1). Les analyses statistiques (test t de Fisher non paramétrique) montrent en effet que ces colonies sont statistiquement différentes en utilisant les trois premiers axes de l'ACP (respectivement 41.60%, 15.09% et 14.10% de la variance ; $p < 0.05$).

Marqueurs microsatellites

Les individus sont regroupés en raison de leur colonie d'appartenance (Figure 2). Le degré de séparation entre les colonies est estimé par la longueur des branches basales, qui est inversement proportionnelle au nombre d'allèles partagés.

Les colonies parisiennes Clichy (1) et Tronchet (2) présentent une superposition partielle justifiée par la présence d'un certain nombre d'allèles communs, alors que les individus de

Joué-les-Tours (5) sont bien regroupés du fait de la présence d'allèles diagnostiques qui sont absents dans les autres colonies. Quelques cas isolés (deux individus d'Ivry et un de Créteil) se situent dans l'autre groupe, respectivement.

Nous pouvons remarquer que pour la colonie de Créteil (4), on observe une variabilité dans la longueur des branches apicales, ce qui correspond à une forte hétérogénéité génétique au sein de la colonie. Ces résultats correspondent à ceux précédemment obtenus pour la structure reproductrice de cette colonie : la colonie était non-mendélienne, avec la plupart des loci ayant plus de quatre allèles (voir Dronnet et al, 2002).

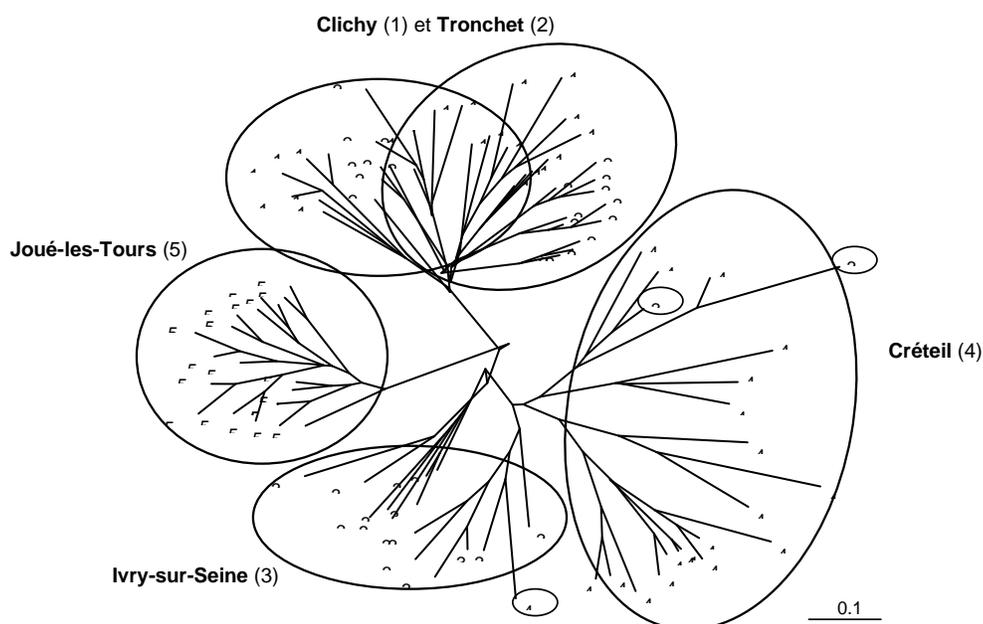


Figure 2 : Arbre de distance obtenu avec la méthode neighbor-joining à partir des distances entre 60 génotypes microsatellites. Les ellipses, sans valeur statistique, ont été dessinées pour une meilleure visualisation des groupes (pour les codes des colonies, voir la Figure 1).

CONCLUSION

L'emploi de marqueurs, l'un phénotypique (hydrocarbures cuticulaires), l'autre génétique (microsatellites), nous a permis d'étudier les colonies de *R. santonensis* aux niveaux intra- et inter-colonial. En milieu urbain, le système de reproduction de *R. santonensis* serait donc influencé par cet environnement particulier puisque la voie de reproduction via les reproducteurs secondaires semble être favorisée. Ainsi, le mode de propagation par bouturage aurait des conséquences importantes sur la répartition des colonies en milieu urbain, colonies qui peuvent être distinguées grâce à des critères chimiques et génétiques. Cette discrimination des colonies est essentielle afin d'optimiser l'efficacité des traitements sur la ville de Paris. Un plus grand nombre de colonies à échantillonner est nécessaire pour confirmer les analyses employées, mais également pour en réaliser d'autres qui combindraient les deux marqueurs chimiques et génétiques.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. Ohresser (CNRS, Tours) et E.L. Vargo (Dept. Of Entomology, NCSU) pour leur aide précieuse dans l'analyse des microsatellites au niveau intra-colonial. Nous remercions particulièrement C. Lohou du Service des Sciences et Techniques du Végétal (Direction des Parcs, Jardins et Espaces Verts, Ville de Paris). Merci au SMASH (Service Municipal d'Hygiène, Ville de Paris). Ce projet est financé par la Direction des Parcs, Jardins et Espaces Verts de la ville de Paris et par le CNRS.

RÉFÉRENCES

- Bagnères A.-G., Clément J.-C., Lange C., Blum M.S., 1990. Cuticular compounds in *Reticulitermes* termites: species, caste and colonial signature. In: Social Insects and the Environment, Veeresh G. K., Mallik B., Viraktamath C. A. (eds), Oxford & IBH, pp. 423-424.
- Bagnères A.-G., Rivière G., Clément J.-L., 1998. Artificial neural network modeling of caste odor discrimination based on cuticular hydrocarbons in termites. *Chemoecology*, 8, 201-209.
- Clément J.-L., 1986. Open and closed societies in Termites of the genus *Reticulitermes*, geographic variations and seasonality. *Sociobiol.*, 11, 311-323.
- Dronnet S., Ohresser M., Vargo E.L., Lohou C., Clément J.-L., Bagnères A.-G., 2002. Colony studies of the subterranean termite, *Reticulitermes santonensis* (Isoptera: Rhinotermitidae), in the city of Paris. In: Proceedings of the 4th International Congress of Urban Pest, S.C. Jones, J. Zhai, W.H. Robinson (eds), Pocahontas Press, inc., VA, USA, pp. 295-301.
- Howard R.W., McDaniel C.A., Blomquist G., 1978. Cuticular hydrocarbons of the Eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes*. *J. Chem. Ecol.*, 4, 233-245.
- Lohou C., Burban G., Clément J.-L., Jequel M., Leca J.-L., 1997. Protection des arbres d'alignement contre les termites souterrains. L'expérience menée à Paris. *Phytoma*, 492, 42-44.
- Lynch M., 1990. The similarity index and DNA fingerprinting. *Mol. Biol. Evol.*, 7, 478-484.
- Reilly L. M., 1987. Measurements of inbreeding and average relatedness in a termite population. *Am. Nat.*, 130, 339-349.
- Thorne B.L., Traniello J.F.A., Adams E.S., Bulmer M.S., 1999. Reproductive dynamics and colony structure of subterranean termites of the genus *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae): a review of the evidence from behavioral, ecological, and genetic studies. *Ethol. Ecol. Evol.*, 11, 149-169.
- Vargo E.L., 2000. Polymorphisms at trinucleotide microsatellite loci in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Mol Ecol.*, 9, 817-820.
- Vargo E.L., 2002. Molecular genetic analysis of colony and population genetic structure of eastern subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) in North Carolina, In: Proceedings of the 4th International Congress of Urban Pest, S.C. Jones, J. Zhai, W.H. Robinson (eds), Pocahontas Press, inc., VA, USA, pp. 289-294.

Références des logiciels et programmes utilisés :

- Lewis P.O., Zaykin D., 2000. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.1. <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/gda.html> (Jan. 7, 2002).
- Minch E., 1997. MICROSAT 1.5b. Stanford University Medical Center, Stanford.

- Queller D.C., Goodnight K.F. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*, 43, 258-275.
- Swofford D.L., 2001. PAUP* 4.0b10. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods). Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Wagner H.W, Sefc K.M., 1999. IDENTITY 1.0. Center for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences, Vienna.

RECONNAISSANCE COLONIALE CHEZ DES FOURMIS
SE REPRODUISANT PAR BOUTURAGE

K. Ichinose *, **A. Lenoir ***, **X. Cerdá ****

*IRBI, CNRS UMR 6035, Institut de Recherche de Biologie de l'Insecte, Faculté des Sciences et Techniques, Parc de Grandmont, 37200 Tours, France

kasuya.ichinose@univ-tours.fr

** Estacion Biologica de Donana, Spanish Council for Scientific Research (CSIC) Apdo. 1056, E-41080 Séville, Espagne

RESUME

Certaines fourmis se reproduisant par bouturage, comme les *Aphaenogaster senilis*, sont peu agressives envers les individus d'autres colonies proches de la même espèce. Dans ce cas, il est difficile d'apprécier les relations entre colonies. Nous avons cherché à mettre au point une méthode qui permette de discriminer deux colonies différentes. Nous avons effectué des rencontres entre individus de colonies élevées au laboratoire depuis plus d'un an, et de nids collectés récemment. Quatre catégories de comportements (immobilité en contact ; contact antennaire ; toilettage interindividuel ; agression) ainsi que la période de latence avant la première agression ont été enregistrées et analysées par analyse en composantes principales. La première composante reflète l'intensité de l'hostilité, la deuxième le toilettage et la troisième composante « l'amitié ». Cela permet de discriminer les types de confrontations sans erreurs, séparant clairement des paires témoins de celles des nids différents. Ce moyen peut être utilisé pour discriminer des nids bouturés à partir d'un même nid mère.

MOTS-CLES : *agression, Aphaenogaster senilis, bouturage, reconnaissance coloniale*

ABSTRACT

Nestmate recognition in ants which reproduce by budding.

In ants like *Aphaenogaster senilis* which reproduce by budding, the relationships between colonies are difficult to measure. We made confrontations between workers from different colonies reared in the laboratory for one year, or recently collected in the field. Four categories of worker behaviours were established: resting in contact, antennal contact, grooming, aggression, and we recorded also the latency of the first aggression. A principal component analysis revealed a first component indicating the intensity of hostility, the second allogrooming and the third amicability. These components discriminated without errors the control pairs from different colonies pairs. This can be used for ants which conduct budding at any time after the budding.

KEY WORDS: *aggression, Aphaenogaster senilis, budding, nestmate recognition*

INTRODUCTION

La fourmi, *Aphaenogaster senilis*, reproduit des colonies par bouturage à partir d'un groupe d'ouvrières orphelines, qui produiront des sexués (Ledoux, 1971). Dans cette situation, la séparation des deux nids doit se faire progressivement, les ouvrières devenant agressives envers les ouvrières restées avec la reine et qui essaieraient d'entrer (Stuart et Herbers, 2000). Des ouvrières qui ont été séparées artificiellement sont peu agressives, et elles effectuent des contacts antennaires plus fréquemment avec celles qui ont été séparées (Dahbi et Lenoir, 1998 ; Lahav et coll., 2001). Pour évaluer la relation existant entre les ouvrières de deux colonies, on utilise en général des indices d'agression. Ces indices discriminent difficilement les comportements entre des nids bouturés pendant la période initiale de l'interaction dans la même colonie, malgré le début de leur séparation. Une analyse qui inclut tous les comportements devrait permettre une meilleure discrimination. En utilisant des colonies de *A. senilis* maintenues au laboratoire, cette hypothèse a été testée par analyse en composantes principales. Le même procédé a été appliqué à des nids collectés récemment et l'efficacité de ce dernier moyen a été évaluée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les colonies ont été récoltées dans le Parc National de Doñana (Andalousie). Onze colonies maintenues dans le laboratoire depuis plus un an ont été utilisées dans une première partie. Une ouvrière d'une colonie a été mise en présence de trois ouvrières de la même colonie ou d'une autre colonie et ses comportements envers ces trois ouvrières ont été observés durant 30 min. L'observation de chaque paire de deux colonies a été répétée trois fois. Les fréquences de quatre catégories de comportements ont été notées : repos en contact; contact antennaire ; toilettage interindividuel ; agression ; ainsi que la latence de la première agression. Les moyennes des fréquences et de la latence ont été comparées entre les paires de même colonie (témoins) et celles de colonies différentes. L'analyse en composantes principales a été réalisée sur les moyennes. Des analyses similaires ont été exécutées sur les nids qui avaient été collectés en mai 2002, mais les observations ont été limitées à 10 min. Sur le terrain, les nids ont été regroupés en fonction de leur distance au plus proche voisin (Fig. 1) ; et les tests en faisant les confrontations au hasard. Les variables révélées par l'ACP ont été comparées avec les distances entre les nids utilisés pour tester l'influence de la distribution des nids sur le comportement des fourmis.

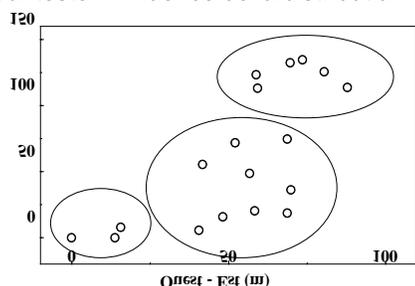


Figure 1. *Distribution des nids de Aphaenogaster senilis à Doñana, Espagne (mai 2002). Les nids entourés correspondent à un même groupe.*

Distribution of nests of Aphaenogaster senilis in Doñana, Spain (May 2002). Nests of the same group are enclosed.

RÉSULTATS

L'activité des individus mesurée par la fréquence des comportements a toujours été significativement plus importante dans les paires des colonies différentes par rapport aux témoins. L'agression est le meilleur discriminant : $0,221 \pm 0,667$ (homocolonial) et $4,585 \pm 4,283$ (hétérocolonial). Prenant l'agression comme étant le comportement caractéristique des colonies différentes, la probabilité d'erreur a été de 14,8% en homocolonial et de 6,7% pour les paires hétérocoloniales. Les probabilités d'erreur ont été similaires pour les observations de 10 min uniquement (8,5% et 12,1% respectivement). Par conséquent, les comportements en 10 min ont été utilisés pour les analyses suivantes.

L'analyse en composantes principale a révélé trois composantes (81% de la variance). La première était corrélée significativement avec la fréquence des contacts antennaires et celle de l'agression, la deuxième avec le toilettage, et la troisième avec le repos en contact. La première composante associée à une des autres a pu discriminer les paires précisément, mais une paire aurait été discriminée par erreur (Fig. 2).

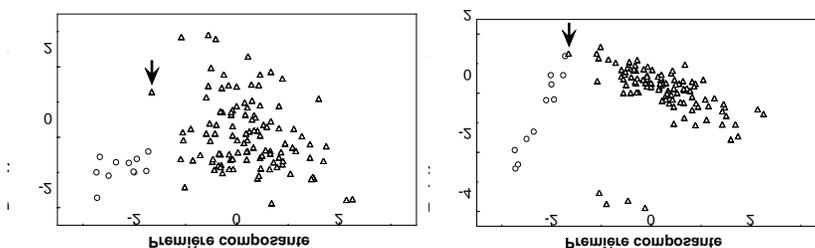


Figure 2. Composantes principales pour les paires de même colonie (cercles) et de colonies différentes (triangles). L' a paire qui aurait été discriminée par erreur est fléchée.

Principal components for worker behaviours of the same (circles) or different colony (triangles) pairs. The pair possibly wrongly discriminated is indicated by an arrow.

L'analyse sur les nids récoltés récemment sur le terrain a aussi révélé trois composantes (Fig. 3). La première composante n'a pas été différente significativement entre les rencontres intra-groupe et inter-groupe. La corrélation de la première composante avec les distances des nids n'a pas été significative. Deux paires de nids différents ont été jugées provenant de la même colonie, reflétant un bouturage récent.

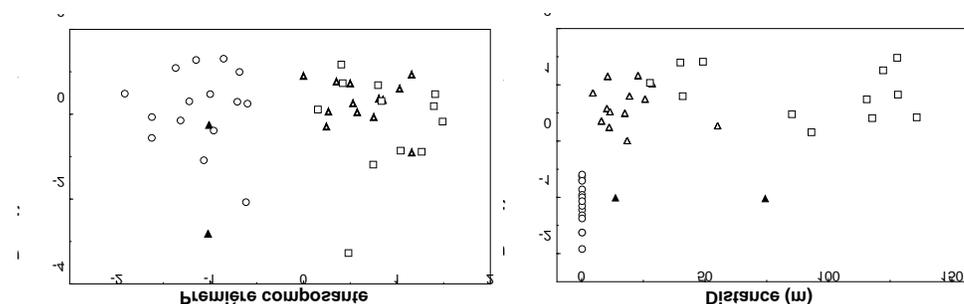


Figure 3. Discrimination des nids d'*A. senilis* à Doñana, Espagne (mai 2002) selon les deux premières composantes de l'ACP (A) ; Relation entre la première composante et la distance entre les nids (B). Les nids provenant probablement d'un bouturage récent sont indiqués par des triangles noirs.

*Discrimination of *A. senilis* nests according ACP in Doñana, Spain (May 2002) (A); Relation of the first principal component with internidal distances (B). The nests judged to come from a recent budding are indicated by dark triangles.*

DISCUSSION

Chez *A. senilis*, le contact antennaire et l'agression indiquent le degré d'hostilité (1^{ère} composante), et le toilettage interindividuel (2^{ème}) ou le contact immobile (3^{ème}) indiquent les relations de type amical. Le toilettage pourrait être impliqué dans les mécanismes de la reconnaissance coloniale chez cette fourmi. Des ouvrières utilisent le toilettage pour échanger leurs substances cuticulaires et établir l'odeur de Gestalt propre à chaque colonie (Lenoir et coll., 2001). La plus haute fréquence de toilettage dans les paires des colonies différentes indiquerait la nécessité d'harmoniser les odeurs cuticulaires. L'ACP a discriminé nettement les nids qui proviennent d'anciens bouturages sur le terrain. Par ailleurs, dans deux cas, des nids différents se sont révélés se comporter comme issus d'un bouturage récent. Les résultats suggèrent que des ouvrières des nids bouturés deviennent agressives à une période donnée ce qui permet la séparation des deux nids. L'analyse sur tous les comportements pourrait être utilisée pour suivre les changements de comportement entre les nids bouturés.

REMERCIEMENTS

Le séjour de K. Ichinose en France est soutenu par une bourse du Gouvernement français. Dr X. Cerdá a obtenu le permis de collecter des fourmis dans le Parc National de Doñana, Espagne.

RÉFÉRENCES

- Dahbi, A. and A. Lenoir, 1998. Nest separation and the dynamics of the Gestalt odor in the polydomous ant *Cataglyphis iberica* (Hymenoptera, Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 42: 349-355.
- Lahav, S., V. Soroker, R. K. Vander Meer, and A. Hefetz, 2001. Segregation of colony odor in the desert ant *Cataglyphis niger*. *J. Chem. Ecol.* 27: 927-943.
- Ledoux, M. A., 1971. Un nouveau mode de bouturage de société chez la Fourmi *Aphaenogaster senilis* Mayr. *C. R. Acad. Sc. Paris* 273: 83-85.
- Lenoir, A., D. Cuisset and A. Hefetz, 2001. Effects of social isolation on hydrocarbon pattern and nestmate recognition in the ant *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes soc.* 48: 101-109.
- Lenoir, A., A. Hefetz, T. Simon and V. Soroker, 2001. Comparative dynamics of gestalt odour formation in two ant species *Camponotus fellah* and *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera: Formicidae). *Physiol. Entomol.* 26: 275-283.
- Stuart, R. J. and J. M. Herbers, 2000. Nest mate recognition in ants with complex colonies: within- and between-population variation. *Behav. Ecol.* 11: 676-685.

DISCRIMINATION DE MARQUAGES TERRITORIAUX CHEZ UNE PONERINE
NEOTROPICALE, *PACHYCONDYLA APICALIS*
(HYMENOPTERA : FORMICIDAE : PONERINAE)

A. Pezon, D. Fresneau

Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée
FRE CNRS 2413, Université Paris 13, 93430 Villetaneuse, France

RESUME

Chez *Pachycondyla apicalis*, la défense et la protection du nid contre des intrus conspécifiques sont assurées par un comportement territorial adaptatif se limitant au pourtour de l'entrée du nid où un marquage territorial spécifique à la colonie est présent. Nous avons mis au point un test éthologique mettant en évidence la capacité des fourrageuses de cette espèce à discriminer un marquage homocolonial de marquages hétérocoloniaux homospécifique et hétérospécifique de *P. obscuricornis*, une ponérine de la litière dont les contraintes de nidification sont comparables. La similarité des produits de marquage territorial permettrait cette reconnaissance interspécifique entre *P. apicalis* et *P. obscuricornis*. La coexistence au sein de la même communauté de ces deux espèces phylogénétiquement proches est discutée.

INTRODUCTION

Comme de nombreuses ponérines de la litière des forêts tropicales humides, *Pachycondyla apicalis* présente un comportement constructeur quasi inexistant se limitant à l'aménagement partiel de l'entrée du nid et des chambres profondes. Cette espèce nidifie exclusivement dans des cavités naturelles préexistantes, généralement dans du bois mort où les conditions d'humidité et d'obscurité sont adéquates (Fresneau, 1994). De tels sites de nidification sont cependant rares et constituent une ressource instable en raison de la décomposition accélérée du bois mort et de l'espace de nidification limité. Les colonies sont souvent obligées de migrer, créant de ce fait une pression écologique pour l'appropriation de sites de nidification. *P. apicalis* établit de petits territoires de nidification et marque le substrat situé autour de l'entrée du nid avec des phéromones spécifiques à la colonie. Ce type de marquage a été mis en évidence chez plusieurs ponérines appartenant aux genres *Amblyopone*, *Diacamma*, *Ectatomma*, *Hypoponera*, *Leptogenys*, *Onychomyrmex*, *Pachycondyla* et *Ponera* (Hölldobler & Wilson, 1990). Le marquage de l'entrée du nid avec des substances spécifiques à la colonie assiste les fourrageuses au cours de leur approche finale et étiquette l'entrée comme appartenant à la colonie (Hölldobler & Wilson, 1990). La défense et la protection du nid contre des intrus conspécifiques sont assurées par un comportement territorial adaptatif basé sur des rituels de dominance-soumission relativement élaborés qui ont lieu uniquement à proximité de l'entrée du nid où un marquage territorial est présent (Fresneau & Valenzuela-Gonzalez, sous presse). Lorsqu'une rencontre s'effectue à proximité d'un nid, le niveau d'agressivité entre deux fourrageuses non apparentées est élevé, et la perception différente du marquage territorial donne régulièrement l'avantage à l'ouvrière « résidente » par rapport à sa congénère « intruse ». Par contre lorsqu'une rencontre a lieu en terrain neutre, les fourrageuses manifestent généralement des comportements d'évitement. Des agressions fortuites peuvent toutefois avoir lieu lorsque l'appropriation d'une ressource trophique ponctuelle est en jeu. Ces observations suggèrent que les fourrageuses de *P. apicalis* soient capables de discriminer entre des marquages neutres, homocoloniaux et hétérocoloniaux intraspécifiques. Afin de mieux comprendre et de mieux caractériser les différentes relations compétitives intra- et interspécifiques de cette espèce, nous avons mis au point un test éthologique permettant de mettre en évidence la capacité des fourrageuses de *P. apicalis* à discriminer différents marquages territoriaux homospécifiques et hétérospécifiques d'espèces sympatriques. Une meilleure connaissance des phénomènes biologiques liés à la territorialité et aux interactions compétitives permettrait à terme de mieux comprendre la coexistence de ces espèces

« primitives » et non dominantes dans leur communauté ainsi que leur impact sur la biodiversité des écosystèmes néotropicaux.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons observé pendant 5 minutes le comportement d'une fourrageuse de *P. apicalis* confrontée dans une aire d'expérimentation (20x13x5cm) à deux substrats marqués différemment : un substrat homocolonial et un substrat test (figure 1). Le substrat test peut être selon le cas : 1) homocolonial (HOC) ; 2) neutre (NEU) ; 3) hétérocolonial (HEC) ; 4) hétérosécificique de *Pachycondyla obscuricornis*, ponérine de la litière dont les contraintes de nidification sont similaires à celles de *P. apicalis* (HEL) ; 5) hétérosécificique d'*Odontomachus haematodes*, ponérine de la litière dont les contraintes de nidification sont différentes de celles de *P. apicalis* (LIT) ; 6) hétérosécificique d'*Ectatomma ruidum*, ponérine terricole (TER) ; 7) hétérosécificique de *Pachycondyla villosa*, ponérine arboricole (ARB).

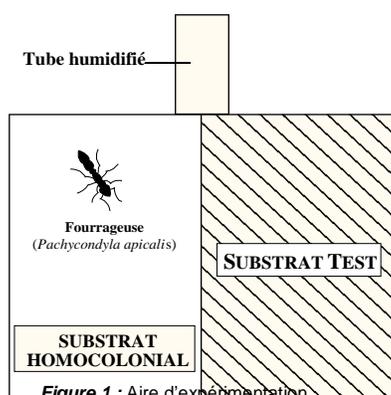


Figure 1 : Aire d'expérimentation contenant un substrat homocolonial et un substrat test.

Lors du test, nous avons noté le temps passé sur chacun des deux substrats et la fréquence des marquages. Chez *P. apicalis*, la territorialité repose sur un marquage buccal : une ouvrière à l'arrêt écarte ses mandibules au maximum et touche le substrat avec ses pièces buccales. Le contact avec le substrat s'accompagne d'un léger mouvement du corps vers l'avant.

Afin d'obtenir des substrats marqués, un papier filtre vierge (20x13cm) est placé dans l'aire de marquage de chacune des 6 colonies utilisées pendant 96 heures. Durant cette période, les ouvrières ont à tout moment accès à l'aire de marquage située entre le nid et l'aire de fourragement. Ce système de double monde extérieur permet de réduire au maximum toute contamination de l'aire de marquage par le dépôt de

nourriture. Chaque fourrageuse marquée individuellement est testée une fois sur chacune des 7 combinaisons de substrats avec un intervalle de 4 jours entre deux tests afin d'éviter tout phénomène d'habituation. De plus, la séquence des expériences de chaque fourrageuse a été déterminée à l'aide d'un Carré Latin (7 combinaisons de substrats ; 7 fourrageuses par espèce), contrôlant ainsi tout effet d'ordre. Nous avons donc réalisé 7 réplicats par combinaison de substrats, soit un total de 49 tests éthologiques.

RESULTATS

- Temps passé sur chacun des substrats (figure 2) :

Les fourrageuses de *Pachycondyla apicalis* ne passent pas significativement plus de temps sur l'un ou l'autre des deux substrats homocoloniaux, noté HOC (test de Wilcoxon pour échantillons appariés, $p=0,5781$). Les fourrageuses de *P. apicalis* passent significativement plus de temps sur les substrats neutre (NEU : 54,4% du temps total) et hétérocolonial (HEC : 69,4% du temps total) que sur le substrat HOC associé (test de Wilcoxon pour échantillons appariés, respectivement $p=0,0313$; $p=0,0156$). En revanche, les fourrageuses de *P. apicalis* ne passent pas significativement plus de temps sur les substrats hétérosécificiques de *P. obscuricornis* (HEL), d'*Odontomachus hæmatodes* (LIT), d'*Ectatomma ruidum* (TER) et de *Pachycondyla villosa* (ARB) que sur le substrat HOC associé (test de Wilcoxon pour échantillons appariés, respectivement $p=0,6875$; $p=0,2188$; $p=1,0000$; $p=0,2188$).

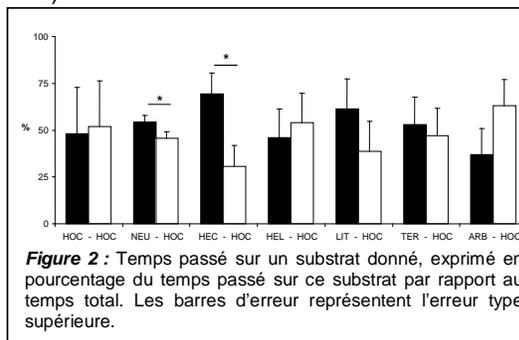


Figure 2 : Temps passé sur un substrat donné, exprimé en pourcentage du temps passé sur ce substrat par rapport au temps total. Les barres d'erreur représentent l'erreur type supérieure.

• *Fréquences des marquages* (figure3) :

La fréquence des marquages des fourrageuses de *P. apicalis* est significativement plus élevée sur les substrats HEC et HEL que sur le substrat HOC associé (test de Wilcoxon pour échantillons appariés, respectivement $p=0,0469$; $p=0,0156$). Les sept ouvrières testées avec les combinaisons de substrats HEC-HOC et HEL-HOC ont effectué respectivement un total de 67 et 59 marquages. Sur les 67 marquages réalisés lors des tests HEC-HOC, 61 (soit 91,0%) ont été effectués sur le substrat HEC. Sur les 59 marquages réalisés lors des tests HEL-HOC, 45 (soit 76,3%) ont été effectués sur le substrat HEL. En revanche, aucune différence significative n'est observée entre le substrat HOC et les substrats HOC, NEU, LIT, TER et ARB (test de Wilcoxon pour échantillons appariés, respectivement $p=0,1250$; $p=0,1563$; $p=0,1094$; $p=0,4688$; $p=0,9375$).

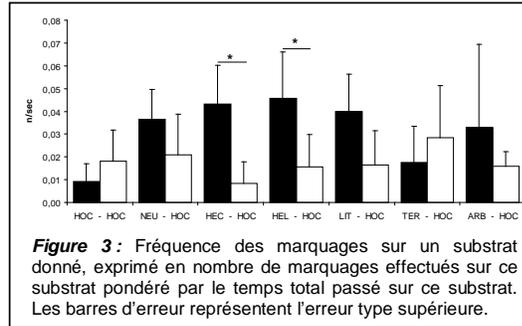


Figure 3 : Fréquence des marquages sur un substrat donné, exprimé en nombre de marquages effectués sur ce substrat pondéré par le temps total passé sur ce substrat. Les barres d'erreur représentent l'erreur type supérieure.

CONCLUSION

Selon la loi de Gause communément acceptée en écologie, la compétition pour l'occupation d'une niche écologique est la plus forte entre deux individus ou deux sociétés différents d'une même espèce. D'après les résultats de notre étude, il apparaît que les fourrageuses de *Pachycondyla apicalis* sont capables de discriminer un substrat homocolonial d'un substrat hétérocolonial homospécifique. Les ouvrières marquent plus le substrat hétérocolonial que leur propre substrat. Nos résultats sont en accord avec la mise en évidence de la fermeture des sociétés et l'existence d'un comportement territorial chez cette espèce (Fresneau, 1980, 1994 ; Fresneau & Valenzuela-Gonzalez, sous presse). La territorialité manifestée par *P. apicalis* est comparable aux stratégies territoriales d'espèces plus « évoluées », telles que *Myrmica rubra* et *Pheidole pallidula* qui marquent les entrées et les abords immédiats des nids avec des phéromones spécifiques à la colonie (Cammaerts *et al.*, 1977 ; Cammaerts & Cammaerts, 1998).

Un substrat neutre ne provoque pas chez les fourrageuses de *P. apicalis* plus de marquages, contrairement aux espèces généralement « évoluées » et dominantes défendant de vastes territoires absolus de fourragement, telle que *Oecophylla longinoda*. Chez ces ponérines, le marquage territorial permettrait de défendre le nid et non d'accaparer des ressources trophiques se trouvant majoritairement à l'extérieur du territoire.

Les fourrageuses de *P. apicalis* ne discriminent pas au niveau comportemental un substrat homocolonial d'un substrat hétérospécifique de ponérines terricole (*Ectatomma ruidum*), arboricole (*Pachycondyla villosa*) ou de la litière (*Odontomachus hæmatodes*) dont les niches écologiques et les contraintes de nidification sont différentes. Ces espèces ne sont pas en compétition avec *P. apicalis* pour l'appropriation de sites de nidification. L'absence de discrimination comportementale traduirait donc cette absence de compétition. En revanche, *Pachycondyla apicalis* est en compétition pour l'accès aux sites de nidification avec une ponérine de la litière, *P. obscuricornis*, dont l'écologie et dans une moindre mesure la biologie sont similaires. Les fourrageuses de *P. apicalis* marquent plus le substrat hétérospécifique de *P. obscuricornis* que leur propre substrat. La question se pose de savoir quel mécanisme permet à *P. apicalis* de reconnaître et discriminer les substrats marqués par *P. obscuricornis*. Etant donné que toutes les fourrageuses testées sont nées en laboratoire et n'ont jamais été en contact avec *P. obscuricornis*, un phénomène d'apprentissage semble peu probable. Phylogénétiquement proches, ces deux espèces furent fréquemment confondues dans la littérature. Il semble donc plausible que les produits de marquages déposés par *P. obscuricornis* soient similaires aux produits de marquages de *P. apicalis*. Cette similarité des produits glandulaires permettrait aux fourrageuses de *P. apicalis* de

traiter un substrat hétérosppécifique de *P. obscuricornis* comme un substrat hétérocolonial. Un tel cas existe chez deux espèces fortement apparentées de fourmis moissonneuses, *Pogonomyrmex barbatus* et *P. rugosus*. Ces deux espèces occupent des niches écologiques quasiment identiques et sont caractérisées par une très forte territorialité intersppécifique. Regnier *et al.* (1973) ont montré que les profils chimiques des sécrétions de la glande de Dufour servant au marquage territorial sont presque identiques. Cette similarité chimique amène ces deux espèces à se traiter comme une seule et même espèce dans le contexte territorial.

Pour mieux comprendre les interactions des sociétés de ponérines de la litière dans leur communauté écologique, il est nécessaire d'étudier de plus près la dispersion des nids et la structure des communautés (Levings & Traniello, 1981), la relation entre la morphologie et l'utilisation des ressources, le choix de l'habitat et des sites de nidification (Smallwood, 1982) et les mécanismes comportementaux régulant la coexistence intraspécifique et intersppécifique des fourmis (Hölldobler, 1976). Ces études permettraient à terme de mieux comprendre la coexistence de deux espèces phylogénétiquement proche, comme *P. apicalis* et *P. obscuricornis*, dans la même communauté. En effet, la question se pose de savoir comment deux espèces dont les traits d'histoire de vie sont semblables peuvent se maintenir dans la même communauté sans que l'une d'elles ne disparaisse. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer la coexistence d'espèces dont l'utilisation des ressources est similaire (Retana *et al.*, 1992) : (a) les traits d'histoire de vie diffèrent entre les espèces et permettent à l'une des espèces d'être un meilleur compétiteur et à l'autre un meilleur colonisateur ; (b) le recouvrement spatial des espèces est très faible, dû à une séparation en micro-habitats ; (c) certains régimes de perturbations environnementales peuvent maintenir la densité des colonies à un seuil trop faible pour que la compétition puisse jouer un rôle dans l'organisation de la communauté. Les phénomènes biologiques liés à la territorialité et aux interactions compétitives chez *P. apicalis* et *P. obscuricornis* méritent donc d'être étudiés plus en détail.

REFERENCES

- Cammaerts M.-C., Morgan E.D., Tyler R., 1977. Territorial marking in the ant *Myrmica rubra* L. (Formicidæ). Biol. Behav., 2, 263-272.
- Cammaerts M.-C., Cammaerts R., 1998. Marking of nest entrance vicinity in the ant *Pheidole pallidula* (Formicidæ, Myrmicinæ). Behav. Proc., 40, 25-34.
- Fresneau D., 1980. La fermeture des sociétés et le marquage territorial chez une fourmi ponérine du genre *Neoponera*. Rev. Biol. Ecol. Med., 7, 205-206.
- Fresneau D., 1994. Biologie et comportement social d'une fourmi ponérine néotropicale (*Pachycondyla apicalis*). Thèse d'Etat, Université Paris XIII, 331 p.
- Fresneau D., Valenzuela-Gonzalez J., sous presse. Territoriality and nestmate recognition in the Ponerine ant *Pachycondyla apicalis* (Hymenoptera, Formicidæ). J. Insect Behav.
- Hölldobler B., 1976. Recruitment behavior, home range orientation and territoriality in harvester ants, *Pogonomyrmex*. Behav. Ecol. Sociobiol., 1, 3-44.
- Hölldobler B., Wilson E.O., 1990. The Ants. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Jaffe K., Marquez M., 1987. On agonistic behavior among workers of the ponerine ant *Ectatomma ruidum* (Hymenoptera : Formicidæ). Insectes soc., 34, 87-95.
- Levings S.C., Traniello J.F.A., 1981. Territoriality, nest dispersion, and community structure in ants. Psyche 88, 265-319.
- Regnier F., Nieh M., Hölldobler B., 1973. The volatile Dufour's gland component of the harvester ant *Pogonomyrmex rugosus* and *P. barbatus*. J. Insect Physiol. 19, 981-992.
- Retana J., Cerdá X., Espalader X., 1992. Coexistence of two sympatric ant species, *Pheidole pallidula* and *Tetramorium semilæve* (Hymenoptera : Formicidæ). Entomol. Gener., 17, 29-40.
- Smallwood J., 1982. Nest relocations in ants. Insectes soc., 29, 138-147.

LES PHEROMONES DE PISTE CHEZ LES TERMITES
LE CAS DE *MASTOTERMES DARWINIENSIS*

D. Sillam-Dusses, A. Robert, C. Bordereau

Université de Bourgogne, UMR-CNRS 5548, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon, France

RESUME

La communication chimique est indispensable dans l'établissement et le bon fonctionnement des sociétés de termites. Néanmoins, peu de données ont été récoltées sur la nature des phéromones qui entrent en jeu et aucune étude n'a été entreprise à ce sujet sur le termite considéré comme le plus "ancestral": *Mastotermes darwiniensis*. Nous avons montré que ce termite est incapable de tracer des pistes odorantes à effet recruteur comme le font la plupart des termites. Pourtant, nous avons mis en évidence pour la première fois qu'il effectue un marquage chimique de son environnement. Chez ce termite, il n'y a donc pas une véritable phéromone de piste, mais plutôt une phéromone d'environnement qui est élaborée et sécrétée par les glandes sternales.

MOTS-CLES: phéromone de piste, termite, *Mastotermes darwiniensis*

ABSTRACT

Chemical communication is essential for the establishment and the survival of termite colonies. Nevertheless, very little is known on the chemical nature of the compounds used by these insects. In particular, no study has ever been undertaken on the signals used by *Mastotermes darwiniensis*, a species considered as the most "ancestral" in termites. In this study, we have showed that this species, unlike most of the other termites, is unable to lay odorant trails. However, it can use chemicals to mark its environment. In this species, there is therefore no true trail-following pheromone, but rather an environmental pheromone that is produced and secreted by the sternal glands.

KEY WORDS: trail pheromone, termite, *Mastotermes darwiniensis*

INTRODUCTION

Les termites sont des insectes sociaux aveugles. La plupart de leurs activités sont induites, coordonnées et régulées par des phéromones, en particulier pour la récolte de nourriture. En effet, lorsque les ouvriers sortent du nid à la recherche de nourriture, ils déposent une phéromone, appelée phéromone de piste, en frottant leur abdomen sur le sol. Cela leur permet de s'orienter et à leurs congénères de les suivre. Aucune étude sur les phéromones de piste n'a été entreprise jusqu'ici chez *Mastotermes darwiniensis*. Pourtant, ce termite est intéressant à de nombreux points de vue. Chez les termites, la phéromone de piste est produite et sécrétée par la glande sternale située à la face ventrale de l'abdomen (Lüscher & Müller, 1960; Stuart, 1961). Les ouvriers des termites n'ont qu'une glande sternale sauf chez *M. darwiniensis*, qui en possède 3, situées sous les sternites 3, 4 et 5 (Noirot & Noirot-Timothee, 1965). Cela confère un aspect primitif à ce termite. D'autre part, de nombreuses caractéristiques morphologiques et physiologiques rapprochent *M. darwiniensis* des blattes, phylogénétiquement proches des termites. Cette espèce ancestrale apparaît donc primordiale pour comprendre l'évolution de la communication chimique au sein des Isoptères.

Outre cet aspect phylogénétique, *M. darwiniensis* est également intéressant à étudier d'un point de vue écologique. Les termites ont en effet été classés selon leur mode de vie en trois groupes principaux (Abe, 1987). Il existe les espèces dites "one piece" dont les colonies restent dans les morceaux de bois dont elles se nourrissent jusqu'à leur extinction (comme par exemple les *Kaloterms flavicollis*). D'autres espèces sont du type "separate", c'est-à-

dire que les ouvriers doivent sortir de leur nid pour aller récolter de la nourriture. Le rôle de la phéromone de piste est là primordial (c'est le cas par exemple de *Nasutitermes lujae*). *M. darwiniensis* forme un troisième groupe. Ses ouvriers changent de morceau de bois au fur et à mesure que la nourriture vient à manquer. Il s'agit donc d'un type intermédiaire, intéressant à étudier.

Enfin, aux aspects phylogénétique et écologique s'ajoute un intérêt appliqué. Les phéromones peuvent en effet servir dans la lutte biologique pour construire des pièges attractifs contre les espèces nuisibles, et *M. darwiniensis* est reconnu comme une espèce très néfaste en Australie.

MATERIEL ET METHODES

1. Observation du comportement d'exploration du milieu

Une centaine d'ouvriers de *M. darwiniensis* est déposée avec un morceau de bois au milieu d'une enceinte vierge de 80 cm x 50 cm. L'exploration de l'espace est alors observée en lumière rouge. Des observations comparatives ont été faites sur *N. lujae*, termite de type "separate".

2. Tests comportementaux de suivis de piste

2.1 Tests en "champ libre"

Tous les tests sont réalisés dans l'obscurité en lumière rouge à 28°C et 80% d'humidité. On trace sur une feuille de papier filtre de 15 cm de diamètre des pistes en forme de "T" à l'aide de petits trous d'épingle espacés de 1 cm. La base du "T" fait 3 cm de longueur, chaque branche 7 cm. Une arène est placée sur la feuille à la base du "T" et un couvercle transparent recouvre l'ensemble pour éviter les courants d'air (figure 1). 10 µl de l'extrait à tester sont déposés à l'aide d'une seringue Hamilton sur la base du "T" et sur une de ses branches (en alternant à chaque test la branche choisie). Du pentane en contrôle est déposé sur l'autre branche. Le termite est déposé dans l'arène. Une fois sorti, il est libre de circuler sur toute la surface de la feuille de papier filtre. On mesure la distance parcourue sur la piste tracée avec l'extrait. On considère que le seuil d'activité est atteint lorsque la moyenne des distances parcourues est supérieure à 3 cm. 30 individus sont testés successivement à chaque expérience et le papier filtre renouvelé.

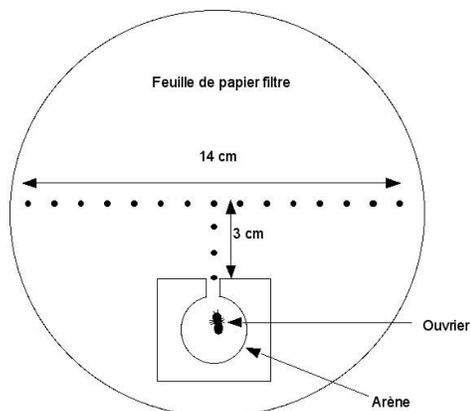


Figure 1: Test de suivi de piste en champ libre

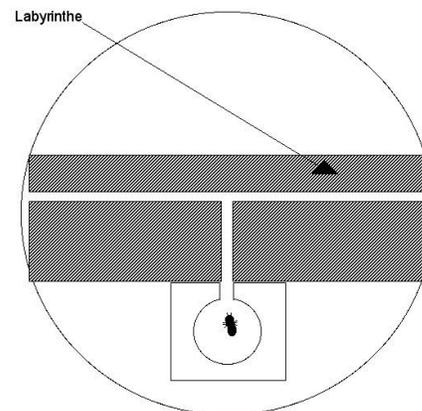


Figure 2: Test de suivi de piste en labyrinthe

2.2 Tests en labyrinthe

Le dispositif expérimental est le même que précédemment excepté l'ajout d'un labyrinthe en forme de "T" et en méthacrylate sur la feuille de papier filtre (figure 2). Contrairement aux expériences en "champ libre", les termites n'ont que deux directions possibles.

Pour 30 individus, la réponse est significative avec une probabilité supérieure à 95 % à partir de 21 individus donnant le même résultat et avec une probabilité supérieure à 99 % à partir de 23 individus d'après le test exact de Fischer.

3. Préparation des extraits

Des extraits d'ouvriers entiers sont préparés à partir de 50 individus. Plongés dans du dichlorométhane, ils sont placés 6 heures à +4°C. Le même protocole est suivi pour des extraits des sternites abdominaux 3, 4 et 5 (où se situent les glandes sternales). Ces derniers sont prélevés sur des ouvriers anesthésiés par le froid.

RESULTATS

1. Comportement d'exploration du milieu

Quelques minutes après avoir été déposés au centre d'une enceinte vierge, les ouvriers de *M. darwiniensis* commencent à quitter leur morceau de bois de façon indépendante. Tout au plus observe-t-on parfois la formation de tandems mais ils ne durent que quelques secondes.

En revanche, l'exploration du même type d'enceinte par des ouvriers de *Nasutitermes lujae* se fait par des files d'individus. Des pistes odorantes sont formées par les premiers individus explorateurs. Les deux espèces de termites manifestent donc un comportement d'exploration du milieu totalement différent.

2. Suivis de piste en "champ libre"

Des pistes artificielles tracées avec des extraits d'ouvriers entiers ont été testées sur des feuilles de papier filtre. Quelle que soit la concentration, pour des extraits préparés dans le pentane, le dichlorométhane ou l'acétone, aucun suivi de piste n'a pu être obtenu avec les ouvriers de *M. darwiniensis*. Dès la sortie de l'arène, l'ouvrier de *M. darwiniensis* s'éloigne de la piste tracée. La distance moyenne parcourue est toujours inférieure à 3 cm, c'est-à-dire au seuil d'activité défini.

Les mêmes expériences réalisées par Laduguie (1993) avec des ouvriers de *N. lujae* montrent en revanche des suivis de piste de l'ordre de 9,6 cm/ 10 cm en moyenne pour des concentrations ne dépassant pas 1/40 de glande sternale pour 10 µl et pour 10 cm.

3. Suivis de piste guidés (tests en labyrinthe) et intensité du marquage

Dans un labyrinthe en "T" dont l'une des branches a été bouchée artificiellement, 20 ouvriers circulent pendant près de 4 heures jusqu'à obtenir 1000 passages. On libère ensuite les branches du "T" et on propose successivement à 30 individus le choix entre les 2 pistes (piste vierge ou piste utilisée précédemment par les ouvriers). Un choix préférentiel est observé pour la piste utilisée préalablement par les ouvriers. Ce résultat montre que les ouvriers déposent sur le substrat lors de leurs déplacements des signaux reconnus par leurs congénères. En revanche, si le labyrinthe est retiré juste à la fin de l'expérience et qu'on propose à nouveau en "champ libre" à des ouvriers la même piste marquée, on n'obtient aucun suivi de piste significatif (la moyenne est de 2,2 cm).

Dans ces conditions expérimentales avec labyrinthe, le seuil d'activité est de 50 passages. En effet, dans 3 tests sur 4 effectués, les termites testés ont choisi de façon préférentielle (22 fois sur 30 en moyenne) la piste où leurs prédécesseurs étaient passés 50 fois. En dessous de 50 passages, aucune réponse n'est obtenue.

Si l'on fait la même expérience avec des ouvriers de *N. lujae*, il suffit que les ouvriers effectuent 10 passages dans un labyrinthe pour qu'ensuite on obtienne en "champ libre" un très bon suivi de piste de l'ordre de 8,5 cm/ 10 cm. D'autre part, ils n'ont besoin que de 5 passages de leurs prédécesseurs pour choisir de façon significative (26 sur 30) la bonne

piste entre les deux proposées dans le cas du labyrinthe. Cette expérience met là encore clairement en évidence la grande différence de comportement entre les deux espèces.

4. Nature du marquage

Un extrait pentanique de 50 ouvriers entiers est déposé sur une feuille de papier filtre au niveau de la base et d'une des branches du labyrinthe en "T". Au niveau de l'autre branche et également de la base du labyrinthe est déposé du pentane en guise de contrôle. 30 termites sont testés successivement avec le labyrinthe en leur donnant le choix entre les deux pistes. La piste imprégnée de l'extrait d'ouvriers est significativement plus choisie que l'autre (28 ouvriers sur 30). Les termites sont donc attirés par une substance chimique sécrétée par les ouvriers.

5. Origine du marquage chimique

Des pistes sont tracées sur une feuille de papier filtre à partir d'extraits de différentes parties du corps des ouvriers dont les sternites abdominaux 3 à 5 (où sont situées les glandes sternales). La partie restante du corps des individus est testée dans l'autre branche du labyrinthe. Vingt-six ouvriers sur 30 suivent de façon significative l'extrait des sternites abdominaux 3 à 5. Cela indique que la source phéromonale est localisée dans les glandes sternales.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Comme nous avons pu le constater lors des expériences d'exploration du milieu, les ouvriers de *M. darwiniensis* montrent un comportement inhabituel chez les termites, en explorant de manière individuelle leur environnement. Leur incapacité à suivre des pistes tracées par leurs congénères en "champ libre" tendraient à faire penser qu'ils n'utilisent pas de repères chimiques lors de leurs déplacements. Pourtant, et pour la première fois, nous avons pu montrer que ce terme effectue un marquage chimique de son environnement grâce aux glandes sternales, situées sous les sternites abdominaux 3, 4 et 5. On ne peut donc pas parler, dans le cas de *M. darwiniensis*, d'une véritable phéromone de piste qui, comme chez la plupart des termites où elle a été étudiée, possède 2 types d'action: un effet de recrutement pour mobiliser les termites sur la piste et un effet d'orientation pour les inciter à la suivre (Traniello, 1982). Dès qu'un ouvrier de *N. lugae* détecte la phéromone de piste de son espèce, il utilise cette piste. Chez *M. darwiniensis*, on n'observe pas du tout ce comportement. Il s'agirait plutôt d'une phéromone permettant à la colonie de marquer son milieu, une sorte de phéromone environnementale ou de phéromone coloniale. On peut aussi faire un rapprochement avec les phéromones grégaires des blattes qui leur permettent de rester groupées dans un milieu donné.

Cette différence fondamentale entre ces deux espèces de termites (*M. darwiniensis* et *N. lugae*) est-elle d'origine phylogénétique ou écologique? Nos connaissances sur la communication chimique chez les termites sont encore trop fragmentaires pour répondre à cette question mais le mode de vie de *M. darwiniensis* peut expliquer ces résultats en partie. En effet, ce terme se nourrit du bois qui lui sert d'habitat. Sa nourriture est donc à proximité directe. Il ne sort jamais en surface à l'air libre. L'utilisation de pistes n'apparaît donc pas totalement indispensable. Lorsque la nourriture finit par manquer, les ouvriers se propagent dans le milieu environnant en le marquant au fur et à mesure de leur avancée, mais dans des galeries souterraines sans créer véritablement des pistes. Il serait intéressant de comparer les résultats obtenus chez *M. darwiniensis* à ceux obtenus chez des espèces au mode de vie comparable mais aussi chez des espèces ancestrales comme les Termopsidae.

REFERENCES

- Abe T. (1987). Evolution of life types in termites. In *Evolution and coadaptation in biotic communities*, S. Kawano, J.H. Connell et T. Hidaka (eds.), University of Tokyo press, 256 pp.
- Lüscher M. & Müller B. (1960). Ein spurbildendes Sekret bei Termiten, *Naturwiss.*, 27, 503.

- Laduguie N. (1993). Pheromones de piste et pheromones sexuelles chez les termites. Thèse de doctorat, Dijon, 112 pp.
- Stuart A.M. (1961). Mechanism of trail-laying in two species of termites. *Nature*, 189, 419.
- Traniello J.F.A. (1982). Recruitment and orientation components in a termite trail pheromone. *Naturwiss.*, 69 S, 343-344.
- Noirot Ch. & Noirot-Timothee C. (1965). La glande sternale dans l'évolution des termites. *Insectes soc.*, XII, 3, 265-272.

ROLE DES ABEILLES DANS MISE EN SUSPENSION DU POLLEN DANS L'AIR ET ET INCIDENCE SUR LA POLLINISATION CHEZ LE COLZA

J. Pierre¹, B. Vaissière², H. Picault³, M. Renard³

¹UMR INRA/ENSAR, Bio 3P, BP 35327, 35653 Le Rheu cedex

²UMR INRA/UAPV Ecologie des invertébrés, 84914 Avignon cedex 9

³UMR Amélioration des Plantes Biotechnologie végétale, BP 35327, 35653 Le Rheu cedex

RÉSUMÉ

Le transfert indirect du pollen par les abeilles, qui résulterait de la mise en suspension du pollen dans l'air sans contact avec les surfaces stigmatiques, a été suggéré plusieurs fois dans la littérature, mais jamais démontré. On sait que le pollen de colza n'est pas pulvérulent et est *a priori* peu adapté au transport aérien. Notre objectif était donc de savoir si les abeilles participent à la mise en suspension de ce pollen et si le pollen ainsi libéré contribue à la pollinisation.

L'expérimentation a été conduite sous 6 cages disposées au champ et semées avec du colza mâle-fertile (MF) et mâle-stérile (MS). Des plantes MS ont été ensachées sous tulle de manière à empêcher la visite des fleurs par les abeilles tout en laissant passer le pollen atmosphérique. Trois cages ont reçu une petite colonie d'abeilles domestiques en début de floraison et 3 autres cages ont servi de témoin sans abeilles. Afin de mesurer la sédimentation du pollen mis en suspension dans l'air, des lames recouvertes de ruban d'adhésif ont été placées horizontalement sous tulle dans les 6 cages et relevées à 7 reprises. L'incidence du pollen mis en suspension sur la fécondation a été mesurée sur des plantes MS sous tulle dans les cages avec ou sans abeilles. L'efficacité pollinisatrice a été évaluée par le taux de nouaison (nombre de siliques formées/nombre initial de fleurs) et le nombre de graines produites par silique.

Les résultats montrent que le nombre de grains de pollen de colza sédimentés a été très supérieur dans les cages avec abeilles et cette quantité a varié en relation avec l'activité de butinage des abeilles. Le pollen ainsi libéré a participé largement à la fécondation puisque le taux de nouaison des plantes MS, déduction faite de l'effet du vent, a été de 17% et le nombre de graines produites a été en moyenne de 4 par silique sans qu'il y ait eu de visite de ces fleurs par les abeilles. Ces résultats mettent en évidence le rôle des abeilles dans la mise en suspension du pollen et l'efficacité pollinisatrice élevée de ce pollen dans nos conditions expérimentales.

INTRODUCTION

Les abeilles sont des agents pollinisateurs bien connus du fait des transferts de pollen qu'elles effectuent entre étamines et stigmates au cours de leur butinage de fleurs en fleurs. A l'exception des espèces à pollinisation vibratile, les espèces végétales dites entomophiles possèdent un pollen peu pulvérulent et donc peu apte à être transporté par le vent. Cependant ce pollen peut souvent être retrouvé en quantités importantes dans l'atmosphère et les mécanismes qui conduisent à la mise en suspension de ce pollen demeurent très mal connus. Ainsi le pollen de colza se détache difficilement des anthères sous l'effet du vent (Eisikowitch, 1981) mais il est retrouvé dans l'atmosphère au dessus de la parcelle (Williams, 1984). Dans la littérature, plusieurs auteurs ont évoqué le rôle des abeilles dans la mise en suspension du pollen dans l'air (Radford et Rhodes, 1978 ; Brantjes, 1981 ; Mamood et Schmidt, 1991 ; Vaissière *et al.*, 1996), mais ce rôle n'a jamais été démontré expérimentalement. L'objectif de cette étude était de vérifier si les abeilles peuvent vraiment jouer ce rôle et si le pollen ainsi dispersé présente une efficacité pollinisatrice.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le colza traditionnel est hermaphrodite et est généralement autogame à 70%. Chez ce colza mâle-fertile (MF), l'effet des abeilles est considéré comme très faible et l'essentiel de la pollinisation résulte d'une autopollinisation passive, principalement par gravité. En revanche,

la présence des abeilles est indispensable pour assurer la production de semences hybrides chez les colzas mâle-stériles (MS) (Mesquida et Renard, 1982 ; Pierre et Renard, 1995 ; Mesquida *et al.*, 1998). C'est pourquoi nous avons choisi d'étudier le rôle des abeilles sur des plantes MS.

Les expérimentations ont été réalisées sous 6 cages insect-proof (3mx3mx2m) disposées en plein champ et semées avec 4 rangs de plantes MF et 2 rangs de plantes MS. Au moment de la floraison, la densité de fleurs MF a été contrôlée de manière à éviter de trop grandes différences dans la production de pollen entre les cages. Dans chaque cage, 5 plantes MS ont été ensachées sous un tulle dont le maillage (2mm) permettait le passage du pollen (30 μ) mais empêchait le contact des abeilles avec les fleurs. Une petite colonie d'abeilles domestiques a été placée dans 3 des cages, choisies au hasard, tandis que les 3 autres cages ont servi de témoins sans abeilles. Durant l'expérimentation, on a mesuré la densité de fleurs MF épanouies et l'activité de butinage des abeilles.

Mesure de la sédimentation du pollen

On a dénombré les grains de pollen de colza déposés sur des lames de microscope (4 par cage) recouvertes de papier adhésif posées horizontalement sur des supports situés à la hauteur des inflorescences et eux-mêmes recouverts de tulle. Des séries successives de lames ont été exposées durant 7 périodes de durée variable en fonction des conditions météorologiques (retrait des lames en cas de pluie).

Mesure de l'efficacité pollinisatrice du pollen mis en suspension par les abeilles

L'efficacité pollinisatrice du pollen mis en suspension dans l'air par les abeilles a été comparée à celle du pollen transporté par le vent et directement par le butinage des abeilles sur les fleurs. Pour ce faire, on a mesuré, en présence ou non d'abeilles, la pollinisation sur les plantes MS ensachées ou non. La pollinisation a été évaluée par le taux de nouaison (nombre de siliques formées/nombre total de fleurs) et le nombre de graines produites par silique.

RESULTATS

Dépôts de pollen

Le nombre de grains de pollen déposés par cm² a été significativement supérieur dans les cages avec abeilles (moyenne des 7 relevés : 97 et 71, respectivement ; $P = 0,0002$ d'après un test de Tukey). Cette différence a été d'autant plus marquée que le vent était modéré (moyenne de deux relevés correspondant à un vent modéré : 38 et 10, respectivement avec et sans abeilles).

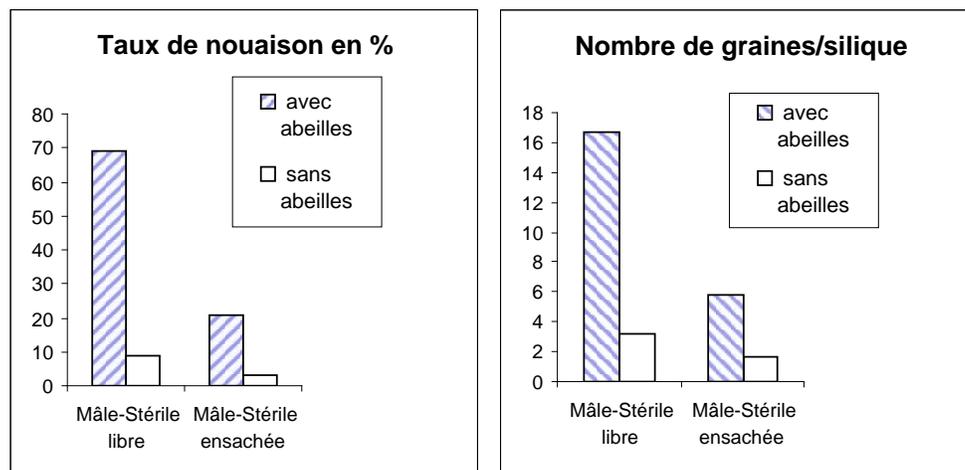
De plus, les dépôts ont varié nettement selon l'activité des abeilles.

	Fleurs mâle-fertiles/m ²	Butineuses/1000 fleurs	Grains de pollen de colza /cm ²
Colonie 1	251	8.9 \pm 1.1	54
Colonie 2	229	15.1 \pm 1.5	141

Efficacité pollinisatrice du pollen mis en suspension dans l'air par les abeilles

Les résultats obtenus sur les plantes MS en pollinisation libre dans les cages témoins ont montré combien le vent seul était insuffisant pour assurer la pollinisation même lorsque les plantes MF étaient à proximité. Les taux de nouaison ont tous été supérieurs dans les cages avec abeilles par rapport aux cages témoins. Le résultat le plus notable est la nouaison des plantes MS ensachées en présence d'abeilles qui a atteint 21% en moyenne contre 3% seulement dans les cages témoins en absence d'abeilles.

L'analyse des données portant sur la production grainière conduit à des conclusions similaires (cf graphiques).



CONCLUSION

Nos résultats démontrent pour la première fois le rôle indirect des abeilles dans la pollinisation par mise en suspension du pollen dans l'air. Ainsi, outre les transferts directs de pollen du fait de leur butinage de fleurs en fleurs, les abeilles jouent également un rôle dans la mise en suspension du pollen dans l'air et plus leur butinage est élevé plus cette mise en suspension est importante. Ce pollen est vraisemblablement libéré du corps des abeilles soit par simple gravité ou lorsqu'elles brossent leur toison en vol. Ce pollen peut ensuite être repris par les flux d'air et se déposer sur les surfaces stigmatiques sans que l'abeille ait eu un contact avec ces surfaces. Le pollen ainsi déposé est fécondant et la part de pollinisation dû à ce type de dépôt n'était pas négligeable dans les conditions de notre essai (surface stigmatique bien exposée du colza MS, essai sous cage). En effet, si l'on déduit l'effet du vent des données recueillies, le taux de nouaison qui résultait de ce mode de transfert était d'environ 17% et le nombre de graines par silique d'environ 4, ce qui représente respectivement 38% et 44% du taux de nouaison et du nombre de graines par silique obtenu par pollinisation directe par les abeilles.

RÉFÉRENCES

- Brandtjes N.B.M., 1981. Nectar and the pollination of bread fruit, *Artocarpus altilis* (Moraceae). *Acta Bot Neerl* 30, 345-352.
- Eisikowitch D., 1981. Some aspects of pollination in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *J. Agric. Sci., Camb.* 96, 321-326.
- Mamood AN, Schmidt J.O, 1991. Pollination and seed set in pearl millet by caged honey bees (Hymenoptera : Apidae). *Bee Science* 1, 151-154.
- Mesquida J., Renard M, 1982. Etude de la dispersion du pollen par le vent et de l'importance de la pollinisation anémophile chez le colza (*Brassica napus* L. var. *oleifera* Metzger). *Apidologie* 13, 353-366.
- Mesquida J., Renard M, Pierre J.S., 1998. Rapeseed (*Brassica napus* L.) productivity : the effect of honeybees (*Apis mellifera* L.) and different pollination conditions in cage and field tests. *Apidologie* 19, 51-72.
- Pierre J., Renard M., 1995. Pollinisation entomophile et production de semences hybrides chez le colza. AMAMSO (ed), 71p.
- Radford B.J., Rhodes J.W., 1978. Effect of honeybee activity on the cross-pollination of male-sterile sunflowers. *Queenlands J. Agric. Anim. Sci.* 35, 153-157.

Vaissière B.E., Rodet G., Cousin M., Botella L., Torre Grossa JP., 1996. Pollination effectiveness of honey bees in a kiwifruit orchard. *J. Econ. Entomol* 89, 453-461.

Williams I.H., 1984. The concentration of airborne rape pollen over a crop of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *J. Agric. Sci, Camb*, 106, 27-30.

DETERMINISME GENETIQUE DU COMPORTEMENT DE DEFENSE CHEZ L'ABEILLE
DOMESTIQUE (*APIS MELLIFERA*, L.).

J.-C. Lenoir¹, M.-H. Pham-Delègue¹, M. Solignac², D. Vautrin², B. Roger¹

¹ Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés.

INRA, La Guillonnerie, BP 23, 91440 Bures sur Yvette.

² Population, Génétique et Evolution.

CNRS, Bât. 13, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex.

INTRODUCTION

L'un des facteurs qui affecte la division du travail chez les abeilles est l'âge : les plus jeunes s'occupant des travaux d'intérieur, les plus âgées devenant butineuses astreintes au ravitaillement de la colonie en nourriture. Cependant, la distribution des différentes tâches à l'intérieur des groupes d'âge se fait aussi en fonction de la prédisposition génétique que peuvent avoir les abeilles. Calderone *et al.* (1989) ont démontré qu'il y avait une différence de génotype entre les butineuses qui récoltent préférentiellement le pollen et celles qui préfèrent le nectar. Il en est de même concernant d'autres comportements comme la garde de l'entrée de la ruche ou le comportement dit hygiénique (nettoyage des cellules de couvain) (Robinson et Page, 1988). La défense de la ruche fait aussi l'objet d'une division du travail et différents types de comportements ont été décrits. Certaines abeilles ont un rôle de gardiennes, elles patrouillent sur la planche d'envol, empêchent les abeilles étrangères à la ruche d'y pénétrer et recrutent leurs congénères si elles détectent une perturbation autour de la ruche. D'autres abeilles ont un rôle de défenseurs actifs de la ruche et vont au contact des agresseurs pour les mettre en fuite. Elles sont nommées soldats par Breed *et al.*, (1990). Pour ces différents comportements, une variabilité génétique a également été démontrée (Breed *et al.*, 1990).

Les recherches conduites sur l'agressivité des abeilles reposent le plus souvent sur un paradigme expérimental qui consiste à agiter une boule ou un panneau en cuir noir devant une ruche. Cette technique permet de quantifier l'intensité des attaques par comptage des aiguillons sur la cible (Guzmán-Nova et Page, 1993 ; Millor *et al.*, 1999). Une autre technique consiste à tester individuellement des abeilles en contention. Elles reçoivent un stimulus nociceptif (faible choc électrique), qui entraîne la sortie de l'aiguillon. L'enregistrement de la réponse à ce stimulus permet de caractériser au niveau individuel les seuils de déclenchement d'une réponse agressive (Balderama *et al.*, 2002, Nuñez *et al.*, 1983, 1998)

Le système de reproduction des abeilles est haplodiploïde. La reine pond des œufs qui peuvent être fécondés ou non. Les œufs fécondés, diploïdes, donneront des femelles, les œufs haploïdes donneront des mâles. Lors du vol nuptial, la reine peut copuler et se faire inséminer par un grand nombre de mâles. Les milliers d'ouvrières qui peuplent une ruche sont donc toutes sœurs (ayant le même père) ou demi-sœurs c'est à dire de pères différents. Cette particularité permet de mettre en évidence des groupes d'individus ayant le même père, aussi appelés fratries. Le déterminisme génétique de certains comportements a notamment été démontré par l'étude des variations entre les fratries (Frumhoff et Baker, 1988 ; Robinson et Page, 1988, 1989).

L'objectif de ce travail est donc de mieux caractériser le comportement de défense testé individuellement sur des abeilles en contention et de déterminer si ce comportement est variable parmi les membres d'une même ruche, notamment en fonction de leur origine paternelle.

MATERIELS ET METHODES

Test du comportement de défense.

Les expérimentations ont été menées sur des abeilles de l'espèce *Apis mellifera* L. âgées de 12 jours qui correspond approximativement à l'âge où les ouvrières sont gardiennes. Le contrôle de l'âge des abeilles est possible en prélevant celles-ci à l'émergence sur un cadre de couvain retiré d'une ruche et placé en étuve.

A l'âge 12 jours, les abeilles sont testées selon un protocole adapté de Núñez *et al.* (1998). Chaque abeille est placée en position dorsale sur une table de contention, une électrode se positionnant entre la tête et le thorax, la seconde se situant au niveau du pétiole. Une lamelle percée d'un trou maintient l'extrémité de l'abdomen et permet de visualiser la sortie de l'aiguillon de l'insecte. Quatre chocs nociceptifs de nature électrique de 4 volts et de deux secondes sont effectués à une minute d'intervalle.

La réponse de l'abeille aux stimulations électriques est alors notée selon le niveau de sortie de l'aiguillon. L'absence de réponse est notée 0, elle est de 0,33 si l'aiguillon sort sur moins de la moitié de sa longueur et de 0,66 si il sort entre la moitié et la totalité de sa longueur. Enfin, la réponse est notée 1 si l'aiguillon sort totalement et que l'insecte découvre ses glandes associées à l'aiguillon.

Mise en évidence des fratries.

Les différentes fratries sont mises en évidence en déterminant les allèles de chaque individus pour les marqueurs moléculaires microsatellites B124, Ap19 et Ap33.

La ruche sélectionnée pour cette étude est composée de 16 fratries.

RESULTATS

Test du comportement de défense.

La réponse moyenne des abeilles décroît au fur et à mesure que les stimulations se succèdent. Cette diminution de la réponse est significative entre la première et les stimulations suivantes.

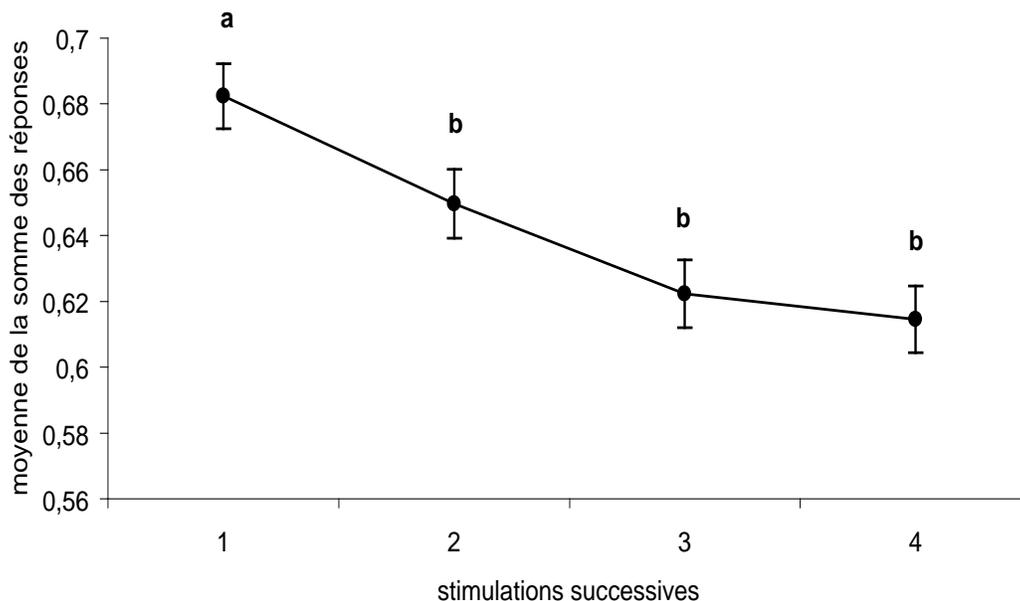


Figure 1 : Moyenne de la somme des réponses (\pm écart à la moyenne) de l'ensemble des abeilles (N=660) au cours des quatre stimulations successives de quatre volts. Un test de Wilcoxon comparant l'ensemble des réponses entre deux stimulations successives indique que les abeilles répondent significativement moins au cours des stimulations.

Déterminisme génétique du comportement de défense

La somme des réponses aux quatre stimulations est prise comme valeur indicative de la réponse de chaque individu. Un test de Kruskal-Wallis appliqué en fonction des différentes fratries révèle qu'il existe une différence significative dans les réponses comportementales. Certaines fratries répondent de façon « faible » comme les fratries 8 et 12 alors que d'autres répondent de façon « forte » (fratries 2, 7, 1, 9, 5, 10 et 15).

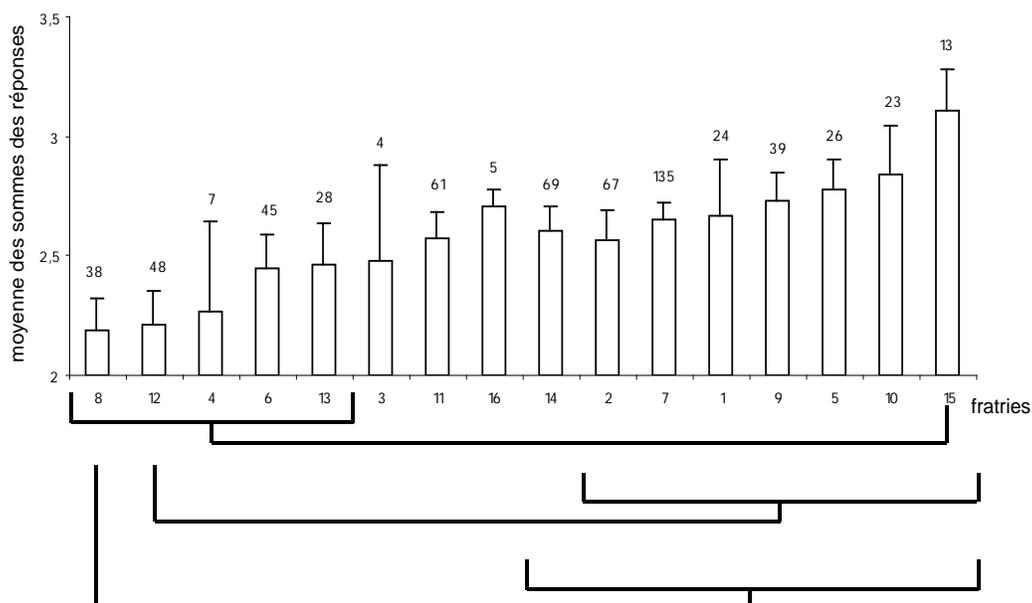


Figure 2 : **Moyenne par fratrie (\pm écart à la moyenne) des sommes des réponses aux quatre stimulations de quatre volts.** Pour tester l'effet « fratrie », un test de Kruskal-Wallis a été effectué sur la somme des réponses de chaque individu. Ce test indique une hétérogénéité des réponses entre les fratries ($P=0.0397$). Afin de définir quelles sont les fratries qui diffèrent, un test de comparaisons multiples des fratries sur la somme des réponses de chaque individu est effectué selon la méthode de Conover (1980). Les différences significatives entre fratries sont figurées sous le graphique. Par exemple, l'ensemble des réponses des individus de la fratrie 15 diffère de celui des fratries 8, 12, 4, 6 et 13 (1^{ère} accolade).

DISCUSSION

Ce travail a permis de définir sur un échantillon représentatif de l'ensemble de la population de la ruche, un seuil de réponses individuel à un stimulus agressif. Cette réponse caractérisée par la sortie de l'aiguillon, est interprétée comme un comportement défensif d'essai de piqûre. Le comportement de défense est souvent évalué en présentant une cible de cuir noir aux individus d'une ruche à qui l'on fait subir une perturbation. Cette technique permet de définir un taux d'agressivité de la colonie et de caractériser les défenseurs en analysant les aiguillons restés plantés dans le cuir. Cependant, le comportement de tous les autres membres de la colonie ne peut être connu par cette méthode. En soumettant chaque abeille à une stimulation nociceptive, c'est le profil complet de la colonie qu'il est possible d'étudier. Ce type de protocole expérimental a précédemment permis de caractériser l'effet de produits tels que la morphine, la naloxone, des peptides de la famille des opiacés (Nuñez *et al*, 1983), ou encore des substances d'alarme telles que l'isopentyl acétate ou le 2-heptanone (Balderama *et al*, 2002) sur le « réflexe d'extension de l'aiguillon ». Ces travaux traitaient les réponses au test de façon binaire : 1 quand la sortie de l'aiguillon est maximum avec visualisation des glandes associées à l'aiguillon, 0 si la réponse est plus faible. Le présent travail s'est proposé de faire une mesure de la réponse plus fine car les abeilles montrent de grandes variations dans leurs réponses à une même stimulation. En effet, dans 70% à 80% des cas les abeilles ne donnent pas une réponse maximale comme décrit

précédemment. De plus, les abeilles qui ne répondent pas du tout sont en faible proportion (2,5% à 4,2% des réponses). Il existe donc un grand nombre de réponses intermédiaires qui méritent d'être prises en compte. Les individus d'une même ruche ont un seuil variable de déclenchement d'une réponse agressive. Une mesure de la réponse avec quatre catégories possible a permis de mieux caractériser ce seuil.

Dans les travaux de Nuñez *et al.* (1983, 1998) et de Balderama *et al.* (2002), les auteurs ont fait varier la tension du stimulus électrique au cours du temps, ne prenant pas en compte un éventuel effet d'habituation ou de fatigue des abeilles testées. Les stimulations successives appliquées dans la présente étude ont été identiques (quatre volts). Les résultats indiquent que la réponse moyenne de l'ensemble des individus décroît en fonction de la répétition des stimulations. Une diminution significative de la réponse est même observée entre la première et les stimulations suivantes. Le stress induit par le stimulus agressif seul pourrait donc être suffisant pour activer un système opioïde endogène induisant une augmentation du seuil de réponse à des stimuli répétés.

De nombreuses études indiquent que certains comportements des individus d'une ruche sont sujet à des variations. L'une des hypothèses pour expliquer ces variations est la prédisposition génétique de certains individus. Robinson et Page (1988) ainsi que Breed *et al.* (1990, 1992) avaient montré l'influence de la variation génétique due à la polyandrie sur l'organisation des différentes tâches effectuées par les abeilles, notamment entre les gardiennes, les soldats (*sensus* Breed *et al.*(1990)) ou les butineuses. De même, Guzmán-Novoa *et al.* (2002) ont récemment mis en évidence le caractère dominant du comportement de défense chez l'abeille.

Les variations individuelles observées pour les réponses au test de sortie de l'aiguillon auraient également une composante génétique. Ainsi, des différences significatives dans les réponses moyennes des différentes fratries ont été montrées ici. Ceci implique un effet génétique pour ce comportement de défense. Cette variation génétique de la sensibilité pourrait s'expliquer par une différence du nombre de récepteurs à une stimulation agressive.

Moore *et al.* (1987) montre que seul un très petit nombre d'individus de la ruche exécute le rôle de gardiennes, et Robinson et Page (1988) ont démontré qu'il y avait un déterminisme génétique lié à l'activité de gardiennage. Cette activité pourrait être réalisée par certaines fratries faiblement représentées. La ruche étudiée se compose de 16 fratries. L'une de ces fratries est très représentée (fratrie n°7 : 20,45%), d'autres sont minoritaires (fratrie n°3, 4 et 16), les autres fratries représentent de 2 à 10% de la population de la ruche. La fratrie qui donne la réponse la plus importantes n'est représentée que par 13 individus sur les 632 (fratrie n°15). Cette fratrie pourrait avoir un rôle majeur dans la tâche de gardiennage de la ruche. L'échantillonnage de gardiennes et de soldats de cette ruche et la détermination de leur paternité est en cours afin de mieux définir si ces comportements sont génétiquement déterminés. Cela permettra également de mettre en relation une division des tâches observées à l'échelle de la colonie et les réponses individuelles d'extension de l'aiguillon.

REFERENCES

- Balderrama, N., J. Nuñez, F. Guerrieri, and M. Giurfa. 2002. Different functions of two alarm substances in the honeybee. *Journal of Comparative Physiology* DOI 10.1007/s00359-002-0321-y.
- Breed, M. D., E. G. Robinson, and R. E. Page. 1990. Division of labor during honey bee colony defense. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 27: 395-401.
- Breed, M. D., T. A. Smith, and A. Torres. 1992. Role of guard honey bees (Hymenoptera : Apidae) in nestmate discrimination and replacement of removed guards. *Annals of the Entomological Society of America* 85 (5): 633-637.
- Calderone, N. W., E. G. Robinson, and R. E. Page. 1989. Genetic structure and division of labor in honeybee societies. *Experimentia* 45: 765-767.

- Frumlhoff, C., and J. Baker. 1988. A genetic component to division of labour within honey bee colonies. *Nature* 333: 358-361.
- Guzmán-Novoa, E., and R. E. Page. 1993. Backcrossing africanized honey bee queens to european drones reduces colony defensive behavior. *Annals of the Entomological Society of America* 86 (3): 352-355.
- Guzmán-Novoa, E., G. J. Hunt, J. L. Uribe, C. Smith, and M. E. Arechavaleta-Velasco. 2002. Confirmation of QTL effects and evidence of genetic dominance of honeybee defensive behavior : Results of colony and individual behavioral assays. *Behavior Genetics* 32 (2): 95-102.
- Millor, J., M. H. Pham-Delègue, J. L. Deneubourg, and S. Camazine. 1999. Self-organised defensive behavior in honeybees. *PNAS* 96 (22): 12611-12615.
- Moore, A. J., M. D. Breed, and M. J. Moor. 1987. The guard honey bee: ontogeny and behavioural variability of workers performing a specialized task. *Animal Behaviour* 35 (4): 1159-1167.
- Nuñez, J., H. Maldonado, A. Miralto, and N. Balderrama. 1983. The stinging response of the honeybee : Effects of morphine, naloxone and some opioid peptides. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 19: 921-924.
- Nuñez, J., L. Almeida, N. Balderrama, and M. Giurfa. 1998. Alarm pheromone induces stress analgesia via an opioid system in the honeybee. *Physiology and Behavior* 63 (1): 75-80.
- Robinson, E. G., and R. E. Page. 1988. Genetic determination of guarding and undertaking in honey-bee colonies. *Nature* 333: 353-358.
- Robinson, E. G., and R. E. Page. 1989. Genetic determination of nectar foraging, pollen foraging, and nest-site scouting in honey bee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 24: 317-323.

ETUDE DES CONSÉQUENCES DU TRAITEMENT "RÉGENT" DES SEMENCES DE TOURNESOL SUR LE COMPORTEMENT DE RÉCOLTE DES ABEILLES

I. Brouard

A.D.A.M. Association de Développement de l'Apiculture en Midi-Pyrénées, 32 avenue du Général de Gaulle 09000 Foix, membre du C.N.D.A.

G.D.S.A. Groupement de Défense Sanitaire Apicole, 10 ch. des capelles 31 300 TOULOUSE

RESUME

Le comportement de récolte de l'abeille domestique sur les fleurs de tournesol a été suivi quotidiennement, comparativement sur une parcelle traitée "régent" et une autre en production biologique. Dans le premier cas, les fréquences des actes de récolte ont été évaluées depuis le premier jour de la floraison sur les premières fleurs de la région. Le comportement se dégrade progressivement au profit d'activités de toilette intensives accompagnées de tremblements et de frisson conduisant parfois à la chute de l'ouvrière. Dans la parcelle biologique, insérée dans un ensemble de champs de tournesol traité "régent" déjà fleuris depuis plusieurs jours, les paramètres comportementaux précédents suivent une variation globale inverse. Ces résultats suggèrent que les ouvrières s'intoxiquent progressivement sur le tournesol traité, alors qu'elles se désintoxiquent sur le biologique.

INTRODUCTION

Dès 1998 un programme d'étude national a été entrepris pour tenter d'évaluer les effets éventuellement causés par d'une part le traitement au « gaucho » et d'autre part, en 1999, l'application du « régent ». Les objectifs étaient d'analyser la toxicité de ces pesticides dont les produits actifs sont respectivement l'imidaclopride et le fipronil ainsi que celle de leurs métabolites.

Les premières études relatives aux effets du « Gaucho » (Decourtye et Pham-Delègue, 1999) ont été menées en 1998 dans des conditions semi-contrôlées et ont porté sur la mortalité et les capacités d'apprentissage olfactif chez des ouvrières. Les conclusions rapportent une mortalité significative pour des concentrations de 8 et 40 ppb ainsi qu'une diminution également significative des performances d'apprentissage (pour des concentrations de 4, 8 et 40 ppb) après 11 jours d'ingestion d'imidaclopride. Dans un rapport d'étude, Kirchner (2000) signale également des effets de doses sublétales d'imidaclopride sur le comportement de récolte et sur la capacité d'orientation des ouvrières d'abeille.

Pour ce qui concerne les recherches sur les effets du traitement au « régent » (Colin et Bonmatin, 1999), des observations de terrain ont mis en évidence une dégradation importante de l'efficacité de butinage et une modification du comportement de récolte : diminution du nombre d'abeilles actives, réduction du temps passé sur l'inflorescence, réduction du nombre de fleurons exploités en 100 secondes et du temps de visite d'un fleuron.

Depuis l'utilisation de ces produits phytosanitaires, les apiculteurs de l'ouest et du sud-ouest de la France ont constaté une chute importante de la production de miel. De plus, en Haute-Garonne et dans le Gers, des observations qualitatives faites en 2000 ont révélé des comportements "anormaux" des ouvrières sur les fleurs de tournesol traité au « régent ». L'objectif de l'étude de 2001, présentée ce jour, était de quantifier ces anomalies.

MATERIEL ET METHODES

La fréquence des comportements réalisés par l'ouvrière sur la fleur de tournesol a été évaluée sur la base du répertoire suivant : récolte de nectar, récolte de pollen, atterrissage, envol, frisson, inactivité, toilette des antennes, toilette des pattes, toilette en vol, toilette généralisé, oscillation et toilette, marche, tombe, envol court.

Trente séquences de récolte ont ainsi été quantifiées quotidiennement depuis le premier jour de la période de floraison du tournesol sur deux parcelles distinctes. La première, traitée

"régent" (suivie durant 19 jours), était la plus précoce de la région. La seconde, en culture biologique (suivie durant 17 jours) était entourée de plusieurs hectares plantés de tournesol traité "régent" fleuri déjà depuis plusieurs jours.

Nous avons tout d'abord calculé la fréquence (nombre d'actes/durée de présence) de chaque acte moteur puis, fait la moyenne quotidienne sur l'ensemble des abeilles, en fonction des jours de floraison. Nous avons ensuite évalué en pourcentage, la fréquence relative quotidienne de chaque acte par rapport à sa valeur maximale enregistrée lors de la campagne d'observation (moyenne des fréquences relatives de l'acte au cours de chaque jour d'observation/fréquence relative de l'acte observée au cours du jour de fréquence maximale x 100).

Pour traiter les résultats, nous avons dans un premier temps testé la normalité des données par un test de Kolmogorov-Smirnov, puis dans un deuxième temps nous avons réalisé un test d'homogénéité des variances. Suite à ces deux tests qui mettent respectivement en évidence des distributions qui ne sont pas du type « normale gaussienne » et des différences dans les variances, nous avons mis utilisé le test de Kruskal-Wallis, suivi d'un test post hoc. Les corrélations entre paramètres ont été évaluées par des régressions linéaires et les comparaisons de fréquence par le test du χ^2 .

RESULTATS

Sur la parcelle traitée "régent".

La durée moyenne de la séquence de récolte diminue significativement ($p < 0,001$, $R^2 = 0,42$), surtout durant les 4 premiers jours, alors que la fréquence des actes correspondants baisse durant les 14 premiers jours, puis remonte jusqu'à J16 avant de chuter à nouveau.

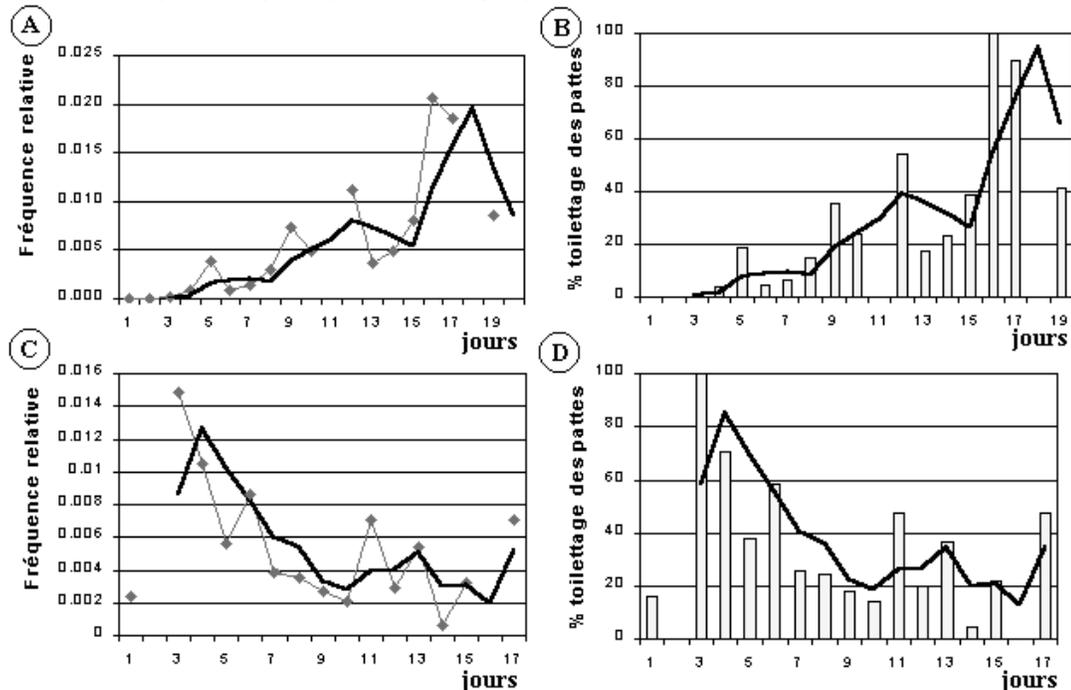


Figure 1 : à titre d'exemple, variation, en fonction des jours de floraison, de l'activité "toilette des pattes", en fréquence relative (à gauche) et en pourcentage de la fréquence journalière maximale (à droite), respectivement dans la parcelle traitée "régent", (A et B) et dans le champ biologique (C et D).

Inversement, pendant la même période, la fréquence des activités non fonctionnelles par rapport à la récolte, très rares le premier jour, augmente significativement, au moins durant les premiers jours : toilette en vol ($p < 0,001$, maximum à J14); toilette des antennes

($p < 0,001$, maximum à J16); toilettage généralisé ($p < 0,001$, maximum à J7, puis diminue jusqu'à J16 avant un nouveau pic à J17); tombe ($p < 0,001$, maximum à J17, puis diminue); frisson ($p = 0,03$, maximum à J19); oscillation ($p < 0,001$, maximum à J17); toilettage des pattes ($p < 0,001$, maximum à J16) (fig.1A et B).

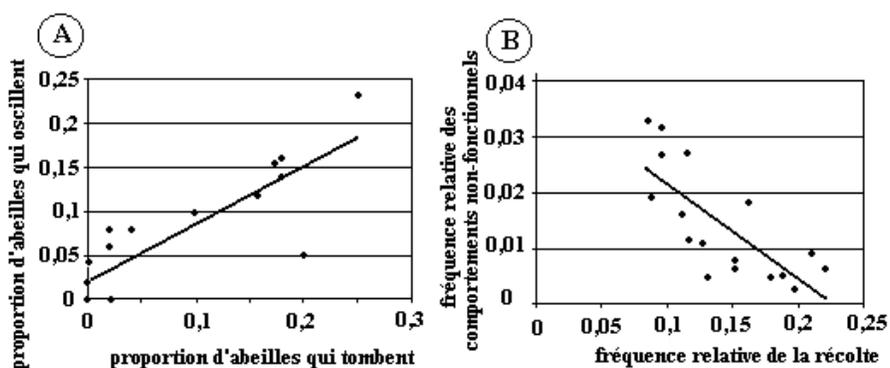


Figure 2 : exemples de régressions linéaires entre paramètres pour les abeilles du champ traité "régent". (A) corrélation positive entre deux paramètres non-fonctionnels pour la récolte : les proportions d'abeilles qui oscillent et qui tombent. (B) corrélation négative entre la fréquence des comportements non-fonctionnels pour la récolte et celle des comportements de récolte.

Tous les comportements précédents, non-fonctionnels par rapport à la récolte, sont positivement corrélés entre eux, deux à deux (fig. 2A), de façon significative (R^2 entre 0,4 et 0,7) et négativement corrélés (R^2 entre 0,4 et 0,6) avec les actes de récolte (fig.2B). La proportion des abeilles qui présentent ces comportements est négativement corrélée ($R^2=0,56$) de façon significative avec celle des abeilles qui récoltent. La proportion d'abeilles présentant des comportements non-fonctionnels augmente tout au long de la floraison (fig. 3A).

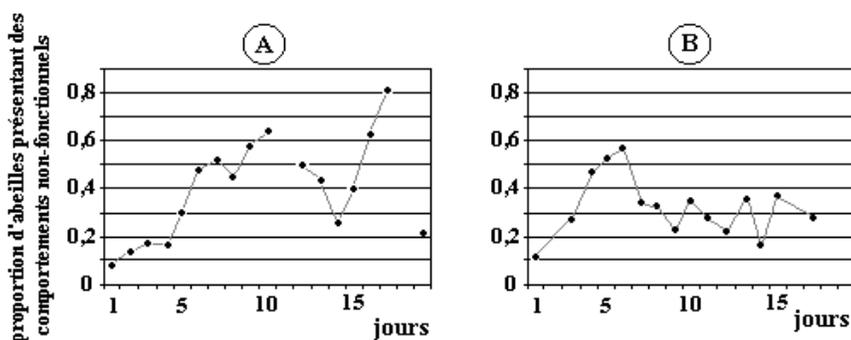


Figure 3 : variation de la proportion d'abeilles présentant des comportements non-fonctionnels (Oscillations, toilettage généralisé, frisson, tombe, inactivité et toilettage pattes) par rapport aux activités de récolte, en fonction du jour de la floraison du tournesol (A) parcelle traitée "régent", (B) parcelle biologique.

Sur la parcelle "biologique".

La fréquence des actes de récolte augmente régulièrement et de façon significative jusqu'à J17 ($p < 0,001$, maximum à J17). Le toilettage en vol s'accroît durant les 4 premiers jours puis oscille de façon non significative durant le reste de la période d'observation (maximum à J13). Le toilettage généralisé est de plus en plus fréquent jusqu'à J5 puis diminue

significativement ensuite ($p < 0,001$, minimum J1 et J17). Le toilettage des antennes diminue significativement sur toute la période d'observation ($p < 0,001$, minimum J10 et J14, maximum J1). L'acte "tombe" varie de façon non-significative avec un pic à J6 et J10. Le comportement frisson augmente jusqu'à J4 puis disparaît ensuite ($p < 0,01$, maximum à J4). Les oscillations augmentent jusqu'à J5 puis diminuent ensuite ($p < 0,001$; maximum à J5). Enfin, le toilettage des pattes augmente jusqu'à J3 puis diminue ensuite ($p < 0,001$; maximum à J3, minimum à J14) (fig. 1C et D) La proportion d'abeilles présentant des activités non-fonctionnelles pour la récolte augmente jusqu'à J6 (où elle atteint la valeur correspondante à J9 pour la parcelle "régent") puis diminue (Fig. 2B).

CONCLUSION

La comparaison des résultats entre deux parcelles, montre que les comportements de récolte varient d'une manière distincte. Pendant la durée de la floraison, la fréquence de récolte augmente dans le champ biologique alors qu'elle diminue dans le champ traité "régent", au moins durant les 13 premiers jours.

Les diverses activités non productives réalisées par les ouvrières sur les fleurs de tournesol, en particulier tous les actes de toilettage, entrent en concurrence avec les activités de récolte. Dans le champ biologique, la fréquence des comportements non-fonctionnels augmentent durant les premiers jours mais ceux-ci disparaissent ensuite. Au contraire, dans la parcelle traitée "régent", les activités qui ne concernent pas la récolte augmentent significativement, même si elles diminuent après J15, en même temps qu'un regain de l'activité de récolte. Ces corrélations suggèrent que l'ensemble des actes non-fonctionnels pourraient représenter la sémiologie d'une intoxication par le traitement du tournesol et expliquerait ainsi la baisse constatée de la production de miel.

L'augmentation paradoxale des activités non-productive lors des premiers jours d'observation dans le champ biologique doit être liée au fait que les ouvrières ont certainement été déjà intoxiquées sur les champs voisins fleuris plus tôt. Si la proportion d'abeilles présentant ces comportement particuliers dans la parcelle biologique diminue ensuite, elle ne revient toutefois pas au niveau de base du premier jour de floraison dans le champ traité "régent". Ceci laisse à penser que certaines ouvrières récoltent aussi sur les champs traités qui fleurissent à quelques mètres de là. Cependant, tout se passerait comme si, à l'échelle des cohortes d'ouvrières, elles s'intoxiqueraient sur la parcelle traitée "régent" alors que la plupart se désintoxiqueraient dans le champ biologique.

REMERCIEMENTS

Ont participé à ce travail : Virginie Marty et Audrey Dussutour qui ont recueilli les données dans le cadre d'une formation suivie à l'U.P.S. à Toulouse, Isabelle Brouard qui le présente, ainsi que Richard Bon, Raymond Campan, Vincent Fourcassié et Denis Sapène.

REFERENCES

- Colin M-E. et Bonmatin J-M. (1999) Enregistrement et analyse des anomalies de butinage constatées en 1999 en Vendée. Règlement CE 1221/97, année 1999, Programme concerté INRA-CNRS-AFSSA.
- Decourtye A. et Pham-Delègue M-H. 2000 Impact de l'imidaclopride et de ses principaux métabolites sur l'abeille domestique *Apis Mellifera* L. : Effets d'expositions chroniques sur la mortalité et l'apprentissage. Action 1999, Mars 2000.
- Kirchner W.H. (2000) The effects of sublethal doses of imidachloprid on the foraging behaviour and orientation ability of honeybees. Study Report.

IMPACT DE TRAITEMENTS PHYTOPHARMACEUTIQUES EFFECTUES EN CONDITIONS SEMI-NATURELLES SUR LES PERFORMANCES D'APPRENTISSAGE OLFACTIF DE BUTINEUSES

A. Decourtye¹, M. Tisseur², J. Gandrey², M.H. Pham-Delègue¹

¹ Laboratoire de Neurobiologie des Invertébrés, INRA, BP23, 91440 Bures/Yvette

² Association de Coordination Technique Agricole, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex 12

INTRODUCTION

La procédure de conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis chez des ouvrières maintenues en contention a précédemment été employée dans le but de mesurer l'impact de pesticides sur le comportement de l'abeille domestique (Taylor *et al.*, 1987 ; Mamood et Waller, 1990 ; Stone *et al.*, 1997 ; Abramson *et al.*, 2000). Mais aucun de ces auteurs n'a cherché à vérifier que les effets comportementaux détectés à l'échelle individuelle pouvaient être confirmés dans des essais de terrain, sur des abeilles en vol libre. Pourtant, une question fondamentale est de savoir dans quelle mesure les essais effectués sur des individus maintenus en contention peuvent permettre d'étudier ou de prédire les effets sublétaux des polluants affectant des butineuses en vol libre.

Aussi, il nous paru nécessaire de confirmer les effets comportementaux de l'imidaclopride précédemment observés au laboratoire (Decourtye *et al.*, 2002) par des essais de terrain (cage de vol) dans lesquels les abeilles sont en vol libre. Une étude parallèle a été conduite avec un autre insecticide, la deltaméthrine, un pyréthrianoïde dont la toxicité létale et sublétale est connue chez l'abeille (Florelli *et al.*, 1987 ; Vandame *et al.*, 1995).

Dans un deuxième temps, nous avons entrepris de tester l'intérêt de la procédure de conditionnement de l'extension du proboscis en tant qu'essai bio-indicateur d'une intoxication sublétale au champ. En d'autres termes nous avons testé la capacité de cet essai biologique à mesurer des effets sublétaux chez des butineuses ayant été préalablement exposées à un produit appliqué dans des conditions proches de l'utilisation agronomique (sous tunnel).

MATERIEL ET METHODES

Expérimentation en cage de vol

Deux colonies d'environ 6000 abeilles (*Apis mellifera ligustica*) ont été introduites dans deux cages de vol extérieures (2,5 × 2,5 m, 2 m de hauteur).

L'évaluation des capacités de discrimination olfactive des butineuses a été permise par l'introduction régulière dans la cage de vol d'un dispositif expérimental fondé sur le principe d'une fleur artificielle (Pham et Masson, 1985). Lors de la phase de conditionnement, les 6 fleurs artificielles du dispositif distribuent une solution sucrée et diffuse une odeur (linalol pur). Grâce à un conditionnement associatif de type opérant, les butineuses identifient l'odeur délivrée par le plateau comme un signal alimentaire. La phase de test consiste à introduire dans la cage de vol un dispositif n'étant pas approvisionné en sirop et ne diffusant du linalol que dans une fleur sur deux. Nous dénombrons alors les abeilles présentes sur les fleurs avec et sans odeur.

La phase de test a été réalisée lors de 3 périodes (6-8 jours) : avec une récompense alimentaire non contaminée (saccharose 500 g/Kg, acétone à 1% v/v) ; avec une récompense alimentaire contaminée soit avec 24 µg/Kg (ppb) d'imidaclopride, soit avec 500 ppb de deltaméthrine ; avec de nouveau une récompense alimentaire non contaminée. A la fin de chaque période, des butineuses ont été prélevées sur le dispositif et ont été soumises à une procédure de conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis.

Expérimentation sous tunnel (d'après la méthode CEB n°129 ; ANPP, 1996)

Les six colonies (*Apis mellifera mellifera*) retenues pour l'expérimentation ont été les plus homogènes possibles et ont été composées d'environ 30 000 ouvrières. Le dispositif expérimental comprend 6 tunnels :

- 3 tunnels témoins avec 4 parcelles de phacélie (*Phacelia tanacetifolia*) pulvérisées à l'eau (385 l/ha).
- 3 tunnels traités avec 4 parcelles de phacélie pulvérisées avec le mélange Decis®Micro (6,25% deltaméthrine) - Sportak®45 CE (450 g/l prochloraze) aux doses respectives de 0,08 kg/ha et 1,33 l/ha. La bouillie est pulvérisée à raison de 385 l/ha.

Chaque tunnel a une surface de 160 m² (20 x 8 m, 3,5 m de hauteur). A l'intérieur, 4 zones d'une surface unitaire de 16 m² (8 x 2 m), sont délimitées et séparées par des allées. Les traitements sont effectués en fin de matinée (vent faible, ciel dégagé) avant la période de pleine activité des butineuses.

Les butineuses ont été prélevées sur les fleurs de phacélie puis soumises à la procédure de conditionnement. Nous avons réalisé 3 prélèvements : 24 h avant le traitement (J₋₁), 2 h après le traitement (J₀) et 24 h après le traitement (J₊₁).

Procédure de conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis

Le réflexe d'extension du proboscis peut être déclenché par l'application d'une solution sucrée sur les antennes, les pièces buccales ou les tarsi. Lorsque cette stimulation (stimulus inconditionnel) est associée à la présence d'un stimulus olfactif (stimulus conditionnel) et que l'on administre un renforcement alimentaire comme récompense, on obtient ultérieurement une extension du proboscis par présentation du stimulus olfactif seul (réponse conditionnée), cela grâce à un conditionnement associatif de type pavlovien (Bitterman *et al.*, 1983). Le nombre de réponses conditionnées d'un insecte est le paramètre mesuré révélant ses capacités d'apprentissage olfactif.

Chaque abeille subit 3 essais de conditionnements (C1, C2, C3) espacés de 15 à 20 minutes. Lors de la phase de test, une abeille est soumise à 5 tests (T1 à T5) espacés de 15 à 20 minutes.

RESULTATS**Expérimentation en cage de vol**

Contrairement à l'imidaclopride, le traitement avec la deltaméthrine a provoqué une augmentation de la mortalité. De plus, les performances d'apprentissage enregistrées d'une part chez les butineuses en vol libre par le dispositif de fleurs artificielles (Fig. 1), et d'autre part chez les butineuses maintenues en contention par le conditionnement de l'extension du proboscis (Fig. 2), révèlent une toxicité sublétales pour l'imidaclopride, mais pas pour la deltaméthrine.

Expérimentation sous tunnel

La procédure de conditionnement de l'extension du proboscis a mis en évidence un effet sublétales chez des butineuses ayant subi un traitement phytosanitaire en conditions semi-contrôlées. Ces effets ont été détectés 2 h après la pulvérisation du mélange Decis®-Sportak® aux doses d'utilisation agricole (Fig. 3).

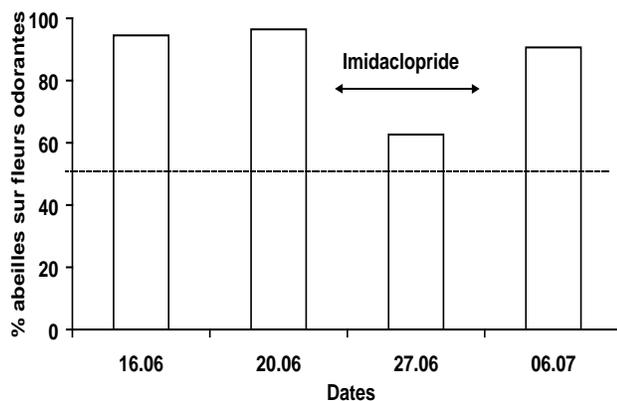


Figure 1 : Performances de discrimination olfactive en cage de vol. La ligne en pointillé indique une distribution théorique aléatoire des butineuses entre les fleurs odorantes et les fleurs non odorantes (50%-50%).

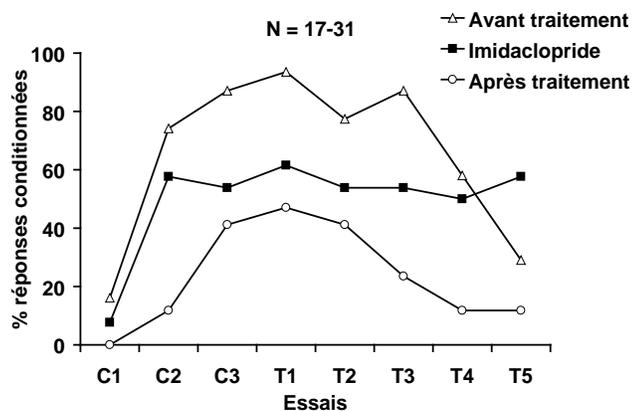


Figure 2 : Performances d'apprentissage des butineuses prélevées en cage de vol. Pendant et après le traitement avec l'imidaclopride, le nombre de réponses conditionnées chez les butineuses est significativement inférieur à celui des butineuses prélevées avant le traitement (test de Khi-deux, 1 ddl, $P < 0,01$).

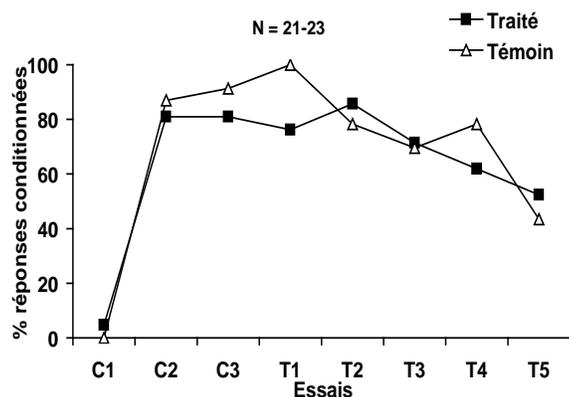


Figure 3 : Performances d'apprentissage 2 h après le traitement Décis®-Sportak® en tunnel (J₀). Pour l'essai T1, le nombre de réponses conditionnées des butineuses provenant des tunnels traités est significativement différent de celui des butineuses provenant des tunnels témoins (test de Khi-deux, 1 ddl, $P < 0,05$).

CONCLUSION

Les réponses observées lors d'un conditionnement olfactif sur abeilles en contention sont corrélées à celles observées lors d'un conditionnement olfactif sur abeilles en vol libre. Ainsi, les effets mesurés par la procédure de conditionnement d'extension du proboscis semblent représentatifs de ceux observés dans des conditions expérimentales plus naturelles.

De plus, la procédure de conditionnement de l'extension du proboscis réalisé en laboratoire semble pouvoir détecter la toxicité sublétales d'un traitement phytosanitaire appliqué selon les conditions agronomiques.

En conclusion, nos résultats indiquent que la procédure de conditionnement de l'extension du proboscis peut présenter un intérêt en tant qu'essai bio-indicateur d'une intoxication sublétales en conditions agronomiques.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été financés en majeure partie dans le cadre d'un programme européen pour l'apiculture coordonné par le Ministère de l'Agriculture.

REFERENCES

- Abramson, C.I., Aquino, I.S., Ramalho, F.S., et J.M. Price. 1999. The effect of insecticides on learning in the Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37:529-535.
- A.N.P.P. 1996. Méthode d'évaluation, sous tunnel en plein air, des effets à court terme des produits phytopharmaceutiques sur l'abeille domestique *Apis mellifera* L. Méthode n° 129. Commission des Essais Biologiques, A.N.P.P., Paris.
- Bitterman, M.E., Menzel, R., Fietz, A., et S. Schäfer. 1983. Classical conditioning proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*). J. Comp. Psychol. 97:107-119.
- Decourtye, A., Lacassie, E., et M.H. Pham-Delègue. 2002. Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. Pest Management Science, accepté.
- Florelli, F., Garnier, P., et L. Roa. 1987. Bilan de 8 années d'expérimentation sur la sélectivité du Décis vis-à-vis des abeilles. La Défense des Végétaux :65-73.
- Mamood, A.N., et G.D. Waller. 1990. Recovery of learning responses by honeybees following a sublethal exposure to permethrin. Physiol. Entomol. 15:55-60.
- Pham, M.H., et C. Masson. 1985. Analyse par conditionnement associatif du mécanisme de la reconnaissance de sources alimentaires par l'abeille. B. Soc. Entomol. Fr. 90:1216-1223.

Stone, J.C., Abramson, C.I., et J.M. Price. 1997. Task-dependent effects of Dicofol (Kelthane) on learning in the honey bee (*Apis mellifera*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58:177-183.

Taylor, K.S., Waller, G.D., et L.A. Crowder. 1987. Impairment of classical conditioned response of the honey bee (*Apis mellifera* L.) by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides. Apidologie 18:243-252.

Vandame, R., Meled, M., Colin, M.E., et L.P. Belzunces. 1995. Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of Deltamethrin. Environmental Toxicology and Chemistry 14:855-860.

STRUCTURE GENETIQUE ET DISPERSION
CHEZ LES FOURMIS SANS REINE DU GENRE *DIACAMMA*

C. Doums

Laboratoire d'Écologie, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai St Bernard, 75005 Paris, France

e-mail: cdoums@snv.jussieu.fr

La structure génétique des populations est une composante importante aussi bien pour permettre une analyse de l'organisation sociogénétique des colonies que pour comprendre l'action des processus évolutifs de sélection et de spéciation. Dans ce travail, nous avons étudié la structure génétique des populations et colonies des fourmis sans reine du genre *Diacamma*. Ces fourmis sont strictement monogynes avec une seule ouvrière reproductrice (la gamergate), mais lors de la mort de la gamergate ou de la fission d'une colonie, une polygynie séquentielle peut être induite (André *et al.*, 2001). Par ailleurs, dans la mesure où seuls les mâles sont ailés, les capacités de dispersion des fourmis pourraient être extrêmement réduites. Deux questions principales ont été posées.

Les capacités de dispersion de ces fourmis sans reines sont-elles réellement limitées quelque soit les caractéristiques biologiques des espèces de *Diacamma* ?

Les divergences comportementales observées entre certaines populations de *Diacamma* sont-elles associées à de fortes divergences génétiques voire à des événements de spéciation ?

Pour répondre à la première question, nous avons travaillé sur deux espèces, *D. cyaneiventre* et *D. indicum* présentes dans le sud de l'Inde et pouvant être trouvées dans les mêmes localités. Cependant, elles diffèrent par leurs traits d'histoire de vie, *D. indicum* ayant des nids superficiels, des petites colonies qui peuvent facilement déménager lors de légères perturbations des nids et une distribution géographique plus large. Pour répondre à la deuxième question, nous avons travaillé sur *D. ceylonense*, qui est similaire en trait d'histoire de vie à *D. cyaneiventre*, mais qui présente quelques populations, *D. «nilgiri»*, caractérisées par la perte du comportement de mutilation qui est à la base de la régulation de la reproduction.

L'utilisation de marqueurs mitochondriaux et nucléaires (microsatellites) nous ont permis de montrer que:

La très forte structuration génétique entre les populations, mêmes distantes de quelques kilomètres, indiquent que les capacités de dispersion par voie femelle mais aussi par la voie mâle sont très réduites chez *D. cyaneiventre* (Doums *et al.*, 2002). De façon surprenante, nous avons observé très peu de variabilité génétique chez *D. indicum* (voir Poster Viginier *et al.*), indiquant probablement une introduction récente de cette espèce en Inde associée à un fort goulot d'étranglement. Malgré l'absence de reine, les capacités de colonisation de *D. indicum* semblent très grandes, vu qu'elle a réussi à coloniser une aire géographique plus large que les autres espèces de *Diacamma*, et ceci après un fort goulot d'étranglement.

La distribution de variabilité génétique chez *D. ceylonense* est similaire à celle observée chez *D. cyaneiventre*. L'ADN mitochondrial a révélé que les populations de *D. «nilgiri»* étaient phylogénétiquement proches des populations de *D. ceylonense*, excepté une population qui était très divergente. Au contraire, au niveau nucléaire, les premiers résultats indiquent que toutes les populations de *D. «nilgiri»* sont très différenciées des populations de *D. cyaneiventre* suggérant un flux de gènes quasiment nul.

En conclusion, la synthèse de nos résultats suggère que la dispersion chez ces espèces sans reine peut être fortement limitée mais que certaines caractéristiques des sociétés

comme une fission fréquente peuvent toutefois permettre de garder des potentialités colonisatrices élevées. Par ailleurs, la forte différenciation génétique peut favoriser la divergence comportementale des populations et mener à terme à des événements de spéciation.

Mots clés : génétique des populations, dispersion différentielle entre les sexes, spéciation, microsatellites, mtDNA, *Diacamma*

Doums C., Cabrera H., Peeters C. 2002. Population genetic structure and male-biased dispersal in the queenless ant *Diacamma cyaneiventre*. *Molecular Ecology* sous presse.

André J-B., Doums C., Peeters C. 2001 Serial polygyny and colony genetic structure in the monogynous queenless ant *Diacamma cyaneiventre*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 50 : 72-80.

STRATEGIES DE DISPERSION ET DE REPRODUCTION
CHEZ LA FOURMI *CATAGLYPHIS CURSOR* : APPROCHE GENETIQUE

J. Clémencet, C. Doums

Laboratoire d'Écologie, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai St Bernard, 75005 Paris,
France

e-mail: cdoums@snv.jussieu.fr

Cataglyphis cursor, est une formicine particulièrement originale pour deux raisons. Tout d'abord, les ouvrières sont capables de produire des femelles par parthénogenèse thélytoque. L'importance de la parthénogenèse des ouvrières dans la nature n'est cependant pas connue et ce mode de reproduction ne semble pas être utilisée par la reine qui est fécondée. Par ailleurs, cette espèce monogyne avec reine ailée ne semble produire des colonies que par fission (Lenoir *et al.*, 1988). La dispersion femelle devrait donc être limitée. L'aire de répartition de *C. cursor* est relativement restreinte (partie nord du bassin méditerranéen) mais deux types d'habitats principaux peuvent être différenciés. Le bord de mer, semble a priori être un milieu beaucoup plus instable car les nids, construits dans un sol sableux, sont moins profonds et probablement facilement inondables lors de la montée de la mer. En revanche, l'intérieur des terres, avec un sol calcaire peut apparaître comme un habitat plus stable. Afin d'évaluer le niveau de variabilité génétique chez cette espèce où la parthénogenèse est possible ainsi que ses capacités de dispersion, nous avons effectué une analyse génétique portant sur 8 marqueurs microsatellites. Quatre populations ont été récoltées dans un milieu sableux et 4 dans un milieu calcaire, afin de comparer la diversité et la structuration génétique des populations entre les deux types d'habitats principaux.

Le niveau de variabilité observé était très élevé avec des taux d'hétérozygotie de l'ordre de 0.76 et aucun écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg n'a été détecté. Ceci confirme le rôle probablement très faible de la parthénogenèse dans la nature. Une très forte différenciation génétique a été observée sur l'ensemble de l'échantillon ($F_{st} = 0.12$) (distance maximale entre populations 80 km). La différenciation génétique observée entre sites au sein d'une même région (<6 km) était plus faible ($F_{st} = 0.06$). Par ailleurs, une corrélation positive significative a été observée entre distance génétique et géographique. Ces valeurs de différenciation sont très élevées et reflètent probablement la faible dispersion par les femelles, due à la fondation par fission, mais également par les mâles qui doivent s'accoupler majoritairement au sein de leur population d'origine. Aucune différence significative de diversité génétique et du niveau de structuration génétique n'a été détectée entre les deux types d'habitats. L'ensemble de ces résultats suggèrent que les populations de *C. cursor* sont stables et probablement à l'équilibre et que les capacités de dispersion de cette espèce sont relativement faibles quelque soit le type d'habitat.

MOTS-CLES : parthénogenèse, fission, microsatellites, isolement par la distance, Formicine

REFERENCES

Lenoir A., Querard L., Pondicq N., Berton F. 1988. Reproduction and dispersal in the ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera, Formicidae). *Psyche* 95 : 21-44.

CONTROLE ROYAL DANS L' ETABLISSEMENT DU SEX RATIO CHEZ LES *FORMICIDAE*.
UTILISATION DU F.I.S.H. COMME NOUVELLE TECHNIQUE
DE DETERMINATION DU SEXE DES OEUFS

L. de Menten¹, H. Niculita², S. Aron¹

¹ Laboratoire de Biologie des Communautés Animales, Université Libre de Bruxelles, Avenue F.D. Roosevelt, 50 - CP160/12, 1050 Bruxelles, Belgique

² Laboratoire d'Evolution et Contraintes génomiques, Centre de Génétique Moléculaire, Bat 26, Centre National de la Recherche Scientifique, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette cedex, France

RESUME

Les asymétries génétiques induites par la détermination du sexe de type haplodiploïde caractéristique des Hyménoptères se répercutent sur les intérêts reproductifs des individus. Chez les fourmis, l'investissement à mettre dans chacun des sexes de la descendance est sous l'influence de deux parties : les reines pondueuses et les ouvrières éleveuses du couvain. Ces deux parties ont des intérêts génétiques qui peuvent différer, au quel cas, elles entrent en conflit quant au sex ratio de la descendance sexuée. En règle générale, le contrôle du sex ratio est attribué aux ouvrières. Cependant, les reines ont également la possibilité de biaiser le sex ratio par la proportion d'œufs haploïdes et diploïdes qu'elles pondent et peuvent forcer les ouvrières à élever un sexe en limitant le nombre d'œufs pondus de l'autre sexe. Afin d'étudier la contribution des reines dans l'établissement du sex ratio des sociétés de fourmis, nous avons mis au point une technique "universelle" permettant de "sexer" efficacement les œufs pondus par les reines chez une majorité d'espèces de fourmis. Cette technique, appelée *Fluorescence in situ Hybridization* (F.I.S.H.), permet la détermination du sexe des œufs à partir du degré de ploïdie de leurs noyaux : un noyau haploïde révélant un spot fluorescent, un noyau diploïde deux spots fluorescents, etc.

INTRODUCTION

La détermination du sexe haplodiploïde caractéristique des Hyménoptères induit des asymétries de parenté ainsi que des conflits entre les individus d'une même société lorsque les intérêts reproducteurs de chacun diffèrent. Chez les fourmis, le conflit le plus manifeste oppose les reines aux ouvrières quant au sex ratio de la descendance sexuée. Globalement, l'investissement relatif dans chaque sexe au niveau de la population semble se trouver entre l'optimum des ouvrières et des reines, suggérant que les deux parties ont au moins un contrôle partiel du sex ratio (Bourke and Franks 1995 ; Crozier and Pamilo 1996). Plusieurs études montrent que le sex ratio primaire est généralement supérieur au sex ratio secondaire, ce qui conforte l'hypothèse selon laquelle les ouvrières manipulent activement le sex ratio en éliminant sélectivement du couvain mâle (Aron *et al.* 1994; Aron *et al.* 1995; Keller *et al.* 1996; Sundström *et al.* 1996; Chapuisat *et al.* 1997). Récemment, des travaux ont montré que les reines de *Solenopsis invicta* peuvent contrôler le sex ratio dans les sociétés monogynes (Passera *et al.* 2001) en limitant le nombre d'œufs diploïdes pondus. Peu d'autres études ont été réalisées sur les variations du sex ratio primaire en fonction des conditions sociales ou écologiques. Ce manque d'études résulte de la difficulté d'estimer la proportion d'œufs haploïdes et diploïdes pondus par les reines. Jusqu'à présent, 2 méthodes ont été utilisées pour sexer les œufs : les caryotypes (Aron *et al.* 1994; Sundström *et al.* 1996) et l'utilisation des marqueurs microsatellites (Chapuisat *et al.* 1997; Passera *et al.* 2001; Hammond *et al.* 2002). Aucune de ces méthodes ne s'avère être totalement satisfaisante : la détermination du sexe des œufs par caryotypes est laborieuse et le nombre de chromosomes doit être connu pour chaque espèce. L'utilisation des marqueurs microsatellites est certainement beaucoup plus efficace mais est coûteuse et les marqueurs doivent être caractérisés pour chaque espèce. De plus, le génotype de la mère et de son partenaire doivent être connus et le père doit avoir un locus différent de celui de la mère pour au moins un allèle afin que les œufs fertilisés apparaissent hétérozygotes pour ce locus.

Pour étudier la contribution des reines dans l'établissement du sex ratio des sociétés, nous avons adapté aux *Formicidae* la méthode de *Fluorescence in situ Hybridization* (F.I.S.H.) afin de mettre au point une technique "universelle" permettant de sexer efficacement les œufs pondus par les reines chez une majorité d'espèce de fourmis. Le F.I.S.H. consiste en l'hybridation d'une séquence d'ADN (sonde), marquée en fluorescence, avec la séquence chromosomique-cible complémentaire (Muleris *et al.* 1996; Stanley 1996).

La sonde que nous avons développée est une séquence génomique de 4,5kpb isolée chez la fourmi *Myrmica rubra* et correspondant au gène homéotique Abdominal-A lequel code pour la formation du premier segment abdominal chez tous les insectes. Ce gène est unique dans le génome des insectes et est conservé au minimum à 80% entre les différentes sous-familles de fourmis.

MATERIEL ET METHODES

Le gène Abdominal-A a été isolé chez *Myrmica rubra* et cloné par PCR puis séquencé. La sonde utilisée pour notre application du F.I.S.H. aux fourmis correspond aux deux premiers exons et au premier intron du gène. La conservation des séquences a été testée entre 10 espèces appartenant à 8 sous-familles de *Formicidae*: Myrmicinae, Dolichoderinae, Formicinae, Dorylinae, Ecitoninae, Leptanillinae, Myrmecinae et Ponerinae. La sonde a ensuite été marquée en indirect par le nucléotide modifié avec la biotine, 16-dUTP, par le procédé de *nick-translation*.

Notre protocole de F.I.S.H. est une modification du protocole standard utilisé dans les laboratoires de cytogénétique humaine (Knoll & Lichter 1994). Le signal d'hybridation est détecté grâce à des couches successives d'anticorps fluorescents, l'avidine conjuguée au fluorochrome FITC (fluorescéine isothianocyanate) ainsi qu'un anti-avidine biotinylée. L'ADN nucléaire sera coloré par le DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) qui se fixe spécifiquement aux bases A et T de l'ADN. Le marquage en indirect avec utilisation d'anticorps fluorescents permet l'amplification du signal fluorescent qui sera observé avec un microscope à épifluorescence. Les spots fluorescents se verront en vert et les noyaux en bleu. Le FISH a été testé sur les œufs de 15 espèces appartenant à 4 sous-familles de *Formicidae* : Myrmicinae, Dolichoderinae, Formicinae et Ponerinae. Ces 15 espèces sont différentes des 10 espèces testant la conservation de la séquence-sonde afin de compléter les données de cross-hybridation.

La détermination du sexe du couvain repose sur l'analyse du niveau de ploïdie de certains noyaux, avec un noyau haploïde révélant un seul spot fluorescent, un noyau diploïde, deux spots fluorescents, un triploïde trois spots et ainsi de suite. La proportion de noyau contenant un seul spot est estimée pour chaque œuf et est utilisée comme la variable principale pour différencier les œufs mâles des œufs femelles.

Pour la mise au point de la technique, nous avons utilisé des œufs de sexe connu, les œufs haploïdes proviennent d'œufs pondus par des ouvrières ou des gynes tandis que les œufs diploïdes proviennent d'œufs pondus par des reines fondatrices ou des reines hors de la période de production des sexués.

RESULTATS

Une seule copie du gène Abdominal-A a été trouvée chez les 10 espèces de fourmis testées. L'alignement nucléotidique montre un taux de similarité extrêmement élevé entre les gènes Abd-A venant des ces 10 espèces très divergentes. La sonde de 4,5kpb est conservée à 80% en moyenne entre les différentes sous-familles de *Formicidae*. D'ailleurs, la cross-hybridation sur les 15 autres espèces montre que notre sonde s'hybride avec succès avec celles-ci.

La méthode du F.I.S.H. apparaît très efficace pour déterminer le sexe des œufs. Nos données indiquent l'absence de recouvrement dans la distribution de la proportion de noyaux à 1spot entre les œufs haploïdes et diploïdes, les œufs femelles ayant toujours une proportion inférieure à 0,5 et les œufs mâles une proportion supérieure à 0,5. La proportion moyenne de noyaux à 1spot est de 0,16 dans un œuf femelle et de 0,71 dans un œuf mâle. Une estimation par le modèle binomial montre pour 10 noyaux observés, la probabilité d'erreur est de 1,4% pour un œuf femelle et de 3% pour un œuf mâle.

De plus, il n'y a pas de différence dans la proportion de noyaux à 1spot en fonction de la sous-famille (ANOVA à 2 facteurs, 1^{er} facteur : sexe, $p < 0.001$; 2^d facteur : sous-famille, $p = 0.426$; interaction sexe*sous-famille, $p = 0.233$).

L'hybridation ne correspond pas toujours avec le niveau de ploïdie attendu. Par exemple, un œuf haploïde peut révéler des noyaux contenant plus d'un spot et similairement un œuf diploïde peut révéler des noyaux contenant un seul spot ou plus de 2 spots fluorescents. De telles déviations peuvent résulter de plusieurs causes : (1) les œufs sont des embryons en développement, donc riches en mitoses. Au moment de la division cellulaire, un embryon haploïde apparaîtra diploïde et un embryon diploïde apparaîtra tétraploïde. (2) Les chromosomes ne se répliquent pas tous en même temps, il se peut qu'un allèle soit répliqué mais pas encore le second lors de l'hybridation, ce qui amène à des noyaux $3n$ chez un embryon diploïde. (3) L'hybridation ne se fait pas toujours à 100% dans tous les noyaux, elle varie en fonction de la phase cellulaire ainsi que de l'accessibilité du gène pour la sonde dû à la conformation tridimensionnelle de l'ADN.

CONCLUSION

Le FISH permet donc de sexer les œufs avec une efficacité supérieure aux caryotypes et, grâce à la sonde unique et conservée chez les fourmis, son avantage ultime est son application directe sur une majorité des espèces de fourmis.

REMERCIEMENTS

Nous remercions les personnes qui nous ont fourni les échantillons utilisés dans ce travail.

Ce travail est supporté par le "Fonds pour la Formation à la Recherche dans l'industrie et dans l'agriculture" (F.R.I.A.) pour L. de Menten, la "Fondation Nationale pour la Recherche Scientifique" (F.N.R.S.) pour S. Aron, l' "Association pour la Recherche contre le Cancer" (A.R.C.) et le "Centre National de la Recherche Scientifique" (C.N.R.S.) pour H. Niculita.

REFERENCES

- Aron S., Passera L. & Keller L. (1994). Queen-worker conflict over sex ratio: a comparison of primary and secondary sex ratios in the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis*. *J. Evol. Biol.*, 7: 403-418
- Aron S., Vargo E.L., Passera L. (1995). Primary and secondary sex ratios in monogyne colonies of the fire ant. *Animal Behaviour*, 49: 749-757
- Keller L, Aron S, Passera L (1996) Internest sex ratio variation and male brood survival in the ant *Pheidole pallidula*. *Behavioral Ecology*, 7 (3): 292-298
- Sundström L, Chapuisat M & Keller L (1996) Conditional manipulation of sex ratios by ant workers: a test of kin selection theory. *Science*, 274: 993-995
- Chapuisat M., Sundström L. & Keller L. (1997). Sex-ratio regulation: the economics of fratricide in ants. *Proceedings of Royal Society of London Serie B*, 264: 1255-1260
- Passera L, Aron S, Vargo L & Keller L (2001) Queen control of sex ratio in Fire Ants. *Science*, 293: 1308-1310
- Muleris M, Richard F, Apiou F, Dutrillaux B (1996) *Hybridation in situ en cytogénétique moléculaire. Principes et techniques*. Tec & Doc Lavoisier. Ed Médicales Internationales. Collection Génie Génétique G2. 180pp.

Stanley K (1996) Chromosomes: Molecular systematics. Principles and comparison of methods. In Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. (eds). *Molecular systematics*. Sunderland, MA: Sinauer Associates. Second edition, pp134-166

Knoll JHM & Lichter P (1994) In situ hybridization to metaphase chromosomes and interphase nuclei. Unit 4.3. In Dracopoli N.C., Haines J.L., Korf B.R., moir D.T., Monton C.C., Seidman C.E., Seidman J.G., Smith D.R. (eds): *Current Protocols in Human genetics*. Vol 1. New York, Greene-Wiley.

Bourke A.F.G. & Franks N.R. (1995). *Social Evolution in Ants*. (Princeton: Princeton University Press), 529 pp

Crozier R.H. & Pamilo P. (1996). *Evolution of Social Insect Colonies: Sex Allocation and Kin Selection*. (Oxford : Oxford University Press). 306 pp

CONFLIT REINE-OUVRIERES CHEZ LA FOURMI *PHEIDOLE PALLIDULA*:
INFLUENCES GENETIQUES ET ECOLOGIQUES SUR LA SEX-RATIO DES SOCIETES

D. Fournier, S. Aron

Département de Biologie animale, Unité des Communautés animales, Université Libre de Bruxelles, CP 160/12, Avenue F.D. Roosevelt, 50, B-1050 Bruxelles, Belgique
Tel: +32 (0)2 650.22.67, Fax: +32 (0)2 650.24.45, e-mail: Denis.Fournier@ulb.ac.be

RESUME

Les sociétés de la fourmi méditerranéenne *Pheidole pallidula* présentent une spécialisation sexuelle : 85% des sociétés échantillonnées produisent plus de 80% de sexués du même sexe [13 sociétés (50%) produisent plus de 80% de mâles et 9 (34.6%) produisent plus de 80% de sexués femelles]. Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer une telle spécialisation sexuelle. Nos résultats montrent que la spécialisation observée chez *P. pallidula* est influencée à la fois par des facteurs génétiques (le nombre de reines présentes dans la société) et écologiques (l'abondance des ressources).

INTRODUCTION

Les sociétés d'Hyménoptères sociaux peuvent être le siège de conflits reproductifs entre reine(s) et ouvrières, chacune de ces deux parties ayant des intérêts génétiques différents. En combinant les théories de la sex-ratio (1) et de la sélection de parentèle (2), Trivers et Hare (3) ont été les premiers à prédire un conflit potentiel entre la reine et ses filles quant à la proportion optimale de sexués mâles et femelles dans la descendance. Ce conflit dérive directement des asymétries de parenté au sein des sociétés (3), mais plusieurs autres facteurs, comme l'abondance des ressources, peuvent agir conjointement sur la sex-ratio des sociétés (4, 5).

Asymétries de parenté

Le déterminisme du sexe haplo-diploïde des Hyménoptères (les femelles se développent à partir d'ovules fertilisés et diploïdes ; les mâles à partir d'ovules non fertilisés, haploïdes) crée des asymétries de parenté au sein des sociétés. En situation de monogynie (une seule reine par société) et monandrie (un seul accouplement par reine), les femelles partagent trois fois plus de gènes avec leurs sœurs ($r = 3/4$) qu'avec leurs frères ($r = 1/4$). Les ouvrières, qui ne se reproduisent généralement pas, peuvent donc maximiser leur succès reproductif indirect en investissant trois fois plus d'énergie dans la production de sexués femelles que de mâles. La reine, par contre, est sélectionnée pour favoriser un investissement de 1:1 car elle est apparentée de façon équivalente à ses filles et fils ($r = 0.5$).

Les études sur l'extrême spécialisation sexuelle des sociétés, certaines produisant principalement des mâles et d'autres principalement des femelles reproductrices, ont montré que le conflit reine-ouvrières est fréquemment remporté par les ouvrières (4-6, mais voir 7). Selon l'hypothèse des asymétries génétiques (8, 9), les ouvrières évalueraient leur apparentement au couvain qu'elles élèvent et ajusteraient la sex-ratio selon leur propre intérêt génétique : en élevant des femelles dans les sociétés aux fortes asymétries de parenté, ou en élevant des mâles dans les sociétés aux faibles asymétries de parenté, comparativement aux asymétries estimées à l'échelle de la population. Ces asymétries de parenté varient entre sociétés en fonction du nombre de reproducteurs (le nombre de reines et leur fréquence d'accouplements), de leur parenté et de leur contribution relative. Cependant, chez plusieurs espèces de fourmis, la spécialisation sexuelle n'est pas associée aux asymétries de parenté, indiquant que d'autres facteurs peuvent influencer la sex-ratio (4, 5). Parmi ceux-ci, la disponibilité des ressources alimentaires peut jouer un rôle considérable.

Disponibilité des ressources

La disponibilité des ressources a un effet proximal sur la sex-ratio, car elle affecte la détermination des castes de la descendance diploïde (10, 11). Lorsque les apports énergétiques sont limités (de par un faible nombre d'ouvrières et/ou des variations spatio-temporelles des ressources), les sociétés engendrent des mâles et des ouvrières, peu coûteux à produire, plutôt que des femelles reproductrices ; lorsque les ressources sont abondantes, les sociétés investissent dans les deux sexes de la descendance tout en favorisant l'investissement dans le sexe femelle. Par conséquent, les sociétés de faible effectif, plus sensibles à la pénurie, sont supposées avoir une sex-ratio davantage biaisée en faveur du sexe mâle que les sociétés d'effectif plus important (10, 12).

Notre étude porte sur la sex-ratio des sociétés de la fourmi monandre mais facultativement polygyne, *Pheidole pallidula* (13). Nos résultats montrent que la spécialisation sexuelle des sociétés de *P. pallidula* résulte de l'interaction entre des facteurs génétiques et écologiques.

METHODES

26 sociétés de *P. pallidula* ont été échantillonnées les 29 juin et 1er juillet 1999 dans une population facultativement polygyne située dans le Tarn-et-Garonne (France). 1277 mâles, 577 femelles ailées et un grand nombre d'ouvrières ont été récoltés et conservés à -20°C .

Sex-ratio des sociétés

La sex-ratio numérique a été estimée dans chaque société comme la proportion de femelles ailées parmi les sexués. Nous avons classifié comme « sociétés à mâles » celles produisant plus de 80% de mâles et comme « sociétés à femelles » celles produisant plus de 80% de sexués femelles. L'investissement proportionnel en sexués femelles a été déterminé pour chaque société (i) en pondérant les nombres de sexués mâles et femelles par leur poids sec respectif, et (ii) en tenant compte du fait que les mâles ont un taux métabolique plus élevé que les femelles (14).

Asymétries de parenté, structure socio-génétique et sex-ratio des sociétés

Les coefficients de parenté sont estimés dans chaque société à partir des fréquences des génotypes obtenus sur la base de 4 marqueurs microsatellites de l'ADN (13). Les asymétries de parenté pour chaque société sont calculées par le rapport $(\square f.rwf)/(\square m.rwm)$ où $\square f$ et $\square m$ sont les valeurs reproductives des femelles et des mâles, et rwf et rwm les coefficients de parenté entre les ouvrières et les sexués femelles et mâles, respectivement.

Nous avons également testé une éventuelle relation entre la structure socio-génétique des sociétés (monogynes ou polygyne avec reines apparentées ou non) et la sex-ratio.

Disponibilité des ressources et sex-ratio des sociétés

L'hypothèse de l'abondance des ressources prévoit une corrélation positive entre la productivité totale en sexués et l'investissement proportionnel en femelles. Nous avons testé l'existence d'une telle relation afin d'estimer l'influence de la disponibilité des ressources sur la sex-ratio des sociétés.

RESULTATS

Sex-ratio des sociétés

La sex-ratio des sociétés suit une distribution bimodale : 22 (85%) des 26 sociétés échantillonnées produisent plus de 80% de sexués du même sexe [13 sociétés (50%) sont à mâles et 9 (34.6%) sont à femelles]. Pour l'ensemble des 26 sociétés, la sex-ratio numérique est égale à 0.45 ; l'investissement proportionnel en femelles est égal à 0.64, ce qui correspond à un rapport femelle:mâle de 1.8:1, une valeur intermédiaire à celle attendue sous contrôle royal (1:1) ou sous contrôle ouvrières (3:1).

Asymétries de parenté, structure socio-génétique et sex-ratio des sociétés

L'apparement des ouvrières envers les sexués mâles et femelles est plus grand dans les sociétés à mâles que dans les sociétés à femelles. Les asymétries de parenté sont plus grandes dans les sociétés à femelles ($RA = 3.75$) que dans les sociétés à mâles ($RA = 2.34$), mais cette différence est non-significative (Mann-Whitney U-test, $z = -1.470$, $P = 0.142$).

Par ailleurs, les sociétés monogynes tendent à se spécialiser dans la production de mâles alors que les sociétés polygynes tendent à se spécialiser dans la production de sexués femelles : 12 des 13 sociétés à mâles sont monogynes et toutes les sociétés à femelles sont polygynes (Fisher's exact test of independence, $P < 0.0001$).

Disponibilité des ressources et sex-ratio des sociétés

La productivité totale en sexués des sociétés à femelles (moy. \pm s.d. = $329.13 \text{ mg} \pm 182.76$, $n = 9$) est significativement supérieure à celle observée dans les sociétés à mâles ($86.82 \text{ mg} \pm 135.69$, $n = 13$) (Mann-Whitney U-test, $z = -3.372$, $P = 0.0007$). De plus, l'investissement proportionnel en femelles est positivement corrélé à la productivité totale en sexués (Spearman rank correlation, $r_s = 0.772$, $n = 26$, $P = 0.0001$).

DISCUSSION

Les sociétés de la fourmi *P. pallidula* sont caractérisées par une forte spécialisation sexuelle. Nos résultats montrent que cette spécialisation est intimement liée à la structure socio-génétique : les sociétés monogynes produisent des mâles alors que les sociétés polygynes produisent des sexués femelles. En outre, cette spécialisation semble également influencée par des facteurs écologiques comme la disponibilité des ressources. Parce que les sociétés monogynes sont plus petites et vraisemblablement plus sensibles à la pénurie alimentaire que les sociétés polygynes, la structure socio-génétique et la disponibilité des ressources sont probablement étroitement liées chez cette espèce.

D'autres hypothèses, non exclusives, ont été proposées pour expliquer la spécialisation sexuelle des sociétés chez les Hyménoptères.

La dispersion des sexués peut induire une compétition locale pour l'accès à la reproduction ou aux ressources entre individus apparentés de même sexe. Ce type de compétition réduit le succès reproducteur des individus en compétition et favorise un investissement énergétique dans les individus de sexe opposé. Les hypothèses de compétition entre femelles apparentées (local resource competition, 15) ou entre mâles apparentés (local mate competition, 16) prévoient que les sociétés investissent une quantité constante de ressources dans les deux sexes, puis uniquement dans un des deux sexes. Cette prédiction ne se vérifie pas chez *P. pallidula* où une large part des sociétés (46%) ne produisent que des sexués d'un même sexe.

D'après l'hypothèse du réapprovisionnement en reines (17, 18), les sociétés avec un nombre trop limité de reines pour assurer leur productivité, voire leur survie, sont supposées recomposer leur stock de reines en produisant de nouveaux sexués femelles qui seront ensuite recrutés comme nouvelles reines. Par conséquent, les sociétés avec un faible nombre de reines (c'est-à-dire une forte productivité par reine) devraient produire une sex-ratio davantage biaisée en faveur du sexe femelle. La spécialisation sexuelle des sociétés observée chez *P. pallidula* ne peut s'expliquer par cette hypothèse, d'une part parce qu'aucune association entre productivité par reine et sex-ratio n'a pu être mise en évidence, et d'autre part parce que les sociétés monogynes produisent des mâles et les sociétés polygynes des sexués femelles.

Enfin, les reines peuvent contrôler la sex-ratio secondaire des sociétés et obliger les ouvrières à élever des mâles en limitant le nombre d'œufs diploïdes qu'elles pondent (7). Mais il a été démontré que les reines de *P. pallidula* des sociétés à mâles et des sociétés à

femelles pondent une proportion similaire d'œufs haploïdes (19), rendant improbable un contrôle royal de la sex-ratio *via* la sex-ratio primaire.

CONCLUSION

Cette étude démontre que la spécialisation sexuelle des sociétés de *P. pallidula* est influencée à la fois par la structure génétique monogyne ou polygyne des sociétés et par la disponibilité des ressources. La relation exacte entre ces deux paramètres et leur influence respective sur la sex-ratio restent à approfondir.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par le Fonds National de la Recherche Scientifique, l'Université Libre de Bruxelles, la Fondation Van Buuren, la Fondation E. Defay et la Fondation de Meurs-François.

REFERENCES

1. Fisher, R. A. (1930) The genetical theory of Natural selection (Clarendon, Oxford).
2. Hamilton, W. D. (1964) *Journal of Theoretical Biology* 7, 1-52.
3. Trivers, R. L. & Hare, H. (1976) *Science* 191, 249-263.
4. Bourke, A. F. G. & Franks, N. R. (1995) *Social Evolution in Ants* (Princeton University Press, Princeton, NJ).
5. Crozier, R. H. & Pamilo, P. (1996) *Evolution of social insect colonies: sex allocation and kin selection* (Oxford University Press, Oxford).
6. Chapuisat, M. & Keller, L. (1999) *Heredity* 82, 473-478.
7. Passera, L., Aron, S., Vargo, E. L. & Keller, L. (2001) *Science* 293, 1308-1310.
8. Boomsma, J. J. & Grafen, A. (1990) *Evolution* 44, 1026-1034.
9. Boomsma, J. J. & Grafen, A. (1991) *Journal of Evolutionary Biology* 3, 383-407.
10. Nonacs, P. (1986) *Evolution* 40, 199-204.
11. Rosenheim, J. A., Nonacs, P. & Mangel, M. (1996) *American Naturalist* 148, 501-535.
12. Crozier, R. H. & Pamilo, P. (1992) in *Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites*, eds. Wrensch, D. L. & Ebbert, M. A. (Chapman and Hall, New York), pp. 369-383.
13. Fournier, D., Aron, S. & Milinkovitch, M. C. (in press) *Molecular Ecology*.
14. Boomsma, J. J., Keller, L. & Nielsen, M. G. (1995) *Functional Ecology* 9, 743-753.
15. Hamilton, W. D. (1967) *Science* 156, 477-488.
16. Clark, A. B. (1978) *Science* 201, 163-165.
17. Brown, W. D. & Keller, L. (2000) *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 267, 1751-1757.
18. Brown, W. D. & Keller, L. (2002) *Ecology Letters* 5, 102-109.
19. Keller, L., Aron, S. & Passera, L. (1996) *Behavioral Ecology* 7, 292-298.

COMPORTEMENT DEFENSIF CHEZ LE TERMITE DE BOIS SEC
CRYPTOTERMES SECUNDUS: ROLE DES SOLDATS

E. A. Roux, J. Korb

Biologie 1, Universitaet Regensburg, Universitaetsstrasse 31, 93040 Regensburg, Germany.
Tel: +49 941 943 2154, Fax: +49 941 943 3304

RESUME

Les colonies de termites de bois sec, les Kalotermitidae, passent leur vie à l'intérieur d'un même et unique morceau de bois. La proportion des soldats de ces colonies est faible (2%) comparée à celle des termites qui fourragent à l'extérieur. Chez *Cryptotermes secundus* les soldats sont caractérisés par de courtes mandibules et un front extrêmement plat avec lequel ils peuvent interdire l'accès de leurs galeries.

Nous avons confronté des colonies entières à deux types d'intrus présents dans leur mangrove d'origine : une larve de coléoptère commune et une autre colonie de *C. secundus*. Les soldats se comportent différemment en fonction de la caste avec laquelle ils interagissent. Les interactions avec les reproducteurs sont particulièrement nombreuses.

Dans les deux cas les soldats se sont mobilisés et ont pleinement participé à la défense de la colonie. Ils font toutefois partie d'une réponse collective où les ouvriers âgés et les nymphes jouent un rôle important.

INTRODUCTION

Comprendre l'évolution de la caste des soldats chez les termites est un pari difficile car tous les isoptères sont eusociaux. Au cours de l'évolution des isoptères cette caste est apparue une seule fois et seules quelques espèces l'ont perdue secondairement (Noirot and Pasteels 1987). Les soldats sont stériles et diffèrent des ouvriers ou des pseudergates par une morphologie et un comportement spécifique qui n'a pas d'équivalent chez les autres insectes sociaux (Lefeuve and Bordereau 1984). En cherchant à saisir la raison d'être de cette caste, nous espérons mettre à jour les facteurs qui l'ont maintenue jusqu'à présent.

Les soldats sont supposés défendre et c'est ce que l'on peut constater chez les termites supérieurs (Mill 1983; Noirot and Darlington 2000). Leur rôle semble moins évident chez les espèces dites primitives qui vivent dans le bois et ne sortent jamais fourrager à l'extérieur (one-piece life type, Abe 1987). Peu de prédateurs peuvent atteindre de telles colonies et de fait, la proportion de soldats est plus faible que chez les termites fourrageurs (Haverty 1977). Le terme *Cryptotermes secundus* fait partie des termites inférieurs, il vit dans le bois sec et ne possède pas de vrais ouvriers stériles mais des pseudergates qui peuvent se développer en adultes reproducteurs (Mais pour la facilité d'écriture nous continuerons d'utiliser le terme ouvrier). Les soldats n'ont pas de défense chimique et sont caractérisés par une tête phragmotique (Prestwich 1984). Aucune étude jusqu'à présent n'a mis à jour le type de prédation ou de compétition auquel ces termites doivent faire face et le comportement défensif de ces soldats n'a pas encore été étudié en détail.

Lors de cette étude nous avons analysé le comportement des soldats lorsque leur colonie est confrontée à un compétiteur potentiel. Nous avons présenté deux types de compétiteurs potentiels identifiés lors de précédentes visites sur le terrain (Korb, comm. pers.) il s'agit d'une larve de coléoptère de la famille des Buprestidae et des colonies de *C. secundus* voisines entre elles.

MATERIEL ET METHODES

Vingt-six colonies de *Cryptotermes secundus* ainsi que les larves de Buprestides ont été récoltées dans les mangroves proche du port de Darwin (Territoire du nord, Australie). Une fois leur composition déterminée, les colonies ont été mises en élevage dans des nids

artificiels de pin, *Pinus radiata*, dont le volume fut ajusté à leur taille respective (Lenz 1994). La salle d'élevage était maintenue à 28 degrés, avec une humidité relative de 70% et un cycle jour : nuit de 12 : 12 heures. Pour le marquage des individus nous avons utilisé la peinture Revell email, Allemagne.

Rencontres inter-spécifiques :

Douze colonies ont été transférées dans des nids propres à l'observation c'est-à-dire avec une chambre centrale relativement large (h : 1cm, Ø : 3-8 cm selon la taille de la colonie).

Le Buprestide ne survit que dans le bois originel c'est pourquoi il était maintenu dans une chambre faite de ce bois (*Cerriops tagal*) incluse dans le nid en pin. Cette chambre (3x1x0.5 cm) était séparée de la colonie par un étroit tunnel (0.5x0.2x0.2cm) que seuls les termites pouvaient emprunter. Chaque observation durait 30min, chaque colonie a été observée 6 fois en l'absence de Buprestide puis 6 fois en sa présence. Seuls les soldats ont été marqués et observés.

Les fréquences d'interactions des soldats avec les différentes castes, lors de la période témoin, ont été analysées avec le test du Chi² de conformité. L'effet du Buprestide sur le comportement a été analysé avec le test de Wilcoxon (rangs signés).

Rencontres intra-spécifiques :

Quatorze colonies ont été confrontées deux à deux (7 rencontres). Six avaient un ou plusieurs soldats. Le nid d'observation comportait deux chambres (h : 1cm, Ø : 4cm) reliées par un tunnel de 3x1x1 cm. Avant d'être mises en contact, les colonies ont eu une période d'acclimatation de 24h durant laquelle le tunnel était fermé avec un mouchoir en papier propre. Les colonies ont été filmées pendant 24h avant, puis après ouverture du tunnel. Tous les individus ont été marqués.

Les données ont été analysées grâce au test du Chi².

RESULTATS

Les comportements suivants qui n'avaient pas été décrits pour les soldats, ont été pris en compte dans la présente analyse :

Palpe : toucher son environnement immédiat avec les antennes

Contact antennaire : toucher la tête ou le corps d'individus avec les antennes

Trophallaxie : échange de nourriture/phéromones par voie anale (proctodeal) ou buccale (stomodeal)

Coup de tête : frapper un autre individu de sa tête / être frappé

Tremblement : violente série de secousses latérales de tout le corps

Saut : brève secousse vers l'avant ou l'arrière du corps

Ouverture/fermeture des mandibules : ouvrir et fermer plusieurs fois les mandibules

Mordre : saisir et serrer entre les mandibules

Alarme : la tête est abaissée et l'abdomen, étiré vers le haut, est vivement agité verticalement sans frapper le sol.

Interactions du soldat avec les castes de sa colonie, en l'absence de Buprestide (témoin) :

Pour chaque comportement, la distribution des fréquences par castes est différente de celle attendue en cas de rencontres aléatoires (en tenant compte du nombre d'individus de chaque caste). Dans tous les cas, les interactions sont plus fréquentes avec les petits ouvriers, moins fréquentes avec les moyens, les gros ouvriers et les nymphes et peu fréquentes avec les larves et les autres soldats. Quant aux reproducteurs ils sont très fréquemment touchés (tête et corps), sont peu frappés mais donnent beaucoup de coups de tête si l'on considère la faible probabilité de les rencontrer.

Tous comportements confondus, les interactions avec les reproducteurs de la société ne sont pas effectuées au hasard (N=2242, Chi² : 1040, df 3, P<0.001, observations portant sur 34 soldats).

Rencontres inter-spécifiques :

Si l'on compare la fréquence des comportements des soldats en l'absence puis présence du Buprestide nous constatons qu'ils ont fait plus de contacts antennaires vers la tête (N=171, Z=-2.038, P<0.05), moins vers le corps (N=161, Z=-2.597, P=0.01), plus de tremblements (N=256, Z=-3.484, P<0.001) et qu'ils ont été plus frappés (N=226, Z=-4.229, P<0.001). En revanche les fréquences des trophallaxies stomodéales et proctodéales ainsi que celle des coups donnés ne sont pas significativement différentes (respectivement : N=7, Z=-0.34, NS ; N=11, Z=-0.83, NS ; N=138, Z=-1.53, NS). Toutes ces observations portent sur 24 soldats.

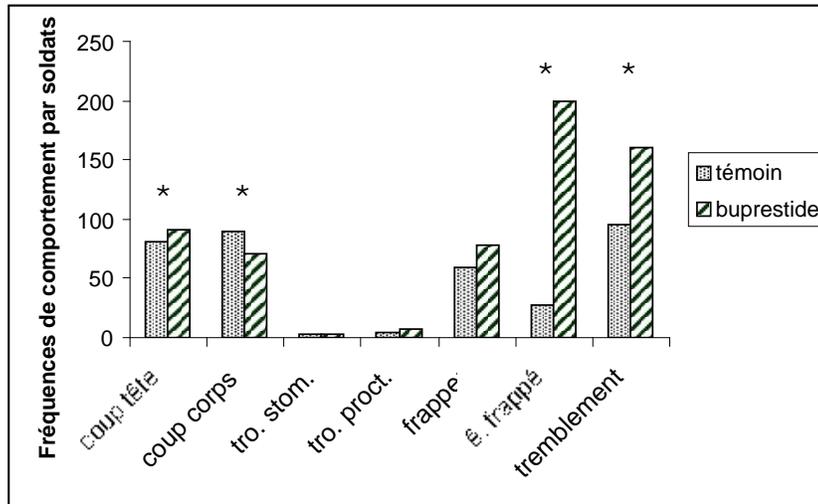


Figure 3: Fréquences de sept comportements en l'absence et en présence d'un Buprestide, * indique P<0.05.

Rencontres intra-spécifiques :

Après ouverture du tunnel, l'agression est immédiate entre les ouvriers et/ou nymphes des deux colonies. Morsures, poursuites et violentes empoignades sont observées durant les premières minutes suivant le contact des antagonistes. Le comportement d'alarme apparaît peu après. Les soldats ne sont jamais les premiers acteurs mais ils peuvent être plus efficaces à tuer que les ouvriers ou les nymphes. En général l'une des paires de reproducteurs est éliminée dans les 24h qui suivent la mise en contact des colonies. Les ouvriers qui ont survécu à la phase initiale d'agression finissent par se mélanger pacifiquement.

Les individus âgés (moyens et grands ouvriers, nymphes) et les soldats sont plus actifs. Ils mordent et alarment plus que les jeunes termites (petits ouvriers et larves) et les reproducteurs (N= 84, Chi² : 107, df 1, P<0.001).

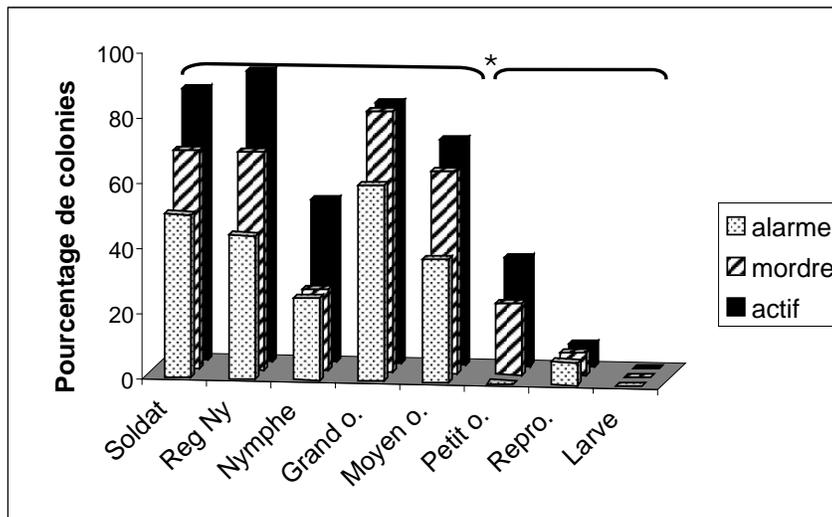


Figure 4: Pourcentage de colonies dont les castes ont été actives, ont mordu, et ont alarmé, * indique $P < 0.01$

Nous considérons vainqueurs, les colonies dont les reproducteurs sont vivants en fin d'expérience. Les colonies "gagnantes" ont plus d'individus que les autres au départ ($N=6$, $\text{Chi}^2 : 7.3$, $\text{df } 1$, $P < 0.01$). Ces colonies sont également les premières à contacter l'un des reproducteurs de la colonie adverse ($N=7$, $\text{Chi}^2 : 10.3$, $\text{df } 1$, $P < 0.001$). Avoir des soldats n'est pas un avantage décisif ($N=6$, $\text{Chi}^2 : 0.29$, $\text{df } 1$, NS). Le fait de contacter les "étrangers" ($N=7$, $\text{Chi}^2 : 0.286$, $\text{df } 1$, NS) ou d'alarmer ($N=7$, $\text{Chi}^2 : 1.14$, $\text{df } 1$, NS) en premier semble sans relation avec le résultat de la rencontre. Extraire les colonies de leur nid d'élevage la veille de l'expérience n'a pas non plus influencé leur succès/défaite ($N=7$, $\text{Chi}^2 : 0.35$, $\text{df } 1$, NS).

CONCLUSION

Quel que soit l'intrus qu'on leur présente les soldats modifient leurs activités. Ils semblent plus aptes à défendre lors d'une rencontre intra-spécifique mais le comportement d'alarme n'a pas pu être mesuré lors de la première expérience. Nos résultats indiquent que cette caste est particulièrement sollicitée lors de la défense de la colonie. Il apparaît également que la colonie est défendue par l'ensemble des individus âgés, reproducteurs mis à part. La réaction des soldats fait donc partie intégrante de la réponse collective face à un intrus.

REMERCIEMENT

Cette étude a été financée par la Fondation Scientifique Allemande (DFG) dans le cadre du programme Emmy Noether (KO 1895/2-1)

REFERENCES

- Abe, T. (1987). Evolution of life types in termites. Evolution and Coadaptation in biotic communities. S. Kawano, J. H. Connell and T. Hidaka. Tokyo, University of Tokyo Press: 125-148.
- Haverty, M. I. (1977). "The proportion of soldiers in termite colonies: a list and a bibliography (Isoptera)." Sociobiology **2**(3): 199-216.
- Lefeuvre, P. and C. Bordereau (1984). "Soldier formation regulated by a primer pheromone from the soldier frontal gland in a higher termite, *Nasutitermes lujae*." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **81**: 7665-7668.

Lenz, M. (1994). Food Resources, colony growth and caste development in wood-feeding termites. Nourishment and evolution in insect societies. J. Hunt and C. A. Nalepa. New Dehli, India, Oxford and I.B.H Publishing Co. Pvt. Ltd.: 159-209.

Mill, A. E. (1983). "Observations on Brazilian Termite Alate Swarms and Some Structures Used in the Dispersal of Reproductives Isoptera Termitidae." Journal of Natural History **17**(3): 309-320.

Noirot, C. and J. P. E. C. Darlington (2000). Termite nests: architecture, regulation and defence. Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology. T. Abe, D. E. Bignell and M. Higashi. Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 121-139.

Noirot, C. and J. M. Pasteels (1987). "Ontogenetic development and evolution of the worker caste in termites." Experientia **43**: 851-860.

Prestwich, G. D. (1984). "Defense mechanisms of termites." Annual Review of Entomology **29**: 201-232.

ETUDES DES CONDITIONS D'APPARITION DES PHENOMENES DE CLEPTOBIOSE EN
LABORATOIRE CHEZ UNE PONERINE NEOTROPICALE
(*ECTATOMMA RUIDUM* ROGER)

H. Cerles¹, B. Corbara¹, J.P. Lachaud^{2,3} G. Peréz-Lachaud³

¹ LAPSCO, UMR-CNRS 6024,

Université Blaise Pascal, 34 Avenue Carnot, 63037 Clermont-Ferrand (France)

² Laboratoire d'Éthologie et Cognition Animale, FRE-CNRS 2382,

Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse (France)

³ ECOSUR, Apdo Postal 36, 30700 Tapachula, Chiapas (Mexique)

RESUME

Le pillage des réserves des nids homospécifiques voisins, ou cleptobiose intraspécifique, semble être de règle entre colonies de la fourmi ponérine *Ectatomma ruidum* Roger. Cependant, ce phénomène, pourtant très fréquent sur le terrain, est difficilement reproductible en laboratoire. À travers l'observation de l'occurrence des vols en fonction de diverses conditions expérimentales, nous avons pu mettre au point un protocole propice à l'apparition de la cleptobiose en laboratoire. Les résultats obtenus montrent qu'un regroupement des proies sous forme de source dense, de même qu'une position stable de cette dernière au cours d'expériences successives favorisent la mise en place de comportements cleptobiotiques. De même, un dispositif offrant de plus grandes distances entre le nid et la source alimentaire semble plus propice à l'apparition des phénomènes de cleptobiose.

INTRODUCTION

De nombreuses études portant sur les modalités du fourragement chez la fourmi ponérine *Ectatomma ruidum* ont montré la grande flexibilité comportementale dont est capable cette espèce, que ce soit au niveau individuel ou collectif (Lachaud, 1985 ; Schatz, 1997). Ainsi, les fourrageuses peuvent adapter leur comportement aux contraintes environnementales à travers la mise en œuvre de diverses stratégies. L'une d'elles, utilisée en réponse à une forte compétition alimentaire, est le vol dans les réserves de nourriture des nids voisins, encore appelée cleptobiose. Elle a été mise en évidence chez *E. ruidum* aussi bien au niveau interspécifique (Perfecto & Vandermeer, 1993) qu'intraspécifique (Breed et al., 1990, 1992 ; De Carli, 1997, 1998), et c'est à ce dernier niveau, où se jouent un grand nombre d'événements complexes entre individus et colonies, que va se situer notre étude.

Toutefois, la compréhension du phénomène dans son ensemble nécessite l'articulation de travaux de terrain et de laboratoire afin de prendre en compte aussi bien le niveau individuel (études du comportement et de sa dynamique) que celui de la population globale (flux des ressources et relations entre les colonies). Cependant, et comme le fait remarquer De Carli (1997), la cleptobiose pourtant très fréquente en milieu naturel est difficilement reproductible en laboratoire. Ainsi, afin de mettre en place un protocole plus favorable à l'occurrence de la cleptobiose en laboratoire, nous nous proposons de rechercher les conditions d'apparition de ce phénomène.

MATERIEL ET METHODE

Afin de nous placer dans des conditions de compétition intraspécifique nécessaires à l'apparition des vols, nous avons travaillé sur des dispositifs permettant le fourragement simultané de quatre colonies. Et, pour pouvoir distinguer les animaux sur la base de leurs appartenances coloniales, les ouvrières ont été marquées d'une tache de couleur représentant leur colonie d'appartenance. Enfin, chaque nid est connecté au centre d'une aire carrée de fourragement de 125cm x 125cm, appelée une « zone ». Ces zones peuvent être agencées de diverses manières, formant ainsi différents types de dispositifs ce qui permet de faire varier les distances entre les colonies ainsi que celles séparant les nids de la

source de nourriture.

Nous avons tout d'abord voulu tester l'influence du type de répartition des proies sur l'occurrence des phénomènes de cleptobiose. Ces travaux ont été réalisés sur un dispositif carré : les quatre zones sont assemblées afin de former une aire de 250cm x 250cm. Les proies étaient alors soit dispersées sur l'ensemble du dispositif (répartition homogène), soit regroupées sous forme de source dense dans un coin ou au centre de ce dernier (répartition non-homogène). Puis, afin de tester l'influence de la stabilité de la source, nous avons répété les manipulations en laissant les proies au même emplacement au cours de deux expériences successives.

Enfin, nous avons voulu observer l'impact de la distance entre nid et source alimentaire sur l'apparition des vols. Pour cela, nous avons créé un dispositif rectangulaire : les quatre zones sont accolées en longueur, offrant une aire de fourragement de 125cm x 500cm. L'aire totale de fourragement reste la même pour les deux dispositifs, mais les distances sont plus grandes sur le dispositif rectangulaire que sur celui en carré.

Les colonies sont reliées aux dispositifs 24h/24h, et les proies sont déposées sur l'aire de fourragement quelques minutes avant le début des manipulations expérimentales. Ces dernières durent trois heures, durant lesquelles, pour chaque événement tel que prise de proie, entrée ou sortie du nid, l'expérimentateur relève le lieu, la couleur de la fourrageuse en cause, le nombre de proies transportées, puis à l'aide d'un chronomètre, les temps d'action.

RESULTATS

L'analyse de l'occurrence des vols en fonction du type de disposition des proies permet de voir que la totalité des phénomènes de cleptobiose a eu lieu en conditions non-homogènes de répartition des proies (sources denses en coin ou au centre du dispositif). De plus, les séances de répétition ont également favorisé l'apparition des vols puisque l'on en observe deux fois plus au cours des expériences de répétitions qu'au cours des premières expériences.

Enfin, le nombre moyen de vols par expérience obtenu sur le dispositif rectangulaire est beaucoup plus important que celui observé sur le dispositif carré (cf. Figure 1).

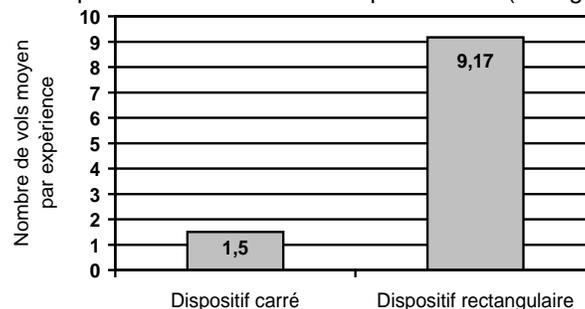


Figure 1 : Nombre moyen de vols par expérience en fonction du type de dispositif.

CONCLUSION

L'ensemble de ces travaux permet de définir certains paramètres plus propices à l'apparition des phénomènes de cleptobiose intraspécifique en laboratoire. Tout d'abord, la présentation des proies sous forme de source dense, en opposition à une distribution homogène sur l'ensemble du dispositif, permet d'augmenter la pression de compétition pour la nourriture, et favorise l'apparition des vols. De la même manière, les résultats relatifs à la stabilité de la source pourraient s'expliquer par la facilitation de la découverte de cette dernière au cours des expériences de répétition, mais également par l'émergence de phénomènes de

spécialisation des voleuses sur une colonie cible (De Carli, 1997). Enfin, l'augmentation des distances nid/source sur le dispositif rectangulaire pousse les fourrageuses à opter pour la stratégie cleptobiotique aux dépens de la stratégie, devenue plus coûteuse, de prise directe à la source. La définition de toutes ces conditions devrait permettre la mise en place de nouveaux protocoles plus favorables à l'apparition de la cleptobiose en laboratoire, et rendre ainsi possible l'étude de sa dynamique et de son déterminisme.

Il convient cependant de remarquer que la cleptobiose reste toujours beaucoup plus rare en laboratoire que sur le terrain. Ceci pourrait être dû à une meilleure connaissance des colonies voisines en milieu naturel, qui devrait être compensée par un apprentissage du nouvel environnement social en milieu artificiel. Ainsi, l'existence de tels phénomènes laisserait présager, chez *Ectatomma Ruidum*, de fortes capacités cognitives liées à l'apprentissage et la reconnaissance de l'environnement social.

REFERENCES

- Breed, M.D., Abel, P., Bleuze, T.J. & Denton, S.E. (1990). Thievery, home ranges, and nestmate recognition in *Ectatomma ruidum*. *Oecologia*, **84**, 117-121.
- Breed, M.D., Snyder, L.E., Lynn, T.L. & Morhart, J.A. (1992). Acquired chemical camouflage in a tropical ant. *Anim. Behav.*, **44**, 519-523.
- De Carli, P. (1997). Interactions intraspécifiques chez une fourmi néotropicale : *Ectatomma ruidum* Roger (Hymenoptera, Ponerinae). *Thèse*, Université Paul Sabatier, Toulouse.
- De Carli, P., Lachaud, J.P., Beugnon, G. & Lopez-Mendez J.A. (1998). Etudes en milieu naturel du comportement de cleptobiose chez la fourmi néotropicale *Ectatomma ruidum* (Hymenoptera, Ponerinae). *Actes Coll. Insectes Sociaux*, **11**, 29-32.
- Lachaud, J.P. (1985). Recruitment by selective activation : an archaic type of mass recruitment in a Ponerine ant (*Ectatomma ruidum*). *Sociobiology*, **11** (n° 2), 133-142.
- Perfecto, I. & Vandermeer, J.H. (1993). Cleptobiosis in the ant *Ectatomma ruidum* in Nicaragua. *Ins. Soc.*, **40**, 295-299.
- Schatz, B. (1997). Modalités de la recherche et de la récolte alimentaire chez la fourmi *Ectatomma ruidum* Roger : flexibilités individuelle et collective. *Thèse*, Université Paul Sabatier, Toulouse.

SPÉCIALISATION MORPHOLOGIQUE ET COPULATION PROLONGÉE
CHEZ LA FOURMI *DIACAMMA* SP. (HYMENOPTÈRES, FORMICIDAE)

D. Allard¹, B. Gobin¹, F. Ito², K. Tsuji³, J. Billen¹

¹ Zoological Institute, University of Leuven, 3000 Leuven, Belgium.

² Faculty of Agriculture, Kagawa University, Ikenobe, Miki 761-0795, Japan

³ Department of Biology, Tayoma University, Tayoma 930-8555, Japan

La fourmi ponerine japonaise *Diacamma* sp. ne possède pas de caste reproductive spécialisée. Les femelles monomorphiques sont toutes considérées comme des ouvrières. Dans chaque colonie, une seule ouvrière s'est accouplée avec un mâle et se reproduit donc sexuellement. La division des tâches reproductives dans ces colonies est déterminée par la mutilation d'appendices mésothoraciques, appelés gemmae, par les congénères. Une fois les gemmae d'une jeune ouvrière ôtées, elle ne s'accouplera jamais, et pondra rarement en présence de la seule ouvrière non-mutilée. Nos observations nous indiquent des différences d'activité de la spermathèque entre des ouvrières mutilées et des ouvrières non-mutilées. Nous avons remarqué que l'épithélium spermathécal d'individus non-mutilés est plus épais que chez les femelles mutilées. Ces dernières ont également des conduits de glande spermathécale beaucoup moins larges. Nous avons également observé une différence dans le développement de la bourse copulatrice chez les deux types de femelles. L'épithélium de la bourse des ouvrières non-mutilées produit un cuticule très épais durant les deux premières semaines après l'éclosion, alors que l'épithélium des ouvrières mutilées se désintègre durant les dix premiers jours. La bourse copulatrice fortement sclérotisée des ouvrières non-mutilées joue un rôle important durant la copulation. Le mâle transfère son sperme à la femelle dans un spermatophore, et reste attaché à la femelle par ses organes génitaux durant parfois deux jours, jusqu'à ce qu'il soit tué et son abdomen retiré par la femelle et ses congénères. Nous avons étudié les différents éléments connecteurs qui permettent au mâle de s'attacher si solidement à la femelle. Les copulations prolongées sont généralement considérées comme une stratégie efficace du mâle pour s'assurer la paternité exclusive.

MORPHOLOGICAL SPECIALISATION AND PROLONGED COPULATION
IN THE ANT *DIACAMMA* SP. (HYMENOPTERA, FORMICIDAE)

Only one individual per colony has mated and reproduces sexually. This reproductive division of labour is determined by mutilation of mesothoracic appendages by nestmates. Once mutilated, a worker can never mate. Our observations let us suspect differences in spermathecal activity between mutilated and non-mutilated workers. We found that spermathecae of non-mutilated workers have a significantly thicker reservoir epithelium and broader gland ducts than those of mutilated individuals. We also observed a difference in the development of the bursa copulatrix between the two types of females. The bursal epithelium of non-mutilated workers develops a very thick cuticle in the first two weeks after eclosion, whereas the epithelium of mutilated workers desintegrates during the first 10 days. The highly sclerotized bursa of non-mutilated individuals plays an important role during copulation. The male transfers his sperm to the female in a spermatophore, and remains attached to the female by his genitalia for 2 days, until he is killed and his abdomen removed by the female and her nestmates. We determined the different connecting elements that account for the strong grip of the male on the female abdomen. Prolonged copulations are viewed as an effective strategy to ensure unique fatherhood.

L'ARGILE COMME FACTEUR CLEF DE LA STABILITE DES NIDS
DE *MACROTERMES BELLICOSUS*.

P. Jouquet¹, D. Tessier², M. Lepage³

¹ Laboratoire d'Ecologie, UMR 7625, Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, 75230 Paris 05, France and

² Unité de Science du Sol, INRA, 78026 Versailles cedex , France.

³ IRD, 01 BP 182 Ougadougou 01, Burkina Faso.

RESUME

Nous avons étudié les propriétés physico-chimiques ainsi que le comportement hydrique de la muraille externe des termitières de *Macrotermes bellicosus*. L'argile semble être la clef de la stabilité des termitières. Elle diminue la porosité et augmente la quantité de pores de petite taille. Ce changement de structure freine la diffusion de l'eau. Cependant, une fois que l'eau a pénétré, ce sol gonfle et éclate, expliquant la faible stabilité observée avec un test de stabilité faisant intervenir le comportement à l'eau des échantillons.

INTRODUCTION

Les termites champignonnistes (Isoptera, Macrotermitinae) constituent souvent la principale composante de la macrofaune des sols tropicaux de savane. Parmi ces espèces, les termitières de *Macrotermes bellicosus* se distinguent dans les paysages par leurs tailles et la complexité de leurs formes. Ces constructions servent de protection contre les prédateurs et permettent le maintien d'une température et humidité optimales pour la colonie et le champignon avec lequel ils entretiennent une relation d'exo-symbiose (*Termitomyces*) (Korb et Linsenmair, 1998a,b, 2000).

L'effet des termites champignonnistes sur les sols tropicaux a fait l'objet de nombreuses études. Parmi les résultats obtenus, les mesures de stabilité des agrégats du sol indiquent une faible stabilité, légèrement plus importante que celle du sol témoin environnant (Garnier-Sillam et al., 1988; Contour-Ansel et al., 2000). Cependant, ces résultats semblent contradictoires avec ce que l'on sait de la stabilité et de la durée de vie des termitières.

L'objectif de cette étude est d'explicitier le paradoxe apparent entre la faible stabilité des sols remaniés par les termites (mesures au laboratoire) et la pérennité des matériaux de termitière *in situ*.

MATERIEL ET METHODES

Le modèle d'étude est la termitière de *Macrotermes bellicosus*. Des échantillons de muraille externe de termitières ont été prélevés dans une zone de culture de Palmiers à huile, dans la région de Zougoussy, savane guinéenne de Côte d'Ivoire. Leurs propriétés ont été comparées à celles d'un sol témoin sans activité visible des termites.

Les propriétés physico-chimiques mesurées sont les teneurs en carbone et en azote, la texture, le pH et la capacité d'échange cationique (CEC) au pH du sol et à pH 7.

Les structures des sols ont été mis en évidence à pF 1.5, 2.5 et 4.2. Pour chaque potentiel matriciel le volume de sol occupé par l'air et celui occupé par l'eau ont été mesurés. La capacité de gonflement des sols a été déterminée en mesurant le volume des pores à pF 1.5 et 4.2.

Les réponses hydriques des sols ont été déterminées à partir d'une mesure de la stabilité structurale (Le Bissonnais, 1996) et du temps de pénétration d'une goutte d'eau (Chenu et al., 2000).

Les analyses statistiques ont été effectuées à partir d'analyses de variance à deux facteurs et de tests *a posteriori* (Tukey et Scheffé). Le logiciel utilisé est Statistica pour Windows. Tous les tests sont effectués avec un degré de signification de 5%.

RESULTATS

Propriétés des sols

Les teneurs en carbone et en azote, le pH et les mesures de CEC sont indiquées dans le tableau 1. La quantité de carbone dans le sol de termitière est plus faible que dans le sol témoin. Le sol est plus alcalin et la CEC est plus importante. Cependant, pour tous les sols, aucune différence n'a été observée entre la CEC au pH du sol et celle à pH 7. Le sol de la muraille externe de la termitière est plus riche en argile et en sable. Il n'y a pas de différence dans les teneurs en limon des deux types de sol (figure 1).

Structure et propriété de rétention d'eau des sols

Les teneurs en air et en eau dans les deux types de sols sont indiqués dans la figure 2. La porosité ou volume total des pores est identique à pF 1.5. Cependant, lorsque les sols s'assèchent (pF>1.5), la porosité est toujours plus faible dans les sols remaniés par les termites. Ces différences signifient que les sols de termitière ont une capacité de gonflement qui est plus importante que le sol témoin.

La rétention d'eau est toujours plus importante dans le sol termitière. La proportion d'eau retenue dans les pores, pour un pF donné, nous donne une information sur la taille des pores du sol. Nos résultats nous indiquent que la proportion de pores de petite taille (inférieure à 0.1µm) est plus importante dans le sol de termitière.

Mesure de la stabilité et du temps nécessaire pour qu'une goutte d'eau pénètre dans ces sols

Le sol de termitière a une stabilité qui est inférieure à celle du sol témoin (figure 3). Le sol ne résiste absolument pas au test de Le Bissonnais et éclate lorsqu'il est immergé dans l'eau. Le temps nécessaire à la pénétration d'une goutte d'eau est, quant à lui, beaucoup plus important (figure 4).

CONCLUSION

Nos résultats vérifient les données de la littérature: les sols des termitières de *Macrotermes* sont appauvris en matière organique et enrichis en argiles. Ils sont également plus alcalins et ont une CEC plus importante que le sol témoin (Garnier-Sillam et al., 1988, 1991; Brauman et al., 2000; Contour-Ansel, 2000).

L'enrichissement en argile explique la plus grande CEC, mais l'absence de variation en fonction du pH indique que celle-ci provient d'argiles gonflantes du types 2:1 (Brady et Weil, 1999). La qualité et quantité de matière organique dans ces sols ont fait l'objet de plusieurs études (Garnier-Sillam et al., 1991; Contour-Ansel et al., 2000) mais nos résultats démontrent que celle-ci joue un rôle négligeable.

L'argile apparaît comme le facteur clef de la stabilité structurale des termitières. Deux mécanismes aux effets antagonistes sont mis en jeu: (i) une augmentation de la teneur en argile entraîne une diminution de la taille des pores et limite la diffusion de l'eau mais (ii) une fois que l'eau entre, les argiles du type 2:1 gonflent et provoquent l'éclatement des agrégats. Le test de Le Bissonnais place les agrégats du sol dans des conditions sans rapport avec la réalité en ne considérant que le second mécanisme. Il est donc insuffisant pour comprendre la stabilité structurale des sols de termitière de *Macrotermes bellicosus*.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été financés par le programme PNVS « Dynamique de la biodiversité et Environnement ».

REFERENCES

- Brauman A., Fall S., Chotte J.L., 2000. Caractéristiques organique, physique et microbiologique du sol soumis à l'influence des termites. Etude comparative de deux espèces dominantes des sols en jachère (Haute-Casamance, Sénégal). In: La jachère en Afrique Tropicale (eds Ch. Floret, R. Pontanier), John Libbey Eurotext, Paris, pp. 308-316.
- Chenu C., Le Bissonnais Y., Arrouays D., 2000. Organic matter influence on clay wettability and soil aggregate stability. *Soil Science Society of America Journal*, 64: 1479-1486.
- Contour-Ansel D., Garnier-Sillam E., Lachaux M., Croci V., 2000. High performance liquid chromatography studies on the polysaccharides in the walls of the mounds of two species of termites in Senegal, *Cubitermes oculatus* and *Macrotermes subhyalinus*: their origin and contribution to structural stability. *Biology and Fertility of Soils*, 31: 508-516.
- Garnier-Sillam E., Toutain F., Renoux J., 1988. Comparaison de l'influence de deux termitières (humivore et champignoniste) sur la stabilité structurale des sols forestiers tropicaux. *Pedobiologia*, 32: 89-97.
- Garnier-Sillam, E., Braudeau E., Tessier D., 1991. Rôle des termites sur le spectre poral des sols forestiers tropicaux. Cas de *Thoracotermes macrothorax* (Termitinae) et de *Macrotermes mülleri* (Sjöstedt) (Macrotermitinae). *Insectes Sociaux*, 38: 397-412.
- Korb J., Linsenmair K.E., 1998a. The effects of temperature on the architecture and distribution of *Macrotermes bellicosus* (Isoptera, Macrotermitinae) mounds in different habitats of a West African Guinea savanna. *Insectes sociaux*, 45: 51-65.
- Korb J., Linsenmair K.E., 1998b. Experimental heating of *Macrotermes bellicosus* (Isoptera, Macrotermitinae) mounds: what does microclimate play in influencing mound architecture. *Insectes sociaux*, 45: 335-342.
- Korb J., Linsenmair K.E., 2000. Thermoregulation of termite mounds: what role does ambient temperature and metabolism of the colony play ? *Insectes sociaux*, 47: 357-363.
- Le Bissonnais, Y., 1996. Aggregate stability and assessment of soil crustability and erodibility: I. Theory and methodology. *European Journal of Soil Science*, 47: 425-437.

	C %	N %	pH	CEC _{pH=7} (cmol kg ⁻¹)	CEC _{soil} (cmol kg ⁻¹)
Témoin (n=6)	0.67 (± 0.04)	0.05 (± 0.01)	4.98 (± 0.17)	3.33 (± 0.10)	3.27 (± 0.08)
Sol termitière (n=6)	0.56 (± 0.09)	0.04 (± 0.01)	5.33 (± 0.25)	4.82 (± 1.02)	5.37 (± 1.32)

Tableau 1. Teneur en carbone et en azote, pH et CEC au pH du sol et à pH 7.

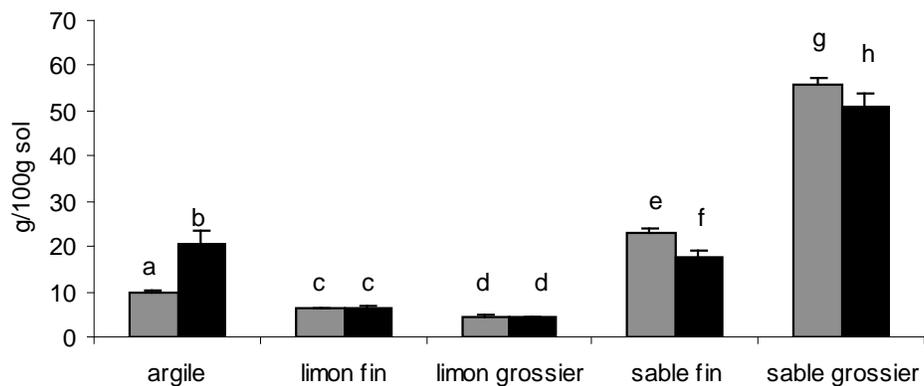


Figure 1. Analyse de la texture du sol témoin (en gris) et de la muraille externe (en noir).

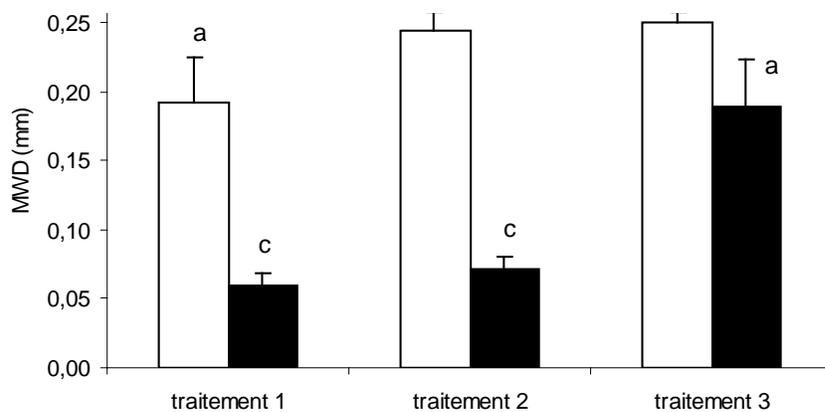


Figure 3. Diamètre moyen MWD (mm) des agrégats du sol témoin (en blanc) et de la termitière (en noir) selon 3 traitements plus ou moins agressifs.

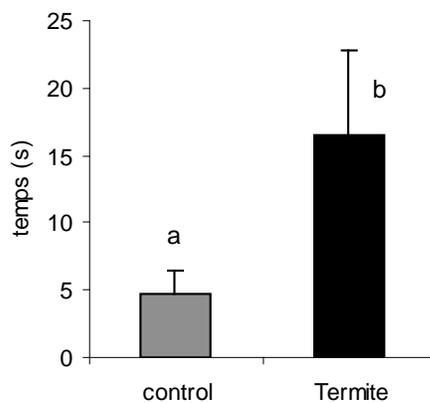


Figure 4. Temps (s) de pénétration d'une goutte d'eau.

PECULIAR CELL ORGANISATION OF THE LABIAL GLAND IN SOCIAL HYMENOPTERA

E. Lommelen, E. Schoeters, J. Billen

Zoological Institute, University of Leuven, 3000 Leuven, Belgium

The many different exocrine glands that exist in social insects can morphologically be classified into either epithelial glands or glands formed by bicellular units. In some Hymenoptera, however, the labial gland shows a special structure, different from both other types. In social wasps, several ponerine ants and some bees, this gland is formed by globular structures or acini, which consist of a central cell surrounded by parietal cells. Intercellular canaliculi connect both cell types to the ductulus.

In the pupal stage, the labial gland starts to grow in the same way as an epithelial labial gland. After epithelial acini are formed, the cell opposite to the ductulus starts to grow faster than the others and will become the future central cell. While growing it pushes away the lumen inside the acinus until it reaches the ductulus, while the other cells will gather around this fast growing cell. Finally the canaliculi are formed and the parietal cells invaginate partly into the central cell, in such a way that the outer surface of the acinus is rounded.

This process results in the adult appearance of the labial gland as a complex and apparently aberrant type of cellular organization, even when its ontogenetic formation clearly reveals its epithelial origin. Although evolved independently, the structure shows several similarities in wasps, ants and bees.

STRUCTURE SOCIALE ET GENETIQUE DE DEUX POPULATIONS ALPINES DE
FORMICA LUGUBRIS

C. Bernasconi¹, A. Maeder¹, D. Cherix^{1,2}

¹Institut de Zoologie et Ecologie Animale, Bâtiment de Biologie, Université de Lausanne, 1015 Dorigny, Suisse

²Musée cantonal de Zoologie, palais de Rumine, CP448, 1000 Lausanne, Suisse

Lors de précédents travaux (Maeder, in prep) l'étude de deux populations de *Formica lugubris* Zett. (Hymenoptera : Formicidae) au sein du Parc National suisse (canton des Grisons) a permis d'identifier deux stratégies de reproduction bien distinctes (dispersion à longue distance vs bourgeonnement). Ces résultats ont motivé la présente étude dont le but est d'analyser la structure génétique des deux populations à l'aide de huit marqueurs microsatellites.

La première population (18 nids) est caractérisée par une forte structuration génétique entre nids ($F_{ST} = 0.269$), par un phénomène modéré d'isolation par la distance, par un apparentement moyen élevé entre ouvrières ($r = 0.495$) et une faible polygynie. Une telle structure serait principalement liée à la présence de peu de reines pondueuses, à un flux génétique très réduit entre nids, et à des bourgeoisnements probablement anciens.

La deuxième population (41 nids) est caractérisée par une structuration génétique modérée entre nids ($F_{ST} = 0.064$), un phénomène d'isolation par la distance, un faible taux d'apparentement entre ouvrières ($r = 0.123$) et une polygynie relativement importante. Une telle structure serait liée à un faible flux génétique entre nids éloignés, à la fondation de nouvelles fourmilières par bourgeoisnement, et à des accouplements à l'intérieur des nids.

Actuellement, la première population est donc constituée de colonies faiblement polygynes, monocaliques et apparentées, avec une majorité de femelles dispersant sur de longues distances. Par contre, la deuxième population est polygyne et polycalique, ce qui concorde bien avec les travaux précédents indiquant une stratégie locale des femelles moins aptes à la dispersion.

Ces différences de structures sociale et génétique entre les deux populations sont discutées au vu des facteurs écologiques tels que la disponibilité en ressources, la saturation de l'habitat, et la compétition interspécifique.

LE CONDITIONNEMENT SPATIAL CHEZ LA FOURMI *MYRMICA SABULETI***M-C. Cammaerts**

Laboratoire de biologie animale et cellulaire, Faculté des Sciences,
CP 160/11, Université Libre de Bruxelles, 50, A. F. D. Roosevelt, 1050 Bruxelles.

INTRODUCTION

Chez *Myrmica sabuleti*, le conditionnement classique est possible à condition que le stimulus conditionnel (SC) soit présenté en même temps, juste avant ou peu de temps avant le stimulus inconditionnel (SIC) (Cammaerts, 2001 a). Chez cette espèce, l'apprentissage spatial est aussi possible, c'est-à-dire que les ouvrières peuvent apprendre à venir s'alimenter en un lieu précis de leur aire de récolte (Cammaerts, 2001 b). Il était donc logique de rechercher s'il est possible de conditionner les ouvrières de *M. sabuleti* à deux SC différents demandant chacun d'aller se nourrir en un lieu distinct. Cette recherche fut le but du présent travail.

MATERIEL ET METHODES

Les expériences se déroulèrent sur plusieurs sociétés expérimentales, de composition identique, maintenues dans des tubes en verre au quart remplis d'eau, posés dans des bacs servant d'aire de récolte. Dans ces bacs, des morceaux de blattes furent déposés régulièrement sur deux lames en verre, mais aucun aliment sucré ne fut offert, en vue des expériences.

Le SIC fut une solution aqueuse de cassonade présentée, sur une lame en verre, au lieu approprié. Le SC fut un morceau de papier en forme de T inversé, sur une face verticale duquel un des quatre sigles suivants était dessiné : un segment vertical (5 mm de large, 3 cm de long), un segment horizontal (mêmes dimensions), un « + », un « x » (ces deux derniers sigles avaient 3 cm de long et de haut ; leur deux branches avaient 5 mm de large). Le sigle dessiné différa selon le lieu de dépôt du SIC et selon la société expérimentale utilisée. En fait, chaque série d'expériences se déroulèrent sur 4 sociétés nommées A, B, C, D. Les sociétés A, B, C, D reçurent respectivement le sigle vertical, horizontal, +, x associés au SIC placé devant ce sigle pour la série d'expériences préliminaires, et pour toutes les autres expériences, placé à gauche de l'entrée du nid. A un autre moment, les sociétés A, B, C, D reçurent aussi respectivement le sigle horizontal, vertical, x, + associé au SIC placé à droite de l'entrée du nid. Chaque fois, le SC fut présenté à 18 cm devant l'entrée du nid, puis, 1 à 2 minutes plus tard, Le SIC fut offert au lieu approprié. Les SC et SIC restaient ensemble sur l'aire de récolte, durant 15 minutes. Les ouvrières venant autour du SIC étaient dénombrées au terme de chaque minute et le nombre moyen de ces ouvrières était calculé. Cette procédure (présentation des SC puis du SIC, comptage des ouvrières et calcul des moyennes) constituait une expérience de renforcement et était réalisée 12 fois de suite à raison de deux fois en 24 heures, chaque fois à des heures différentes (du jour et de la nuit) pour éviter un apprentissage temporel de la part des fourmis.

Au terme des 12 renforcements, les ouvrières venant en 2 minutes à l'endroit où avait été posé le SIC étaient comptées, ce qui donnait les nombres contrôles. Les conditionnements (et discriminations) acquis étaient ensuite quantifiés comme suit.

Pour la série d'expériences préliminaires, nous comptons d'abord les ouvrières venant en 2 minutes à l'endroit du SIC en présence d'un stimulus différent du SC puis en présence du SC lui-même.

Pour toutes les autres séries d'expériences, nous présentons les SC qui correspondent au SIC placé à gauche de l'entrée du nid et nous comptons séparément les fourmis allant à droite et à gauche, tout en marquant d'une tache blanche (Humbrol enamel) celles allant (correctement) à gauche. Ensuite, nous présentons les SC correspondant au SIC placé à droite de l'entrée du nid et nous comptons séparément les fourmis allant à

droite et à gauche, tout en marquant en jaune celles allant (correctement) à droite. Ces comptages et marquages permirent de calculer la proportion d'ouvrières répondant correctement, c'est-à-dire allant à la fois à droite et à gauche chaque fois qu'elles le devaient *. Cette procédure (présentation des SC, marquage et comptage des fourmis) fut reproduite jusqu'à l'extinction complète des réponses des ouvrières.

*Cette proportion est la moyenne entre le nombre d'ouvrières « blanches » allant aussi à droite, divisé par le nombre total de fourmis « blanches » et le nombre de fourmis « jaunes » allant aussi à gauche, divisé par le nombre total de fourmis « jaunes ».

RESULTATS

Etude préliminaire (Tab.1)

Les résultats numériques montrent que les ouvrières ont bien été conditionnées au SC présenté et qu'elles discriminent celui-ci d'un autre stimulus, les deux stimuli pouvant dès lors être utilisés afin de tenter un conditionnement spatial.

Essai de conditionnement spatial (Tab.2)

Première méthode : les deux SC sont présentés en alternance

Les ouvrières ont bien été conditionnées aux SC présentés, mais l'acquisition éventuelle d'un conditionnement spatial ne se décèle pas sur base des nombres de celles allant à droite et à gauche de l'entrée du nid. Un conditionnement spatial apparaît cependant sur base des proportions d'ouvrières répondant correctement. Ce conditionnement spatial s'éteignit en trois expériences d'extinction.

Deuxième méthode : les deux SC sont présentés en alternance et, en plus du SIC offert à l'endroit correct, une solution aqueuse d'acide acétique (8%) est placée au lieu erroné

Les ouvrières ont été conditionnées aux SC présentés, et, cette fois, un conditionnement spatial apparaît sur base de celles dénombrées à droite et à gauche de l'entrée du nid : les fourmis venues aux lieux corrects furent plus nombreuses que celles comptées aux lieux erronés mais ces dernières fourmis furent néanmoins plus nombreuses que celles observées lors des expériences contrôles. Les proportions d'ouvrières répondant correctement révèlent bien un conditionnement spatial et montrent qu'il s'estompa en 4 expériences d'extinction mais qu'il fut initialement un peu plus faible que celui obtenu à l'aide de la première méthode.

Troisième méthode, 1^{ière} façon : les SC sont présentés successivement, ceux associés au SIC placé à gauche de l'entrée du nid en premier lieu

Les ouvrières ont effectivement été conditionnées aux SC et le conditionnement spatial qu'elles ont acquis se décèle déjà sur base des nombres de celles allant à droite et à gauche de l'entrée du nid. Les fourmis allant aux lieux corrects furent plus nombreuses que celles allant aux lieux erronés et, cette fois, ces dernières ouvrières furent aussi peu nombreuses que celles comptées lors des expériences contrôles. Les proportions d'ouvrières répondant correctement mettent clairement en évidence ce conditionnement spatial et montrent qu'il s'éteignit en 5 expériences d'extinction, bien qu'initialement, il ne fut pas supérieur à celui obtenu à l'aide de la première méthode

Lors des expériences d'extinction, les fourmis allant correctement à gauche furent plus nombreuses que celles allant correctement à droite. Cela est-il dû au fait qu'elles furent d'abord conditionnées à aller à gauche ou cela résulte-t-il de la présence incontrôlable d'un élément (mur, porte, tas de détritrus) dans leur environnement, servant de SC ou de SIC ? Répondre à cette question demanda de refaire sur les mêmes nids, positionnés de la même façon dans le même environnement, et après extinction complète des conditionnements acquis, les mêmes expériences, mais en inversant l'ordre de présentation des deux SC.

Troisième méthode, 2^{ième} façon : les SC sont présentés successivement, ceux associés au SIC placé à droite de l'entrée du nid en premier lieu

Les résultats obtenus concordent avec ceux ci-dessus (troisième méthode, 1^{ière} façon). Ils montrent sur base des mêmes quantifications, des conditionnements et conditionnements spatiaux identiques, éteints en 5 expériences d'extinction.

Cette fois, les ouvrières répondant correctement à droite furent plus nombreuses que celles allant correctement à gauche de l'entrée du nid. Ce n'est donc pas un élément de

l'environnement des ouvrières qui créa une différence dans leur conditionnement à aller à gauche et à droite du nid, mais c'est bien le premier conditionnement spatial que l'on tente de leur faire acquérir qui est toujours supérieur au second que l'on voudrait les voir présenter.

REFERENCES

Cammaerts M-C., 2001a. Le conditionnement classique chez la fourmi *Myrmica sabuleti* (Hymenoptera, Formicidae). Actes Coll. Insectes Sociaux, 14, 65-68.

Cammaerts M-C., 2001b. Apprentissage spatial et temporel chez la fourmi *Myrmica sabuleti* (Hymenoptera, Formicidae). Actes Coll. Insectes Sociaux, 14, 61-64.

Tableau 1. Nombre d'ouvrières venant en deux minutes à l'endroit où était le stimulus inconditionnel (SIC) en l'absence de stimulus (contrôle), en présence d'un stimulus différent du stimulus conditionnel (SC), puis en présence de ce dernier.

Société	A	B	C	D
SC et stimulus différent du SC	et —	— et	+ et x	x et +
En l'absence de stimulus	0	2	5	9
En présence d'un stimulus différent du SC	0	4	4	10
En présence du SC	7	19	14	25

Tableau 2. Résultats de 3 méthodes de conditionnement spatial. *1^{ère} méthode* : présentation alternée des deux SC. *2^{ème} méthode* : présentation alternée des deux SC avec dépôt d'une solution aqueuse d'acide acétique au lieu erroné. *3^{ème} méthode 1°* : présentation successive des SC, celui correspondant au SIC placé à gauche en premier lieu. *3^{ème} méthode 2°* : présentation successive des SC, celui correspondant au SIC placé à droite en premier lieu. Chiffres romains : expériences d'extinction successives. Les nombres donnés sont ceux des ouvrières venant en 2 minutes aux endroits (gauche ou droite) où étaient les SIC, en l'absence des SC (N^{bres} contrôles) ou en présence de chacun d'eux (SC → gauche ; SC → droite). Le « % réponses correctes » est la proportion d'ouvrières répondant correctement aux deux SC.

Sociétés	A		B		C		D	
Endroits du SIC	gauche	droite	gauche	droite	gauche	droite	gauche	droite
<i>1^{ère} méthode</i>								
N ^{bres} contrôles	1	1	1	0	4	6	6	5
I SC → gauche	6	6	5	4	11	12	14	13
SC → droite	5	8	4	9	6	14	11	14
% réponses correctes	0.50		0.40		0.55		0.19	
II SC → gauche	3	2	3	3	6	7	9	8
SC → droite	2	4	3	6	5	9	8	8
% réponses correctes	0.17		0.19		0.26		0.15	
III SC → gauche	1	1	2	0	5	5	7	5
SC → droite	1	2	2	2	4	5	6	5
% réponses correctes	0.19		0.06		0.03		0.08	

Sociétés	A		B		C		D	
Endroits du SIC	gauche	droite	gauche	droite	gauche	droite	gauche	droite
<i>2^{ème} méthode</i>								
N ^{bres} contrôles	5	5	7	7	10	9	0	0
I SC → gauche	23	12	17	14	24	14	2	0
SC → droite	10	19	11	15	16	20	0	4
% réponses correctes	0.35		0.29		0.25		0.50	
II SC → gauche	13	8	11	10	16	13	3	0
SC → droite	9	16	9	12	12	16	1	3
% réponses correctes	0.33		0.31		0.27		0.17	
III SC → gauche	13	7	10	8	15	13	2	1
SC → droite	6	12	7	8	12	14	1	1
% réponses correctes	0.19		0.17		0.18		0.08	
IV SC → gauche	6	5	6	4	9	5	1	0
SC → droite	5	5	7	7	6	9	0	1
% réponses correctes	0.03		0.07		0.06		0.00	
<i>3^{ème} méthode, 1^o</i>								
N ^{bres} contrôles	0	4	0	6	0	2	4	4
I SC → gauche	8	2	9	2	13	3	14	3
SC → droite	2	10	3	11	4	11	5	10
% réponses correctes	0.38		0.44		0.39		0.36	
II SC → gauche	8	4	9	4	7	3	14	1
SC → droite	2	8	1	10	3	8	3	9
% réponses correctes	0.29		0.41		0.26		0.58	
III SC → gauche	8	2	7	2	7	3	8	3
SC → droite	3	6	1	6	2	7	2	6
% réponses correctes	0.27		0.18		0.19		0.13	
IV SC → gauche	7	4	5	1	5	2	6	2
SC → droite	2	3	2	5	2	6	3	4
% réponses correctes	0.14		0.14		0.17		0.12	
V SC → gauche	3	1	2	1	5	2	6	2
SC → droite	1	3	0	2	3	4	3	4
% réponses correctes	0.08		0.06		0.05		0.12	
<i>3^{ème} méthode, 2^o</i>								
N ^{bres} contrôles	1	1	1	0	5	3	4	5
I SC → gauche	4	1	5	1	11	4	10	4
SC → droite	0	8	1	8	3	17	4	17
% réponses correctes	0.75		0.40		0.46		0.40	
II SC → gauche	7	1	4	1	8	3	9	5
SC → droite	1	8	1	7	3	11	5	13
% réponses correctes	0.24		0.38		0.22		0.20	
III SC → gauche	4	0	3	2	7	3	7	4
SC → droite	1	5	1	7	2	8	3	11
% réponses correctes	0.25		0.27		0.12		0.14	
IV SC → gauche	2	0	3	1	3	3	4	3
SC → droite	1	3	0	4	1	8	2	8
% réponses correctes	0.12		0.12		0.08		0.05	
V SC → gauche	1	0	2	1	4	1	3	2
SC → droite	0	3	0	2	1	5	3	6
% réponses correctes	0.06		0.00		0.04		0.02	

ORIENTATION OLFACTIVE EN TUNNEL DE VOL CHEZ L'ABEILLE DOMESTIQUE *APIS MELLIFERA*

A. Chaffiol, M.-H. Pham-Delègue

Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (LNCI), INRA, la Guyonnerie,
BP 23, 91440 Bures sur Yvette, France

INTRODUCTION

Chez l'abeille domestique, le repérage des sources alimentaires ou du nid repose sur l'aptitude des butineuses à identifier et mémoriser un ensemble de signaux spatiaux, visuels et olfactifs. La communication chimique joue un rôle primordial. Les signaux chimiques impliqués sont à action intra (phéromones, communication sociale) ou inter (allomones : odeurs florales) spécifique. Il existe divers essais biologiques permettant d'étudier les réponses des abeilles à un signal chimique mais aucun ne permet l'étude des réponses comportementales individuelles en vol. Pourtant, chez d'autres insectes, comme chez des Lépidoptères et des Hyménoptères parasitoïdes, l'orientation olfactive est étudiée en tunnel de vol. L'intérêt de l'adaptation de ce dispositif à l'abeille est de pouvoir analyser l'orientation olfactive à courte distance d'un individu en réponse à un signal directionnel contrôlable en concentration et flux. L'objectif est de valider un essai biologique pour l'analyse du comportement de vol des ouvrières vers une source odorante. Nous avons dans un premier temps testé l'orientation vers une source complexe et réputée attractive (un groupe de congénères). Ensuite, nous avons étudié l'orientation vers un signal odorant simple (composé floral), chez des abeilles naïves et chez des abeilles préalablement conditionnées à cette odeur.

MATERIELS ET METHODES

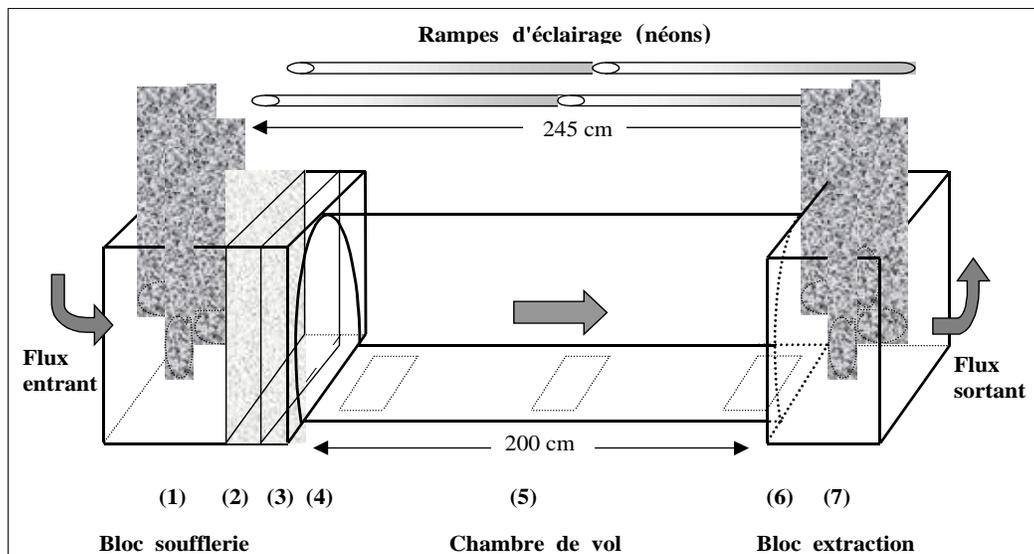


Figure 1 : Schéma du tunnel de vol

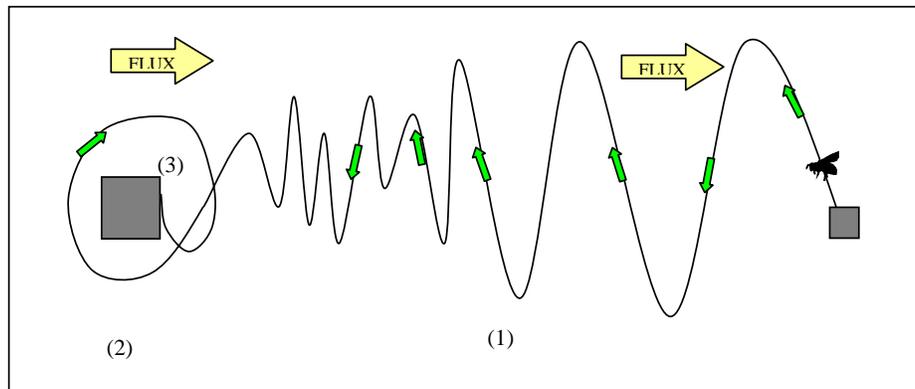
Le bloc soufflerie possède un ventilateur (1) qui aspire l'air de la pièce d'expérimentation et l'amène dans la chambre de vol (flux entrant). Des filtres de toile (2) et grillagé (3) permettent d'obtenir un flux laminaire au sein de la chambre de vol. Des morceaux de tulle (4 et 6) à chaque extrémité de l'enceinte délimitent celle-ci et évitent à l'insecte de passer dans les blocs moteurs. La chambre de vol est constituée d'une voûte de Plexiglas posée sur un plancher (5) comportant trois trappes d'accès. Le bloc extraction comporte un ventilateur (7) qui amène l'air de la chambre de vol à l'extérieur du bâtiment (flux sortant). L'éclairage du tunnel de vol est assuré par 4 néons placés sur des réglettes électriques de haute fréquence.

Chaque individu observé est préalablement mis dans une petite cagette, face aux flux d'air, placée à 120 cm de la source attractive. Dès que la cagette est ouverte, les comportements de l'insecte face à la source odorante sont observés pendant 5 minutes:

« vols orientés » en direction de la source : vols en zig-zag, typique, représenté sur le schéma.

« individus attirés » : individus volant plus de 2 secondes consécutives à proximité de la source (carré de 20 cm de côté autour de la source).

« individus posés » : individus posés sur la source attractive.

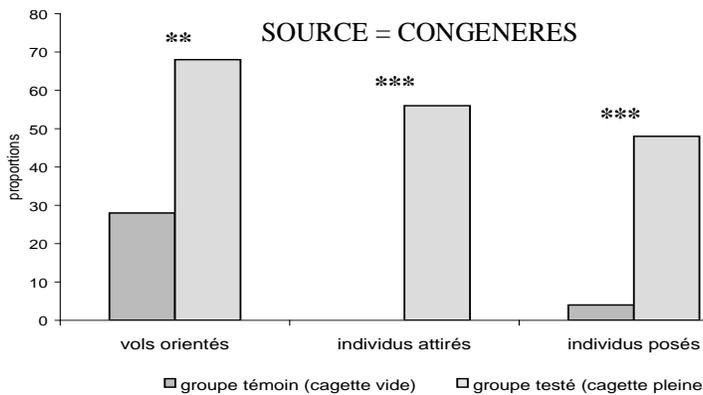


**Exemple schématique d'un vol orienté (1) suivi d'un vol circulaire autour de la source attractive(2) puis de la pose(3)
(en vue plongeante)**

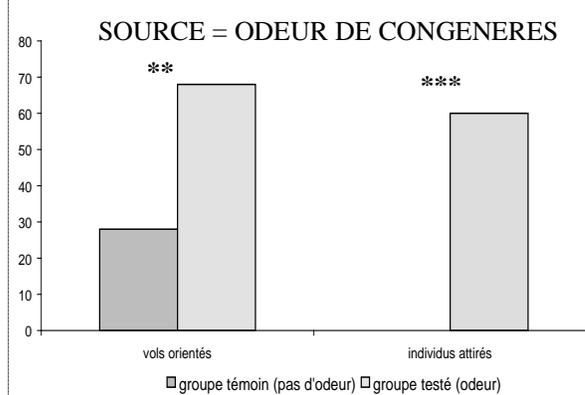
RESULTATS

ORIENTATION VIS-A-VIS DE CONGENERES

- Dans une première série d'expérimentations, une cagette contenant environ 60 abeilles (voir ci-contre) fait office de source attractive (signal complexe mêlant indices visuels, olfactifs et sonores)



- Dans la seconde série d'expérimentations, seule l'odeur de 60 abeilles débouche dans le tunnel grâce à l'utilisation d'une pompe à compression



[Exp. 1 & 2] Les signaux familiers sont attractifs dans nos conditions expérimentales. De plus, même les indices olfactifs seuls peuvent permettre à l'abeille de s'orienter à courte distance (comme pour le retour au nid).

INFLUENCE D'UN APPRENTISSAGE ASSOCIATIF PREALABLE

Sur l'orientation olfactive en tunnel de vol

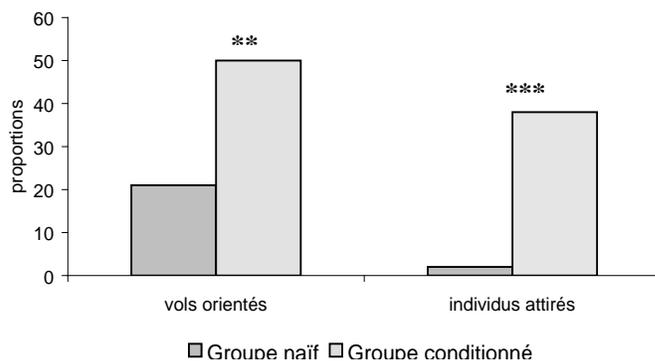
Dans cette expérience, nous observons dans le tunnel le comportement d'orientation olfactive des abeilles après une tâche d'apprentissage olfactif (conditionnement associatif de l'extension du proboscis) pour une odeur florale (linalool).

Conditionnement olfactif de l'extension du proboscis

La procédure d'extension conditionnée du proboscis est réalisée au laboratoire sur des abeilles maintenues en contention.

Elle est basée sur l'association d'une odeur (Stimulus Conditionnel, SC) et d'une solution sucrée (Stimulus Inconditionnel, SI). Durant un essai de conditionnement, la Réponse Inconditionnée est obtenue par l'application du SI sur l'antenne, le SC étant simultanément délivré. L'extension du proboscis est alors récompensée par une prise alimentaire (Récompense, R).

Après conditionnement, les individus présentant des Réponses Conditionnées (RC) au Test de rétention, (i.e. présentation du SC seul) forment le « groupe conditionné » dans l'expérience d'orientation en tunnel de vol suivante.



[Exp.3] Augmentation générale des performances, fort effet de l'apprentissage de l'odeur sur l'attraction des abeilles.

Il y a eu transfert d'information d'une tâche d'apprentissage olfactif vers une tâche d'orientation en vol, ce qui suggère qu'une abeille apprenant l'odeur d'une fleur en butinant aura tendance à être attirée par la suite vers cette même odeur à courte distance.

CONCLUSION

Cette étude originale chez l'abeille a permis l'observation, dans des conditions standardisées, d'individus volant librement dans un tunnel de vol et l'analyse au niveau individuel de phénomènes d'orientation. Ainsi l'odeur seule des congénères est attractive, indépendamment du jeu des indices visuels ou acoustiques, et ce de façon spontanée; alors que l'attraction vers une odeur florale dépend en partie de l'expérience olfactive de l'abeille. Une analyse trajectométrique de l'abeille à l'approche de la source sera développée pour affiner l'analyse des paramètres d'orientation.

ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE DU CODAGE DE L'INFORMATION OLFACTIVE
CHEZ L'ABEILLE *APIS MELLIFERA*

P. Déglise

Laboratoire de Neurobiologie de l'Insecte, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne,
31062 Toulouse cedex.

INTRODUCTION

L'olfaction chez les insectes est un sens très développé qui joue un rôle important dans la recherche de nourriture, la reconnaissance des congénères et la communication intra et inter spécifique.

L'organisation du système olfactif de l'insecte présente de fortes similitudes avec celle décrite chez le vertébré ce qui rend le modèle insecte particulièrement intéressant pour l'étude électrophysiologique du codage de l'information olfactive au niveau du cerveau. Les molécules odorantes sont captées par les neurones sensoriels olfactifs répartis tout le long de l'antenne. Ces neurones envoient leurs axones dans les lobes antennaires (l'équivalent du bulbe olfactif des vertébrés) où ils se répartissent dans des neuropiles globulaires appelés glomérules. L'information est relayée des lobes antennaires vers les corps en champignon, par les neurones de projection, équivalents des cellules mitrales des vertébrés. Au sein des glomérules des interneurons locaux gabaergiques assurent une régulation inhibitrice des réseaux nerveux. Les corps en champignon sont des structures paires, qui assurent la perception de l'odeur. Chaque corps en champignon comporte deux calices et un pédoncule. Dans les calices les neurones de projection se connectent aux dendrites des cellules de Kenyon. Les axones de ces cellules constituent la voie de sortie vers les pédoncules et forment les lobes alpha et bêta.

Des enregistrements électrophysiologiques chez la sauterelle et l'abeille (Laurent G. et al. 1994) (Stopfer M. et al. 1997) ont récemment montré que la présentation d'un stimulus olfactif provoque l'apparition d'une activité oscillatoire au sein des calices. La stimulation déclenche également l'activation d'un ensemble de neurones de projection dont la décharge est synchronisée avec les oscillations. Chaque odeur active un ensemble spécifique de neurones évoluant dans le temps, créant ainsi un profil d'activation spatio-temporelle unique (Laurent G. et al. 1996).

Le but de notre recherche est de vérifier chez l'abeille si les paramètres de synchronisation entre les neurones de projection des lobes antennaires et les cellules de Kenyon des corps en champignons sont conservés lorsqu'une odeur est associée à une récompense, c'est-à-dire lorsque l'odeur utilisée comme stimulus conditionnel est associée à un renforcement au cours d'un conditionnement olfactif de type pavlovien.

MATERIEL ET METHODES :

Tous les enregistrements ont été effectués sur des abeilles butineuses *Apis Mellifera*. Les abeilles sont prélevées sur un nourrisseur, situé à distance du rucher, assurant ainsi uniquement la capture de butineuses.

Les animaux sont fixés dans un tube de plexiglas au niveau du thorax, la tête est immobilisée grâce à un mélange de cire et de colophane. Une ouverture en forme de rectangle est pratiquée entre la base des antennes, les calices et les yeux. Les glandes sont retirées ainsi que les trachées afin d'assurer un meilleur contact entre l'électrode d'enregistrement et le tissu. Le tube digestif est retiré afin d'éliminer toute source de mouvements du cerveau de l'animal.

Les odeurs utilisées sont le pentanol, l'hexanol, le citral, le géraniol et le café. Elles sont délivrées pendant une seconde à une fréquence de 0,1 Hz, grâce à un système contrôlé par ordinateur.

Pour les enregistrements extracellulaires, les électrodes utilisées sont en borosilicate, et leur diamètre interne est de $1\mu\text{M}$. La solution interne est un liquide physiologique (en mM : 140 NaCl, 5 KCl, 5 CaCl_2 , 4 NaHCO_3 , 1 MgCl_2 , 6.3 HEPES, pH 7), servant également pour la perfusion de l'animal.

Les enregistrements intracellulaires sont effectués grâce à des électrodes en borosilicate ayant une résistance interne de $150\text{ M}\Omega$ et remplies d'acétate de potassium à 0,3M. Le signal est amplifié (AM-systems, 1800), puis filtré avec un filtre passe bande de type butterworth d'ordre 2 (5 Hz, 45 Hz). Il est digitalisé par une carte d'acquisition (National Instruments, 16 bits , PCI-6034 E), et pilotée par le logiciel Labview (National instruments). Les enregistrements sont visualisés et analysés par ordinateur grâce à des routines écrites en langage G (National Instruments) et sous Matlab (The Mathworks inc.).

RESULTATS

Ce travail a tout d'abord consisté à enregistrer des signaux extracellulaires, c'est-à-dire des oscillations, provenant des corps en champignon. Le seul site favorable à de tels types d'enregistrements est localisé autour des lobes alpha, plus précisément en position latérale et dorsale.

Plusieurs odeurs ont été testées, seul le citral induit une réponse importante au niveau de ce site d'enregistrement.

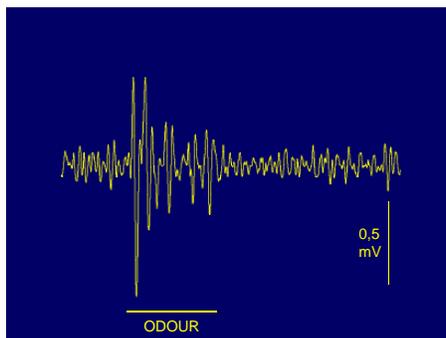


Figure 1 : Exemple d'enregistrement extracellulaire au niveau des corps en champignon de l'abeille.

L'odeur présentée est le citral, et est présentée pendant une seconde.

Toutes les caractéristiques des ces oscillations ont été définies : l'amplitude est de l'ordre du millivolt ce qui est en accord avec les résultats précédents (Stopfer M. et al. 1997). La durée de la réponse est courte, 400-800 ms, contrairement aux réponses observées chez la sauterelle (Laurent G. et al. 1994) (Stopfer M. et al. 1999) chez laquelle les oscillations sont visibles pendant toute la durée de la stimulation odorante (1 seconde) ; la fréquence du signal est comprise entre 20 et 35 Hz.

Après marquage du site d'enregistrement à la rhodamine dextran, les voies marquées correspondent aux axones des cellules de Kenyon, allant se projeter dans le lobe alpha.

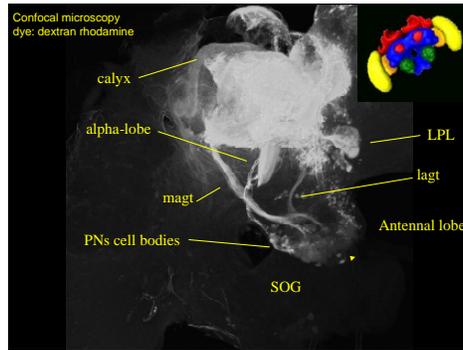


Figure 2 : Microscopie confocale du site d'enregistrement situé dans un corps en champignon d'abeille, marqué avec de la rhodamine dextran.

Afin de confirmer que les oscillations obtenues proviennent bien de l'activité nerveuse et ne sont pas des artefacts, des injections de picrotoxine (100 μ M, 0.1nl) (antagoniste des récepteurs GABA), ont été pratiquées au niveau des lobes antennaires. Vingt minutes (à corriger si nécessaire) après l'injection de la drogue, les oscillations disparaissent. La picrotoxine inhibe l'activité des neurones locaux et donc empêche la synchronisation de l'activité d'ensembles de neurones de projection, à l'origine des oscillations. Cette expérience démontre bien que le signal enregistré en bordure du lobe alpha est de nature neuronale.

La deuxième étape du travail a consisté à enregistrer les neurones de projection au niveau des lobes antennaires. Les enregistrements intracellulaires des neurones de projection ont montré qu'il y avait deux grands types de réponse à la suite d'une stimulation odorante, soit une augmentation de la fréquence de décharge de ces neurones, soit une inhibition.

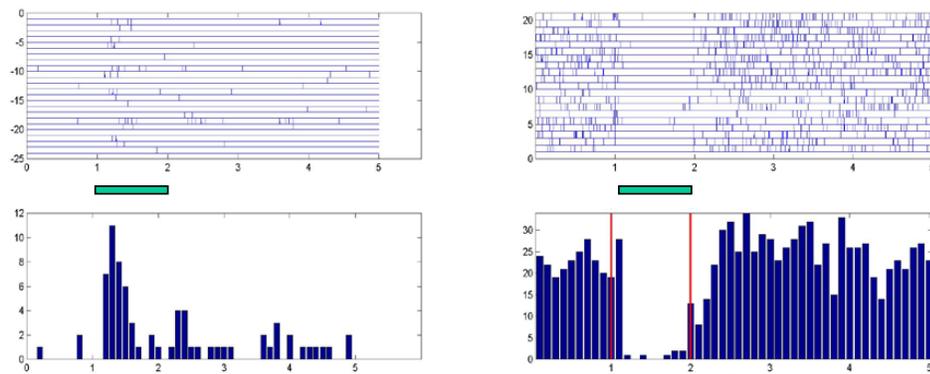


Figure 3 : Exemple de deux enregistrements intracellulaires de neurones de projection du lobe antennaire. La partie supérieure représente les rasters, et la partie inférieure, les PSTH, la présentation de l'odeur est signalée par une barre verte.

CONCLUSION

Ces résultats montrent que les oscillations obtenues sont bien de nature neuronale et que leurs caractéristiques sont semblables à celles rapportées dans les travaux de Stopfer et al 1997.

Les travaux en cours consistent à effectuer simultanément des enregistrements extracellulaires et intracellulaires chez des abeilles naïves et chez des abeilles ayant subi un conditionnement olfactif. Ces doubles enregistrements permettront de suivre l'évolution du codage d'une odeur renforcée et de le comparer au codage d'une odeur neutre.

REFERENCES

- Laurent G., Naraghi M., 1994, *Odorant-induced oscillations in the mushroom bodies of the locust*, J. Neurosci., 14(5), pp: 2993-3004.
- Laurent G., Wehr M., Davidowitz H., 1996, *Temporal representations of odors in an olfactory network*, J. Neurosci., 16(12), pp: 3837-3847.
- Stopfer M., Bhagavan S., Smith B., Laurent G., 1997, *Impaired odour discrimination on desynchronisation of odour-encoding neural assemblies*, Nature, 390, pp: 70-74.
- Stopfer M., Laurent G., 1999, *Short-term memory in olfactory network dynamics*, Nature, 402, pp: 664-668.

PHENOTYPIC PLASTICITY OR CO-EVOLUTION?
TESTING THE ACCEPTANCE THRESHOLD MODEL
IN A HOST OF A SOCIAL PARASITE.

E. Brunner, P. D'Ettoire, J. Heinze

LS Biologie I, University of Regensburg, D-93040 Regensburg, Germany

Behavioural flexibility of social responses, such as aggression, has rarely been investigated in solitary and social insects. According to the acceptance threshold model, a recognition system should not be fixed, but context-dependent (Reeve, 1989). Recent studies on brood parasites have shown an adaptive phenotypic flexibility in host populations depending on variation in parasitism rate.

We are currently testing the acceptance threshold model in a host-social parasite system: the slave-making ant *Polyergus rufescens* and one of its host species, *Formica rufibarbis*. Two host populations, one where the parasite is present and one where it is absent, are compared in their level of aggression against the parasite over a period of 6 months. We test the possibility of a seasonal change in the acceptance/rejection threshold of the host species (expressed as aggression-level) according to the parasite's peak in activity (raiding and colony-founding season). We expect that the aggression-level of *F. rufibarbis* workers with a *Polyergus*-colony nearby should rise during this period, whereas the aggression-level of *F. rufibarbis* in an area without *Polyergus* should not show substantial changes.

Reeve HK, 1989 The evolution of conspecific acceptance thresholds. Am Nat. 133: 407-435

MARQUAGE EXPLORATOIRE CHEZ LA FOURMI *LASIUS NIGER*

C. Devigne, C. Detrain

Université Libre de Bruxelles - Laboratoire des Communautés Animales – Av. Roosevelt, 50
– 1050 Bruxelles – Belgique

INTRODUCTION

L'exploration régulière de l'environnement du nid par les scouts favorise la découverte de nouvelles sources de nourriture et la détection de compétiteurs potentiels par la mise à jour de la "mémoire spatiale de la colonie". Pour augmenter l'efficacité de l'exploration, les scouts peuvent déposer activement ou passivement des composés chimiques qui caractérisent le territoire et/ou le "home-range" de la colonie (1). La perception de ces marques influence le comportement des individus en améliorant leur orientation (2), en augmentant leur vitesse (3) ou l'intensité du recrutement (4). Le marquage territorial se distingue du marquage du "home-range" par sa spécificité coloniale et par son influence sur l'intensité des comportements agonistiques des fourmis résidentes.

Nous étudierons le comportement d'exploration de nouvelles aires chez *Lasius niger*. Afin de déterminer le caractère territorial ou "home-range" du marquage exploratoire chez *Lasius niger*, nous examinerons sa spécificité coloniale ainsi que son influence sur les comportements agonistiques des fourmis.

MATERIEL ET METHODES

Exploration collective de nouvelles aires

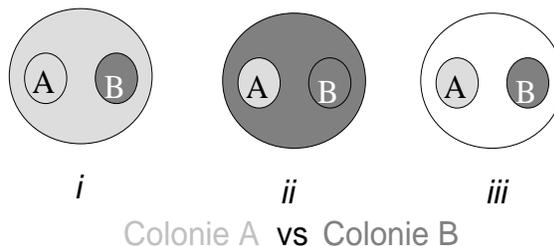
Neuf nids de fourmis à jeun depuis 3 jours sont connectés à 2 aires par un pont en Y de 30cm. Ce dispositif en Y permet de mettre en évidence, avec une grande efficacité, des processus d'amplification dépendant de la perception de marques chimiques par les fourmis. Nous avons enregistré le flux de fourmis sur le pont pendant une heure juste après sa mise en place. La distribution des ouvrières sur chacune des branches du pont est mesurée (une branche est considérée comme choisie quand un test binomial conclut à un plus grand nombre de fourmis sur une des 2 branches; $\alpha=0.05$). De plus, pour 3 colonies, le flux de sorties du nid des fourmis est observé au point de bifurcation du pont pendant une heure.

Influence du marquage d'aire lors de rencontres inter-coloniales

Un papier filtre vierge (9cm \varnothing) est placé sur l'aire de récolte de 8 colonies testées. Après 6 jours, le papier est retiré et disposé au fond d'une boîte de Petri.

10 fourmis d'une colonie (A) et 10 fourmis d'une colonie (B) sont placées, séparément, dans 2 cylindres sur un papier (i) marqué par la colonie A, (ii) marqué par la colonie B ou (iii) non marqué (dispositif 1). Après 5 minutes, les deux cylindres sont retirés et les rencontres sont filmées pendant 1 minute.

Dispositif 1



Une série expérimentale de ces 3 conditions de marquage est réalisée le même jour, chaque condition étant testée dans un ordre aléatoire. Chaque colonie a été utilisée seulement pour une série expérimentale et les groupes de fourmis testées sont remplacés entre chaque condition. Nous avons répété 4 fois la série expérimentale.

Pour chaque fourmi, nous avons mesuré la distance parcourue, le nombre de rencontres, le nombre de comportements agonistiques (morsure ou tentative de morsure) et le nombre de comportements de "jerking" (mouvement saccadé d'arrière en avant du corps de la fourmi). Pour limiter les biais dus à l'agrégation des fourmis près des bords de la boîte de Petri, ces comportements sont relevés dans un cercle virtuel (7cm \varnothing) centré sur le milieu de la boîte. Le nombre de fourmis présentes dans ce cercle a été quantifié toutes les 10 secondes pendant l'ensemble de l'expérience.

RESULTATS

Exploration collective d'une nouvelle aire

Lors de l'exploration d'une nouvelle aire, aucun dépôt actif de substance chimique de la part des fourmis n'est observé. Cependant, on peut mettre en évidence, indirectement, un recrutement puisque, dans 53.8% des expériences, une bifurcation du flux de fourmis vers une des branches du pont a lieu. La sélection de la branche n'est jamais élevée; le pourcentage du flux de fourmis sur la branche gagnante dépasse rarement 70%.

Influence du marquage d'aire lors de rencontres inter-coloniales

Les fourmis se déplacent à une plus grande vitesse sur une aire chimiquement marquée (marquage issu de la colonie mère ou de la colonie étrangère) que sur aire non marquée (Table1).

Table 1. Influence du marquage d'aire sur le comportement des résidentes et des intrusés.

N.A.= test non applicable. Les valeurs partageant la même lettre ne sont pas différentes. Quand aucune lettre n'est inscrite, il n'y a pas de différences entre les marquages.

	Vitesse des fourmis (cm/s)	% agression entre 2 congénères	% agression entre 2 étrangères	% comportement de jerking entre 2 congénères	% comportement de jerking entre 2 étrangères
Aire marquée par la colonie mère	2.99 ^(a,b) (± 0.22) (N=77)	0 (N=97)	45.14 ^(a) (N=144)	4.12 (N=97)	19.44 (N=144)
Aire marquée par la colonie étrangère	3.03 ^(a) (± 0.16) (N=77)	0 (N=106)	46.82 ^(a) (N=173)	5.66 (N=106)	13.29 (N=173)
Aire non marquée	2.4 ^(b) (± 0.16) (N=73)	0.63 (N=159)	28.04 ^(b) (N=189)	8.18 (N=159)	18.87 (N=189)
Statistiques	ANOVA test p<0.05	N.A.	χ^2 test p<0.001	χ^2 test N.S.	χ^2 test N.S.

Sur tous les dispositifs, l'agressivité entre des congénères est inexistante alors que 28 à 48% des rencontres entre étrangères sont agressives. Ces comportements agonistiques sont liés au marquage d'aire (Table 1: $\chi^2=16.2$, p<0.001). En effet, les pourcentages de rencontres agressives entre étrangères sont significativement plus élevés sur les aires

marquées (par la colonie mère ou par une colonie étrangère) que sur un dispositif non exploré (Table 1, Comparaison multiple de type Tukey, $p < 0.005$). **Le marquage d'aire augmente d'une façon ou d'une autre le niveau d'agressivité des fourmis sans spécificité coloniale.**

Néanmoins, l'agressivité inter-coloniale est rarement forte puisqu'elle consiste souvent en tentatives de morsure ou en comportements de "jerking". Les morsures réelles entraînant la mort d'une des combattantes sont exceptionnelles (5 sur 506 rencontres).

Le pourcentage de comportements de "jerking" n'est pas influencé par le marquage chimique de l'aire (Table 1, $p > 0.2$). De plus, il semble que certaines fourmis soient plus enclines à réaliser des "jerkings" puisque tous ces comportements observés sont réalisés par seulement 18.6% des fourmis testées (N=231).

DISCUSSION

L'exploration collective est un moyen pour la société de fourmis de concentrer vers de nouvelles aires un nombre élevé de scouts et dès lors de recruteuses potentielles. Chez une fourmi à recrutement de masse, cela favorise une mobilisation rapide des ouvrières permettant une monopolisation des sources de nourriture. Bien que les ouvrières de *Lasius niger* restent assez dispersées sur l'aire de fourragement (*obs. pers.*), plus de la moitié des expériences de choix binaire ont abouti à la sélection d'un chemin d'exploration. Ces bifurcations de flux montrent l'existence d'un processus d'amplification basé sur un marquage chimique (5). **La relative faiblesse de ces sélections suggère que le niveau d'attraction des marques exploratoires pourrait résulter d'un trade-off entre "agrégation des fourmis pour améliorer l'efficacité de la récolte alimentaire grâce à la coopération" et "dispenser les scouts pour augmenter le potentiel de découverte de nouvelles sources de nourriture".**

Les marques chimiques laissées sur une aire explorée augmentent la fréquence des comportements agonistiques entre fourmis de colonies étrangères. Ces comportements sont généralement des comportements d'intimidation ("jerking" ou tentative de morsures) et ne sont que rarement mortels. Néanmoins, le type de marquage exploratoire (issu de la colonie mère ou étrangère) influence de façon similaire l'agressivité des résidentes et des intruses. **Ce manque de spécificité coloniale suggère fortement que les marques exploratoires chez *Lasius niger* ne sont pas territoriales mais de type "home-range marking".**

Bien que *Lasius niger* ne déposent pas de marques territoriales, cette espèce module malgré tout activement ses relations avec les colonies voisines. Le niveau d'agression des ouvrières sur des étrangères dépend de la présence de congénères avoisinantes (6) et de la localisation des rencontres (7). Ainsi, les morsures et les combats féroces sont habituellement limités aux sites de nourriture et aux environs immédiats du nid (8, 9). Il dépend également de la force relative des voisins (10). Les combats entre colonies peuvent impliquer des tournois avec des comportements de jerking (11) permettant aux fourmis d'intimider et/ou d'estimer leur force relative sans risque de mortalité (observé également chez *Myrmecocystus mimicus* (12) and in *Polyrhachis laboriosa* (13)). **Ce sont les interactions directes entre individus chez *Lasius niger* plutôt que les marques chimiques qui règlent les compétitions intraspécifiques entre les colonies voisines** (également chez *Lasius fuliginosus* (14)). L'absence de marquage territorial faciliterait le partage des aires explorées entre colonies voisines chez *Lasius niger*. Ces colonies agrandiraient ainsi leur espace de fourragement potentiel sans augmenter le coût de sa défense (15). Cela serait très utile pour les fondations en croissance ou les colonies matures pendant les périodes de crises (quand les ressources sont moins abondantes) en augmentant les chances de découverte d'une source alimentaire. **L'espèce *Lasius niger* semble compter sur une stratégie d'"information partagée" par les colonies dans laquelle le réseau de marques exploratoires fournit une évaluation spatio-temporelle des ressources environnementales.**

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée par le Fond National belge de la Recherche Scientifique (grant n°2.4510.01). C. Devigne remercie la fondation Van Buuren pour son soutien financier. C. Detrain est chercheur qualifié au Fonds National de la Recherche Scientifique

REFERENCES

1. Holldobler, B. & Wilson, E.O. (1990) *The ants* - 2. Fourcassié, V. & Beugnon, G. (1988) *Insectes Soc.* 35: 92-105 - 3. Cammaerts, M.C. & Cammaerts, R. (1996) *Behav. Proc.* 37: 21-30 - 4. Hölldobler, B. (1976) *Behav. Ecol. Sociobiol.* 1: 3-44 - 5. Pasteels, J.M., Deneubourg, J.L. & Goss, S. (1987) *Experientia* 54: 155-175 - 6. Sakata, H. & Katayama, N. (2001) *Ecol. Res.* 16: 395-403 - 7. Levings, S.C. & Traniello, J.F.A. (1981) *Psyche* 88: 265-319 - 8. Dobrzanska, J. (1958) *Acta Biol. Exp.* 18: 55-67 - 9. Brian, M.V., Hibble, J. & Kelly, A.F. (1966) *J. Anim. Ecol.* 35: 281-290 - 10. Sommer, K. & Hölldobler, B. (1995) *Anim. Behav.* 50: 287-294 - 11. Czechowski, W. (1984) *Annals Zool.* 38: 81-91 - 12. Hölldobler, B. (1979) *Proc. Am. Phil. Soc.* 123: 211-218 - 13. Mercier, J.L., Lenoir, A. & Dejean, A. (1997) *Behav. Proc.* 41: 39-50 - 14. Gordon, D.M., Richard, E.P. & Thorpe, K. (1993) *Anim. Behav.* 45: 1083-1100 - 15. Hölldobler, B. & Lumsden, C.J. (1980) *Science* 210: 732-739.

INQUILINISME SOCIAL CHEZ LES BOURDONS :
LE CAS DE *BOMBUS (FERNALDAEPSITHYRUS) SYLVESTRIS* LEPELETIER

S. Dronnet¹, X. Simon², J.-C. Verhaeghe^{2,3}, P. Rasmont² et C. Errard¹

¹ Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, CNRS UMR 6035, Faculté des Sciences et Techniques, Parc de Grandmont, 37200 Tours, France. email : dronnet@univ-tours.fr

² Laboratoire de Zoologie, Université de Mons-Hainaut, B-7000 Mons, Belgique.

³ Laboratoire de l'Environnement, Université Libre de Bruxelles, B-5670 Treignes, Belgique.

RÉSUMÉ

Chez les Bombinae, les femelles d'espèces inquilines s'introduisent dans le nid d'une autre espèce de bourdons afin d'assurer la production de leur propre descendance. Une double approche méthodologique a été menée pour comprendre comment les femelles inquilines de *Bombus (Fernaldaepsithyrus) sylvestris* parvenaient à se faire accepter par la colonie hôte (Dronnet *et al.*, soumis). L'approche comportementale s'est basée sur des tests de reconnaissance intra-spécifique chez le bourdon commun *B. terrestris*, mais aussi inter-spécifiques où les inquilines *B. sylvestris* ont été mises en présence de leur hôte naturel *B. pratorum* ou de leur hôte non naturel *B. terrestris*. L'approche chimique a visé à analyser les profils cuticulaires obtenus à partir d'extraits de soies de thorax. Nous avons pu confirmer que les bourdons d'une même colonie de *B. terrestris* partageaient une odeur commune qui, elle, jouerait un rôle important dans la capacité de distinguer les congénères des intrus. D'autre part, les femelles inquilines *B. sylvestris* ne montraient pas d'agressivité envers leurs hôtes naturels et pourraient acquérir progressivement la signature chimique du nid usurpé.

INTRODUCTION

Chez les bourdons, les reines appartenant aux espèces inquilines doivent envahir obligatoirement des colonies d'une autre espèce de *Bombus* pour la production de leur propre descendance et laissent donc aux ouvrières de la colonie hôte le soin de nourrir et d'élever les futurs mâles et femelles sexués (Alford, 1975). D'autre part, chaque sous-genre d'espèces inquilines semble s'être spécialisé dans l'invasion d'un seul sous-genre hôte (Löken, 1984). Cependant, les stratégies générales d'usurpation et d'intégration des colonies hôtes par les bourdons inquilines sont peu connues.

Notre étude (Dronnet *et al.*, soumis) a les objectifs suivants :

- Étudier dans les colonies de *Bombus terrestris* les comportements associés aux processus de discrimination des congénères ;
- Analyser les comportements de l'inquiline *B. sylvestris* (influence du couvain et de l'espèce rencontrée *B. pratorum* (hôte naturel) ou *B. terrestris* (hôte non naturel) ;
- Mettre en relation la nature des interactions comportementales avec les caractéristiques des profils cuticulaires.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Analyse des interactions comportementales

- *Tests d'intrusion*. Pour observer la réaction des ouvrières d'une colonie de *Bombus terrestris* lors de l'entrée d'une intruse de la même espèce, nous avons réalisé un système de « chambre d'intrusion » (Dronnet *et al.*, soumis) entre la sortie du nid et l'extérieur. Ceci permettait à un individu de s'introduire dans le nid sans perturber l'activité des fourrageuses et de la colonie. Les expériences ont été réalisées en lumière rouge, avec les individus tests préalablement endormis. Les intrusions étaient soit homocoloniales (réintroductions d'une congénère (contrôle, n = 10), soit allocoloniales (intrusions d'ouvrières d'une autre colonie, n = 10). La fréquence des interactions agressives a été relevée.

- *Rencontres dyadiques en arène*. Les capacités de discrimination des individus ont été testées lors de rencontres dyadiques au sein d'une arène (boite en plastique 18 x 14.5 x 3

cm) en lumière rouge. Une fois les individus réveillés, les interactions ont été enregistrées pendant dix minutes par vidéo. Chaque type de rencontre était répliqué 10 fois. Les rencontres intra-spécifiques (*B. terrestris* uniquement) étaient intra-coloniales et inter-coloniales. De plus, les interactions inter-spécifiques ont été analysées lors des rencontres des inquilines *B. sylvestris* avec des ouvrières *B. terrestris* (hôte non naturel), ou des ouvrières *B. pratorum* (hôte naturel). Pour les rencontres *B. sylvestris* / *B. terrestris*, les arènes possédaient ou non en leur centre un morceau de couvain issu de la colonie *B. terrestris*. Le test binomial unilatéral a été utilisé pour comparer le nombre d'occurrence des comportements entre les types de rencontres.

Analyse des profils chimiques cuticulaires

Les profils chimiques cuticulaires ont été obtenus par chromatographie en phase gazeuse à partir d'extraits de soies du thorax. Les soies ont été prélevées (a) sur cinq ouvrières issues de chacune des quatre colonies *B. terrestris* étudiées lors des tests comportementaux ; (b) sur huit femelles inquilines *B. sylvestris* avant introduction dans un autre nid de *B. terrestris* et 24 heures après leur introduction, (c) sur huit ouvrières *B. terrestris* de ce même nid. Les composés cuticulaires ont été identifiés en comparant les profils avec ceux obtenus à partir des antennes ou des pattes (Oldham et al., 1994). Les pourcentages relatifs de chaque pic ont été calculés et traités par une analyse discriminante (Statistica© pour Windows).

RÉSULTATS

Discrimination coloniale chez *Bombus terrestris*

- *Intrusions dans le nid.*

Les ouvrières allocoloniales *B. terrestris* étaient significativement plus attaquées par les ouvrières résidentes que ne l'étaient les ouvrières homocoloniales (test binomial unilatéral, $p < 0.001$). Durant ces attaques, elles se sont déplacées rapidement dans le nid et ont quitté le nid dans les 30 minutes suivant l'intrusion.

- *Réactions comportementales en arène.*

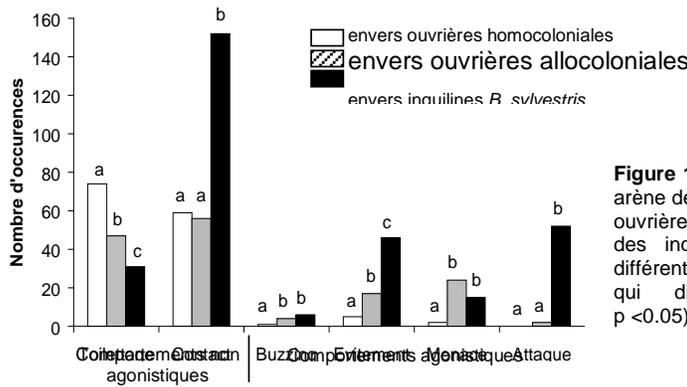


Figure 1 : Réactions comportementales en arène des ouvrières *B. terrestris* envers des ouvrières homocoloniales, allocoloniales ou des inquilines *B. sylvestris* (n = 10, les différentes lettres représentent les groupes qui diffèrent significativement avec $p < 0.05$).

Les interactions entre congénères n'étaient pas agressives alors qu'elles l'étaient plus fréquemment entre individus allocoloniaux (figure 1). En revanche, les ouvrières *B. terrestris* effectuaient de brefs contacts antennaires, évitaient et attaquaient les femelles inquilines significativement plus souvent ($p < 0.001$) que face à leurs conspécifiques.

- *Analyse des profils cuticulaires*

L'analyse discriminante réalisée pour les quatre colonies utilisées lors des tests d'intrusion et d'arène a montré que les colonies étaient séparées en quatre groupes distincts (figure 2, $F = 8.38$, $dl = 30, 21$; $P < 0.001$).

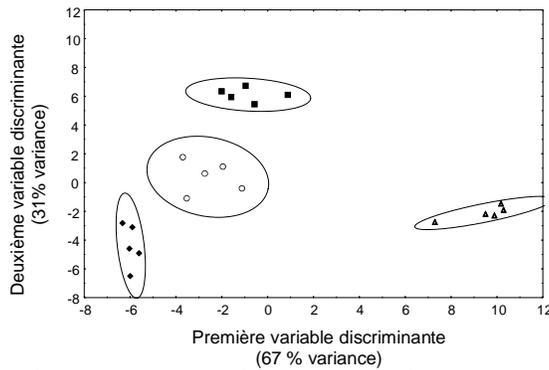


Figure 2 : Analyse discriminante réalisée à partir des profils cuticulaires d'ouvrières appartenant à quatre colonies *B. terrestris* (ellipse de confiance à 95%).

Nos résultats ont indiqué que les ouvrières *B. terrestris* pouvaient être séparées selon leur colonie d'origine sur la base de la variance de leurs composés cuticulaires. De plus, les profils chimiques de larves, cocons et échantillons de cire étaient similaires à ceux des ouvrières (données non présentées).

Inquiline *Bombus sylvestris*

Influence du couvain

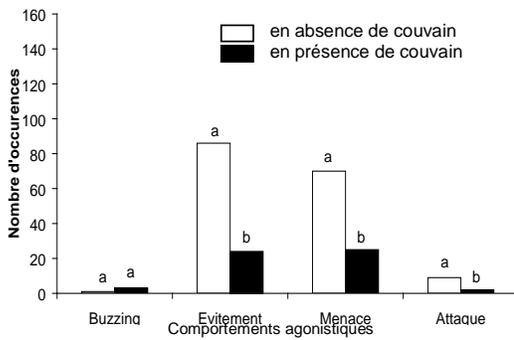


Figure 3 : Réactions comportementales des inquilines *B. sylvestris* envers les ouvrières *B. terrestris*, en présence ou non de couvain dans l'arène (n = 10, les différentes lettres représentent les groupes qui diffèrent significativement avec p < 0.05). Seuls les comportements agonistiques ont pu être visibles par l'expérimentateur.

Influence de l'espèce

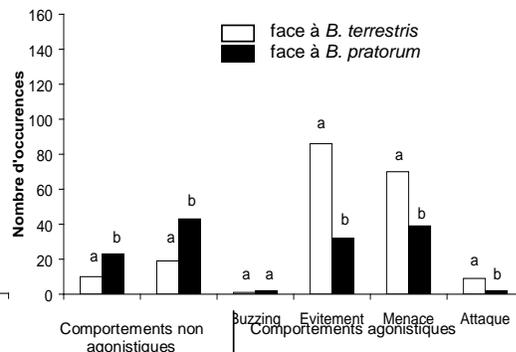


Figure 4 : Réactions comportementales, en arène, des inquilines *B. sylvestris* envers des ouvrières *B. terrestris* (hôte non-naturel) ou *B. pratorum* (hôte naturel) (n = 10, les différentes lettres représentent les groupes qui diffèrent significativement avec p < 0.05).

La présence de couvain de *B. terrestris* au centre de l'arène a affecté le comportement des femelles inquilines : celles-ci étaient significativement moins agressives envers les ouvrières (figure 3, menace, p < 0.001 ; attaque, p < 0.05) que lorsqu'il n'y avait pas de couvain. De plus, nous avons pu observer un nouveau comportement réalisé par les femelles inquilines : le frottement de la face ventrale de l'abdomen sur le couvain.

Les interactions comportementales des inquilines avec *B. terrestris* et *B. pratorum* ont révélé une nette différence selon que l'espèce hôte était naturelle ou non-naturelle. Les inquilines étaient moins fréquemment agressives envers *B. pratorum* qu'envers *B. terrestris* (figure 4, évitement, p < 0.001, menace et attaque, p < 0.05), et engageaient au contraire plus de contacts antennaires avec leur hôte naturel.

Évolution de la signature chimique cuticulaire des inquilines

Avant introduction dans le nid hôte, l'analyse des profils cuticulaires a révélé que les inquilines avaient quantitativement peu de composés (données non présentées).

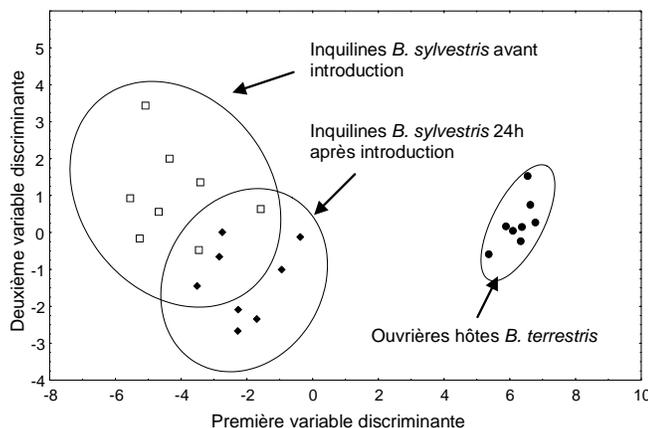


Figure 5 : Analyse discriminante réalisée à partir des profils cuticulaires des inquilines *B. sylvestris* 24 heures après introduction dans un nid de *B. terrestris* (ellipse de confiance à 95%).

Les individus étaient regroupés pour former trois groupes (figure 5) : les ouvrières *B. terrestris*, les inquilines avant introduction dans le nid et les inquilines 24 heures après introduction ($F = 3.47$; $dl = 28, 13$; $p < 0.01$). La première variable discriminante (95% de la variance) a séparé les ouvrières de *B. terrestris* des inquilines avant et après introduction (respectivement : $F = 11.88$, $p < 0.001$; $F = 7.81$, $p < 0.01$). Bien que la différence ne soit pas significative, on observe une tendance à la séparation des deux groupes d'inquilines.

CONCLUSION

Ces études expérimentales ont montré que les ouvrières *B. terrestris* sont capables de reconnaître et de tolérer les congénères mais qu'elles agressent les non-congénères. Cette discrimination serait basée sur la détection de la variation dans les proportions des composés cuticulaires. Comme l'avait déjà supposé Free en 1958, chaque colonie possède une signature chimique qui lui est propre : les composés cuticulaires ont un rôle clef dans la reconnaissance coloniale. Le contexte environnemental influence ainsi le degré des réactions agonistiques : celles-ci augmentent lorsque l'on passe d'interactions en absence de couvain, à celles avec couvain en arène, jusqu'à être importantes au sein du nid lui-même où l'odeur de la colonie est très présente.

Les stratégies d'usurpation de *B. sylvestris* révèlent que les inquilines montrent peu ou pas d'agressivité envers leur hôte naturel (voir aussi Küpper et Schwammberger 1995) mais qu'elles recherchent au contraire le contact avec leur hôte naturel et le couvain. De plus, leur profil cuticulaire, assez discret avant leur intrusion dans un nid, évoluerait avec le temps vers celui de leur hôte afin de faciliter leur intégration au sein de la colonie.

RÉFÉRENCES

- Alford D.V., 1975. Bumblebees. London, Davies-Poynter, 352 pp.
 Dronnet S., Simon X., Verhaeghe J.-C., Rasmont P., Errard C., soumis.
 Free J.B., 1958. The defence of bumblebee colonies. *Behaviour*, 12, 233-242.
 Küpper, G., Schwammberger K.H., 1995. Social parasitism in bumble bees (Hymenoptera, Apidae): observations of *Psithyrus sylvestris* in *Bombus pratorum* nests. *Apidologie*, 26, 245-254.
 Löken A., 1984. Scandinavian species of the subgenus *Psithyrus* Lapeletier (Hymenoptera: Apidae). *Entomol. Scand.*, suppl., 23, 1-45.
 Oldham N.J., Billen J., Morgan E.D., 1994. On the similarity of the Dufour gland secretion and the cuticular hydrocarbons of some bumblebees. *Physiol. Entomol.*, 19, 115-123.

EFFETS DE L'IMIDACLOPRIDE SUR L'APPRENTISSAGE CHEZ L'ABEILLE *APIS MELLIFERA*

M. Gauthier, J. Pradel, S. Raymond, M. Lambin

Laboratoire de Neurobiologie de l'Insecte, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex.

RÉSUMÉ

L'imidaclopride est un insecticide de la famille des néonicotinoïdes qui agit comme un activateur des récepteurs nicotiques, présents uniquement dans le système nerveux central de l'insecte. Des antagonistes des récepteurs nicotiques injectés dans le cerveau de l'abeille perturbent l'apprentissage et la mémorisation du conditionnement olfactif de la réponse d'extension du proboscis (REP). Nous faisons l'hypothèse que l'imidaclopride, à des doses sublétales, se comporte comme un agoniste des récepteurs et améliore les capacités d'apprentissage et de mémoire chez l'abeille. L'effet de la molécule a été testé sur deux types d'apprentissage, l'habituation de la REP et le conditionnement olfactif discriminatif de cette réponse. La molécule facilite l'habituation de la REP 15 mn, 30 mn et 1 h après une application topique sur le thorax (1 μ l; 1,25 ng / abeille). Comparée aux témoins recevant du solvant, la molécule injectée dans l'hémolymphe cérébrale (0,5 μ l; 0,127 ng / abeille) ne modifie pas les capacités d'apprentissage olfactif discriminatif ni les capacités de rétention testées 1h et 6h après le conditionnement. Le taux de réponses conditionnées est augmenté de façon aspécifique au délai de 24 heures. Ces résultats montrent qu'une activation du système cholinergique facilite l'apprentissage non associatif (habituation de la REP) et n'induit pas de modifications majeures de l'apprentissage associatif de type pavlovien (conditionnement olfactif discriminatif).

INTRODUCTION

Un nouvel insecticide est utilisé en enrobage des semences dont la matière active est l'imidaclopride, une molécule appartenant à la famille des néonicotinoïdes. Cette molécule, très toxique chez l'insecte, exerce son action par le biais de l'activation des récepteurs nicotiques présents dans le cerveau et impliqués dans la transmission synaptique au sein des voies utilisant l'acétylcholine comme neurotransmetteur (Buckingham et al. 1997; Déglise et al. 2002; Liu et Casida 1993). Des injections intracérébrales d'antagonistes nicotiques chez l'abeille nous ont permis de montrer que le blocage des voies cholinergiques perturbe les processus d'apprentissage et de mémorisation d'un conditionnement olfactif (Cano Lozano et al. 2001). Nous faisons l'hypothèse que l'imidaclopride, à des doses sublétales, se comporte comme un agoniste des récepteurs nicotiques et pourrait induire ainsi une facilitation de l'apprentissage. L'effet de la molécule à faible dose a donc été recherché sur l'habituation de la réponse d'extension du proboscis (REP) et sur le conditionnement olfactif de ce réflexe.

La REP est facilement provoquée par la stimulation des antennes avec une goutte d'eau sucrée. Lorsque cette stimulation est répétée plusieurs fois à de courts intervalles de temps et sans que l'abeille soit nourrie, la REP finit par disparaître. Il s'agit d'un apprentissage très simple, entrant dans la catégorie des apprentissages non-associatifs, appelé habituation.

La stimulation gustative des antennes peut également être couplée à une stimulation olfactive selon une procédure pavloviennne. Il s'agit alors d'un apprentissage associatif dans lequel la stimulation gustative ou stimulus inconditionnel (SI) constitue le renforcement de la stimulation olfactive ou stimulus conditionnel (SC). Du fait de l'association, l'odeur acquiert la valeur du SI et devient susceptible de provoquer la REP lorsqu'elle est présentée seule. Un conditionnement discriminatif est ici utilisé dans lequel une odeur associée au stimulus sucré (SC+) est présentée en alternance avec une odeur non renforcée (SC-). Ce type de protocole permet de tester les capacités de discrimination de l'abeille et la spécificité de l'association SC-SI.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des abeilles butineuses *Apis mellifera*, prélevées à l'entrée de la ruche, sont maintenues individuellement en contention dans de petits tubes laissant la tête et les pattes prothoraciques libres de tout mouvement. Les abeilles sont soumises à un jeûne de deux heures avant le début des expérimentations.

L'imidaclopride (Cluzeau, France) a été dissous dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO; Sigma, St Louis, MO) pour obtenir une solution à 10^{-1} M. La concentration finale de la solution a été obtenue après dilution de la solution mère dans du liquide physiologique. Les groupes contrôles sont traités avec du DMSO dilué dans du liquide physiologique dans les mêmes proportions.

Le produit a été appliqué de façon topique sur le thorax (1 μ l; 1,250 ng / abeille soit une concentration de $5 \cdot 10^{-6}$ M) dans les expériences portant sur l'habituation. Nous avons précédemment montré que cette dose ne modifie pas les composantes gustative et motrice du réflexe (Lambin et al. 2001). Une injection dans l'hémolymphe cérébrale (0,5 μ l; 0,127 ng / abeille, soit une concentration de 10^{-6} M) a été effectuée dans les expériences portant sur le conditionnement olfactif.

Habituation. Les abeilles sont soumises à la stimulation répétée d'une seule antenne avec de l'eau sucrée (50% p/v) avec un intervalle de 1 mn entre les stimulations. Le critère d'habituation est de trois stimulations gustatives consécutives ne provoquant pas la REP. Lorsque ce critère est atteint, l'antenne non utilisée est stimulée avec l'eau sucrée afin de vérifier que le réflexe est toujours présent et d'écarter l'éventualité d'une fatigue musculaire. Les abeilles ne répondant pas à ce test de récupération sont éliminées. L'apprentissage est effectué 15 mn, 30 mn et 1h après l'application de la solution chez trois lots d'abeilles indépendants.

Conditionnement olfactif discriminatif. L'odeur de café et le géranjol sont utilisés aléatoirement comme odeur renforcée (SC+) et non renforcée (SC-). Chaque odeur est présentée pendant 6 sec au niveau des antennes. Lorsque l'odeur est renforcée, la stimulation gustative des antennes est appliquée 3 sec après le début de la stimulation olfactive pour une durée de 6 sec. L'extension du proboscis est récompensée par le prélèvement d'une goutte de sucre par l'abeille pendant 6 sec. La séance de conditionnement comporte 3 SC+ et 3 SC-, présentés dans un ordre aléatoire. Les tests consistent à présenter le SC+ et le SC-, en ordre aléatoire, 1 h, 6 h et 24 h après l'apprentissage sans associer de renforcement alimentaire. Le conditionnement est effectué 30 mn après l'injection de la solution dans l'hémolymphe cérébrale.

ANALYSE DES DONNÉES

Les données relatives à l'habituation ont été traitées selon une analyse de variance (ANOVA) et un test t de Student. Concernant l'acquisition et la rétention du conditionnement olfactif, un test de χ^2 a été effectué sur le nombre de réponses conditionnées relevées dans chacun des groupes.

Les valeurs de p inférieures 0,05 sont considérées comme significatives.

RÉSULTATS

Habituation. Traitées à la dose de 1,25 ng, les abeilles recevant de l'imidaclopride atteignent le critère d'habituation de la REP en un nombre d'essais significativement plus faible que celui enregistré chez les abeilles traitées au solvant ou ne recevant pas de traitement (Fig. 1). Le délai n'a pas d'effet sur la facilitation observée, elle est maximale dès le quart d'heure qui suit l'application du produit.

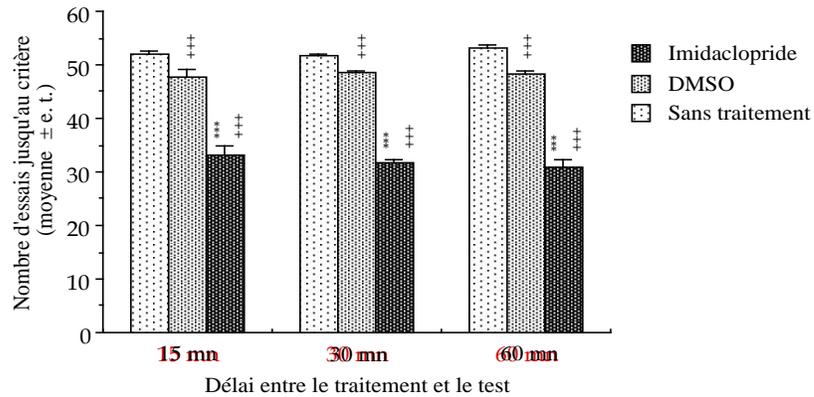


Figure 1: nombre d'essais pour atteindre le critère d'habituation chez les animaux témoins (sans traitement), ayant reçu une application topique de DMSO ou d'imidaclopride (1,25 ng / abeille) 15 mn, 30 mn ou 1 h avant l'apprentissage. n = 20 dans chaque groupe. +++: comparaison avec les témoins sans traitement; p < 0,001 ***: comparaison avec DMSO; p < 0,001

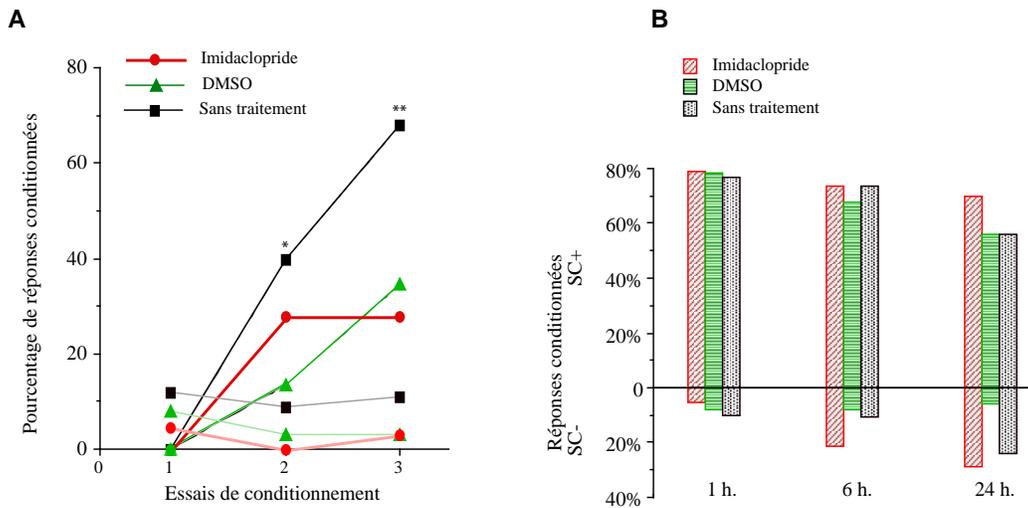


Figure 2: effets de l'injection d'imidaclopride dans l'hémolymphe cérébrale réalisée 30 mn avant le conditionnement sur le pourcentage de réponses conditionnées à l'odeur renforcée (SC+, traits pleins) et à l'odeur non renforcée (SC-, pointillés) obtenu lors de l'acquisition (A) et lors des tests de rétention effectués 1h, 6h et 24h après l'apprentissage (B).

A: Imidaclopride et Sans traitement n = 39, DMSO n = 37;

B: Imidaclopride délais 1h et 6h n = 38, délai 24h n = 29; DMSO délais 1h et 6h n = 37, délai 24h n = 29; Sans traitement délai 1h n = 39, délai 6h n = 38, délai 24h n = 29

* p < 0.05; ** p < 0.01 (Comparaison du taux de réponses au SC+ entre les 3 groupes)

Conditionnement olfactif. Les trois groupes d'abeilles apprennent à discriminer l'odeur associée au renforcement (SC+) de l'odeur non renforcée (SC-) comme le montrent les pourcentages de réponses conditionnées reportés dans la figure 2A. Cependant, l'évolution des performances est significativement différente entre les trois groupes (au 2^{ème} essai,

$p < 0.05$, au 3^{ème} essai $p < 0.01$). La performance finale des groupes recevant le solvant et l'imidaclopride (respectivement 28 et 35%) est inférieure à celle des témoins sans traitement (74%). Ceci laisse supposer que l'injection d'une solution dans l'hémolymphe cérébrale entraîne une perturbation des animaux. Cette perturbation ne peut cependant pas être interprétée comme un déficit d'apprentissage en regard des taux de réponses au SC+ et au SC- obtenus 1h et 6h après le conditionnement chez les trois groupes (Figure 2B). Après 24h, le taux de rétention diminue chez les groupes DMSO et témoin, correspondant probablement à un début d'oubli. Ceci ne s'observe pas chez le groupe traité à l'imidaclopride mais le taux de réponse élevé au SC- montre une perte de la discrimination et suggère une activation aspécifique des animaux (différence non significative entre les 3 groupes).

CONCLUSION

L'imidaclopride est une molécule toxique pour l'insecte, y compris pour l'abeille mais cet effet dépend de la durée d'exposition et de la dose reçue. Il a été montré récemment qu'une ingestion chronique (14 jours) d'une faible dose (1,5 ng / abeille) induit des perturbations de l'apprentissage olfactif (Decourtye, 2002). Une dose équivalente (1,25 ng/ abeille) en application unique sur le thorax n'a pas d'effet sur le seuil de la perception gustative et provoque une augmentation de l'activité locomotrice chez l'abeille (Lambin et al. 2001). Nous montrons ici que cette même dose facilite l'habituation de la réponse d'extension du proboscis. La dose dix fois plus faible (0,127 ng / abeille) qui a été injectée directement dans l'hémolymphe cérébrale n'induit pas d'effet perturbateur sur l'acquisition et la rétention d'un conditionnement olfactif discriminatif. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Decourtye (2002) après une ingestion unique d'imidaclopride à la dose de 0,12 ng. Un léger effet facilitateur aspécifique est observé au délai de 24 h qui pourrait être mis en relation avec une augmentation du métabolisme neuronal provoqué par la molécule (Armengaud et al. 2000). Ainsi, notre hypothèse que l'imidaclopride à une dose sublétales facilite l'apprentissage est vérifiée, au moins en ce qui concerne un apprentissage non associatif. Nous n'excluons pas qu'une facilitation du conditionnement olfactif puisse être observée avec une dose de 1,25 ng / abeille, renforçant notre hypothèse que l'imidaclopride se comporte comme un agoniste du système cholinergique.

REFERENCES

- Armengaud, C., Causse, N., Aït-Oubah, J., Ginolhac, A., Gauthier, M., 2000, Functional cytochrome oxidase histochemistry in the honeybee brain. *Brain Res*, 24, 859(2), 390- 393.
- Buckingham S D, Lapied B, Le Corrionc H, Grolleau F, Satelle B. 1997. Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. *J Exp Biol* 200: 2685-2692.
- Cano Lozano, V., Armengaud, C., Gauthier, M., 2001 Memory impairment induced by cholinergic antagonists injected into the mushroom bodies of the honeybee. *J. Comp. Physiol. A*, 187:249-254.
- Decourtye, A., Etude de l'impact de produits phytopharmaceutiques sur la survie et l'apprentissage associatif chez l'abeille domestique (*Apis mellifera*). Thèse de l'Université de Paris-sud (XI), 2002.
- Déglise, P., Grünewald, B., Gauthier, M. 2002 The insecticide imidacloprid is a partial agonist of the honey bee neuronal nicotinic receptor. *Neurosci. Lett.* 321 (1-2):13-16
- Lambin, M., Armengaud, C., Raymond, S., Gauthier, M. 2001 Imidacloprid-induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Archives. Insect Biochem. Physiol.* 48:129-134
- Liu M-Y, Casida J E. 1993. High affinity binding of [³H]Imidacloprid in the insect acetylcholine receptor. *Pestic Biochem Physiol.* 46: 40-46.

NECTAR FEEDING BY THE ANT *CAMPONOTUS MUS*: DECISION-MAKING PROCESS DURING FORAGING FOR DIFFERENT BODY SIZES

V. Medan, R. Josens

Grupo de Insectos Sociales, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

ABSTRACT

We addressed the question of whether the decision-making process during nectar foraging is modified according to the body size of the nectivorous ant *Camponotus mus*. Individual foragers collected sucrose solution (30%w/w) in three different reward conditions: 1) *ad libitum*, 2) at a regulated flow feeder (1 μ l/min) and 3) *ad libitum* with addition of tilose, which increases the viscosity of solution while keeping the concentration constant. For all series there was no limit in the food volume offered, such that only the individual decision of abandoning the arena determined the time spent in foraging and the final volume loaded. Feeding time increased with ant weight in all three treatments. The highest increase was found in the tilose treatment. In this series the difference in feeding time between smaller and larger ants was more pronounced than in other series. In the regulated flow experiment, the pauses while feeding tended to be longer for larger ants. Pause time was shorter in the *ad libitum* condition independently of ant body size. The crop load attained at the end of the foraging visit increased with ant weight in all series. Only for the regulated flow condition did larger ants decrease their relative crop load (Burden) compared to that of smaller ants. In the ant *Camponotus mus*, both the time invested at the food source and the crop load attained at the end of the foraging bout vary with ant weight as a response to different characteristics of the nectar source. The differences found in the behavioral responses recorded could thus be indicative of a foraging specialization dependent on ant size.

INTRODUCTION

Camponotus mus ants feed on insects and carbohydrate solutions obtained from Homopteran honeydew and extrafloral nectaries. In such a foraging context, the concentration of the sucrose solution collected affects the behavior of the ants, in particular the time spent at the food source and the crop load attained in a foraging bout (Josens *et al.*, 1998).

Camponotus mus presents a broad range of body sizes. The largest ants can be five times heavier than the smallest ones. Differences due to forager body size in ants have been extensively studied in the context of foraging activity, but little is known for nectar loads. When feeding on an *ad libitum* sucrose solution (60% w/w), the ants' crop load increases with the ants' weight, which is an indicator of body size. However, for the same concentration of sucrose solution, no relationship between feeding time and ant weight was found (Josens, 2002).

In experiments with sugar solution sources where there is no limit in the volume offered to individual ants, the decision of abandoning the arena determines the time spent in foraging and especially, the final volume loaded. For example, small scouts of *Lasius niger* seem to have a criteria based on the volume ingested. This has been observed in ants foraging at two different nectar sources (*ad libitum* and through a cotton-wool cork), which attain in both cases the same volume, but stay three times longer feeding at the cotton source (Mailleux *et al.*, 2000). The interplay between ant size, decision-making and food source profitability during nectar collection, is a topic that remains elusive, as well as the decision criteria for ending the visit to different food sources, which could vary with the recruited forager sizes. The goal of this work is therefore to analyze the decision-making and the behavioral responses of workers with different body sizes while foraging on sucrose sources of different characteristics.

In our work, the conditions of the feeding source were presented by three different ways. Firstly, solution was offered in a 30%w/w *ad libitum* source. The profitability was varied either

by changing the flow rate of a sucrose solution delivered by an regulated rate feeder or by adding tilose to the sucrose solution in order to increase its viscosity. In all treatments the gustative input was kept constant as the same concentration (30%) was used. We measured variations in foraging behavior in ants of different sizes as depending on food source conditions.

MATERIALS AND METHODS

In order to analyze how food source profitability modifies the behavior of workers of different body size we recorded different behavioral variables during feeding. The colony was kept in the laboratory for one year, with a natural light-darkness cycle and an ambient temperature of $25 \pm 3^\circ \text{C}$. Ants could freely move inside their nest and had access to an *ad libitum* water source. Between experiments, the colony was fed with honeywater solution and freshly killed insects (cockroaches and honeybees). All measurements were performed with the colony being deprived of carbohydrates for a week. Each assay was commenced by connecting the tray to a small foraging arena by a wooden bridge, allowing the access of a small group of foragers (around 6 ants). Once the foraging group returned to the nest carrying sucrose solution, single recruited ants were allowed access to the bridge. Starting from this point, individual foragers were weighted before and after foraging at the arena where the 30% sucrose solution was offered. For each individual ant, we recorded the feeding time (s) (the time during which the mandibles of the ant contacted the sucrose solution), the pause time (s) (time between two contacts with the solution in the same visit) and the crop load (μl) attained at the end of the foraging bout. The latter was obtained from the difference between the final and the initial ant weight and by dividing the net load weight by the density of the solution obtained from tables. To measure transport capacity, the Burden Index (Rissing, 1982) was calculated as $[(\text{load weight} + \text{ant weight}) / \text{ant weight}]$. This index has a minimum value of 1, and increases with the load transported. Behavioral variables were analyzed in relation to ant weight.

At the foraging arena, ants found a 30%w/w sucrose solution offered in a volume as much as ant fed, i.e. the volume offered never was the limit that determined the end of a feeding bout. Three different experimental series were done to have three different source conditions: 1) **AL** (*ad libitum*): ants could drink unrestrictedly from the 30% sucrose solution; under similar condition ants (between 4 and 13 mg) presented an average intake rate of approximately 3 ml/min (Josens *et al.*, 1998); 2) **RF** (*regulated flow*): ants had access to an regulated feeder (Núñez, 1966) whose flow rate was set at $1\mu\text{l}/\text{min}$, i.e. at a value that is the third of the average intake rate for an *ad libitum* situation; 3) **T** (*tilose*): ants had access to a 30% sucrose solution to which a minimum amount of tilose was added. This polysaccharide (PM: 10.000) can increase significantly the viscosity of a solution without appreciably affecting its density. Tilose was added until the viscosity of a 60% sucrose solution was attained (Farina & Josens, 1994). This viscosity value reduces in average the intake rate at the level of the RF Series (Josens *et al.*, 1998).

The **AL** series gave a reference for the values of the behavioral variables recorded when the profitability of the source was maximal. Intake rates for a 60% w/w sucrose solution increases with ant body size (Josens, 2002). If we assume that the same tendency applies to a 30% solution, then the **RF** series with a low flow rate at the source should affect more strongly larger ants than smaller ones because their intake rate would be relatively more reduced than that of smaller ants. Finally, the **T** series was performed to assess the effect of viscosity on the foraging behavior of ants of different sizes. As smaller ants are likely to possess a food canal with a smaller radius, we expected that an increase in viscosity should affect them more than larger workers.

RESULTS

In all three series, the *feeding time* increased with ant weight. The **T** series yielded the steepest slope while **AL** series yielded the less pronounced one. When the solution was *ad libitum* but its viscosity was increased (**T** series), the difference in feeding time between

smaller and larger ants was greater than in the other two series. Moreover, the proportion of feeding time related to the time spent at the source seems to decrease with the decrease of ant size.

The *pause duration* varied with the characteristics of the offered food source. The shorter pauses were found for the **AL** series, where no relationship between ant body size and pause duration was found. The **RF** series yielded an increment of pause duration compared to AL series. This increment tends to be more pronounced for larger ants. However for the **T** series, in spite of a great variability, it seems that minor ants showed the most increased pause time.

The *crop loads* attained at the end of the foraging visit increased with the ant weight in all three series. The relative load achieved (*burden*) was highest for the **AL** condition, although we could not find any relationship with ant body size. The same happened with the **T** series although the average burden values were lower than those in the **AL** series. In the **RF** series, the burden decreased with increase body size.

CONCLUSIONS

Our results show that in the ant *Camponotus mus*, both the time invested at the food source and the crop load attained at the end of the foraging bout varied with ant weight as a response to different characteristics of the nectar source. The differences found in behavioral responses indicate that workers of different body-sizes assign different relevance to different behavioral parameters during nectar foraging according to the profitability of the food source exploited. The differences in the decision-making recorded could be indicative of a foraging specialization dependent on ant size.

Our next step is to study whether differences in feeding dynamics and foraging behavior in relation to body size are associated with a division of labor and task flexibility whose aim would be to increase foraging efficiency of the colony.

ACKNOWLEDGMENTS

Our investigations were supported by the CONICET, Argentina; and Ecos-SEPCyT (A01-B01).

REFERENCES

- Farina, W.M. and Josens R.B. (1994). Food source profitability modulates compensatory responses to a visual stimulus in the hawk moth *Macroglossum stellatarum* (Lepidoptera). *Naturwissenschaften* 81: 131-133.
- Josens, R.B., Farina W.M. and Roces F. (1998). Nectar feeding by the ant *Camponotus mus*: Intake rate and crop filling as a function of sucrose concentration. *J. Insect Physiol.* 44: 579-585.
- Josens, R.B. (2002). Nectar feeding and body size in the *Camponotus mus*. *Insectes sociaux* 49: (in press).
- Mailleux, A.C., Deneubourg, J.L. and Detrain, C. (2000). How do ants assess food volume? *Animal Behaviour* 59: 1061-1069.
- Núñez, J.A. (1966). Quantitative Beziehungen zwischen den Eigenschaften von Futterquellen und dem Verhalten von Sammelbienen. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 53: 142-164.
- Rissing, S.W. (1982) Foraging velocity of seed-harvester ants, (*Veromessor pergandei*) (Hymenoptera:Formicidae). *Environmental Entomology* 11: 905-907.

ÉTUDE DU POLYMORPHISME CHEZ LE TERMITE *RETICULITERMES GRASSEI* :
UNE APPROCHE MULTIDISCIPLINAIRE

M. Kutnik, P. Uva, J.-L. Clément, A.-G. Bagnères

I.R.B.I. UMR CNRS 6035 - Univ. Tours, Faculté des Sciences et Techniques,
Parc de Grandmont. 37200 Tours.

L'espèce *Reticulitermes grassei* se rencontre de façon naturelle dans le sud-ouest de la France, et dans la péninsule ibérique, à l'exception de la partie catalane. Elle tend de plus en plus à envahir le milieu urbain. Son comportement complexe dans ce milieu et la structure variable de ses colonies posent la question de son identité propre.

Cette étude a débuté par la réalisation d'une cartographie précise de l'espèce en zone naturelle ainsi qu'en zone urbaine, et l'observation de la structure des colonies dans différents biotopes. Une phylogénie de l'espèce basée sur l'analyse de séquences d'ADN mitochondrial (fragment ND1-16s) a permis de séparer plusieurs groupes selon leur provenance géographique. Cette observation coïncide par ailleurs avec l'important polymorphisme enzymatique observé auparavant, ainsi qu'avec les variations d'agressivité intraspécifique relevées dans les différentes aires de répartition.

MODIFICATION DU MILIEU SOCIAL ET RECONNAISSANCE COLONIALE
CHEZ DEUX ESPECES DE FOURMIS :
MYRMICA RUBRA L. ET *MYRMICA RUGINODIS* NYL.

K. Malvaux, S. Licois, A.M. Le Roux, G. Le Roux.

I.R.B.I., CNRS-UMR 6035, Faculté des sciences Parc de Grandmont, 37200 Tours, France.

RESUME

Des expériences d'adoptions interspécifiques puis de réadoption par les congénères nous ont permis de confirmer la dissymétrie sur le plan comportemental entre les espèces *M. ruginodis* et *M. rubra* montrée par les résultats de Le Roux (1980). Suite à une étude préliminaire de Le Roux (1987) et du travail de Vienne et al (1993), nous avons analysé les produits cuticulaires de ces animaux ainsi que ceux de groupes témoins non manipulés, en chromatographie en phase gazeuse. Ces études nous ont indiqué qu'il n'y avait qu'une faible quantité d'hydrocarbures sur les nymphes de *M. ruginodis* et que des différences importantes de spectres existaient chez les imagos des deux espèces.

INTRODUCTION :

La période de l'émergence représente un moment critique pour l'acquisition de l'odeur coloniale. L'adoption de nymphes âgées (48 heures ou moins avant l'émergence) entre *Myrmica rubra* et *Myrmica ruginodis* nous montre que seule l'adoption de nymphes de *M. ruginodis* par des ouvrières de *M. rubra* est possible. Les jeunes imagos - soignés plusieurs jours par leurs hôtes - réintroduits dans leur colonie d'origine sont alors traités comme étrangers par celle-ci.

Dans cette étude nous avons cherché quelles étaient chez les imagos et le couvain les caractéristiques de l'équipement en hydrocarbures cuticulaires, base de la reconnaissance chez les fourmis. Nous avons essayé de comprendre pourquoi l'adoption était possible dans un cas et pas dans l'autre chez ces deux espèces proches phylogénétiquement mais qui diffèrent par leur modèle d'organisation sociale (*M. ruginodis* monogyne et *M. rubra* polygyne). Les nymphes de *M. ruginodis* auraient-elles un "profil d'odeurs" particulier qui faciliterait leur adoption ?

MATERIEL ET METHODES :

Les deux espèces utilisées tant comme résidentes que comme intruses sont des Formicidés de la sous-famille des Myrmicines *Myrmica rubra* L (polygyne) et *Myrmica ruginodis* Nyl (monogyne).

Tests d'adoption et de réadoption :

Des groupes de 30 ouvrières âgées d'environ six mois (très pigmentées), sans reine, ont été constitués. Vingt tests d'adoption, consistant à introduire dans ces groupes d'une à cinq nymphes âgées de *M. ruginodis* chez *M. rubra* et réciproquement ont été effectués. Le comportement des ouvrières est observé en continu pendant 15 minutes dès l'introduction ; on poursuit l'observation en effectuant plusieurs relevés ponctuels pour savoir si les nymphes ont été ou non adoptées.

Les nymphes sont considérées comme adoptées lorsqu'elles sont emmenées au fond du nid et soignées par les résidentes. Les imagos "intrus" adoptés qui ont éclos dans leurs nids d'adoption sont ensuite réintroduits dans leur groupe d'origine : nous observons pendant 30 minutes le comportement des résidentes envers ces imagos.

Un indice moyen d'agressivité *i* a ensuite été calculé pour chaque type d'expérience. Un coefficient de 0 à 4 est attribué à chaque acte (contact antennaire, ouverture de mandibules, morsure courte, morsure longue, tentative de piqûre) : $i = \frac{(\sum \text{coefficient} \times \text{nombre d'actes})}{\text{nombre total d'actes}} \times 100$.

Chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) :

Une analyse des produits cuticulaires de 29 individus (nymphe âgées, imagos de 7 jours nés dans leur colonie et servant de témoins, ouvrières âgées, individus récupérés après adoption et après réadoption) a été effectuée. Les pics sortis entre 205°C et 300°C ont été analysés. La quantité d'hydrocarbures pour l'ensemble du profil a été calculée et une comparaison a été effectuée entre les différents profils. L'indice de similitude de Nei a été calculé pour comparer les proportions relatives des hydrocarbures entre les différents profils. Un test statistique non paramétrique de Mann-Whitney pour groupes indépendants a ensuite été effectué ($p < 0,05$) pour comparer les quantités d'hydrocarbures.

RESULTATS

Tests comportementaux :

a) Adoption interspécifique :

Lors des tests d'adoption de nymphes de *M. ruginodis* par des ouvrières âgées de *M. rubra*, nous avons observé très peu de signes d'agressivité ($i = 0,1$). Les nymphes ont été très facilement adoptées (78 %). Les nymphes n'ont donc pas été considérées comme intruses par les *M. rubra*. En revanche, pour les adoptions de nymphes de *M. rubra* par *M. ruginodis*, nous avons observé des comportements agressifs ($i = 13$) et des abandons. Les nymphes de *M. rubra* ont donc été considérées comme intruses par les *M. ruginodis*.

b) Réadoption intraspécifique :

Les nymphes de *M. ruginodis* qui ont été adoptées ont émergé chez les *M. rubra*. Après sept jours passés dans la colonie adoptante, les imagos ont été réintroduits dans leur colonie d'origine. Nous observons alors, de la part des *M. ruginodis*, deux comportements différents : soit une très forte agressivité, soit au contraire peu d'agressivité et un évitement. En moyenne, nous observons un très fort indice d'agressivité ($i = 29,1$) supérieur à celui obtenu envers les nymphes de *M. rubra*. Nous observons un pourcentage de réadoptions de l'ordre de 37 %. Il semble donc que les imagos de *M. ruginodis* qui ont été adoptés par les *M. rubra* ont acquis un profil qui rend leur reconnaissance par leurs congénères difficile.

Étude des profils d'hydrocarbures cuticulaires :

a) Étude de la quantité d'hydrocarbures cuticulaires (H.C.) :

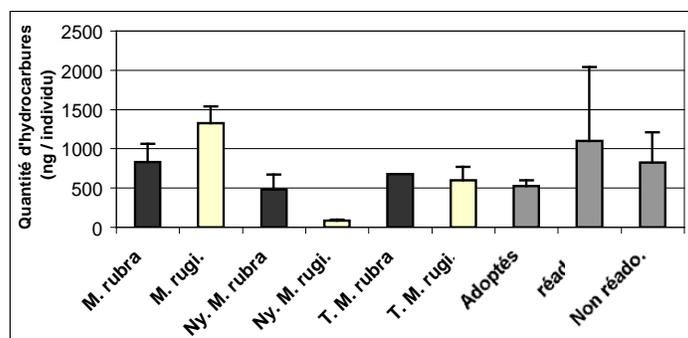


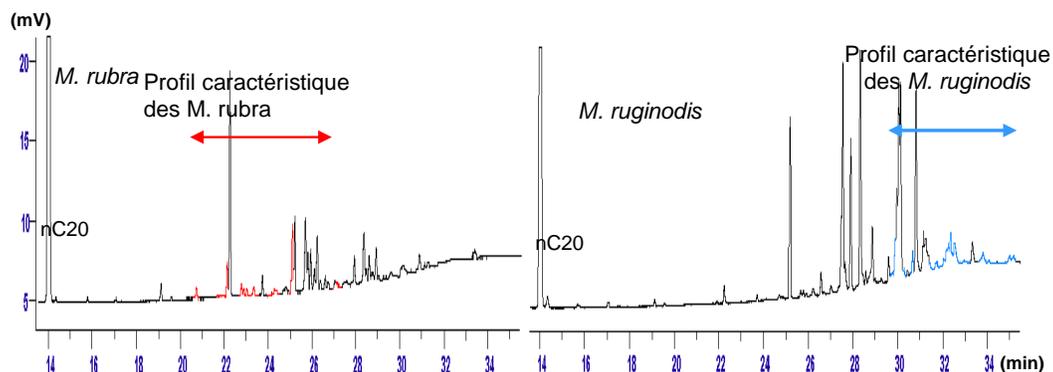
FIG. 1 : Quantité d'hydrocarbures cuticulaires avec l'écart-type calculée pour les individus des deux espèces *M. rubra* et *M. ruginodis* (noté M. rugi.) aux trois stades : âgées, témoin de 7 jours (T.) et Nymphe âgées (Ny.) et pour les différentes expériences d'adoption, réadoption (réado.).

Les ouvrières âgées de *M. ruginodis* portent plus d'H.C. que les *M. rubra* (Fig. 1). A l'inverse les nymphes de *M. ruginodis* en sont quasiment dépourvues. Les nymphes de *M. rubra* quant à elles portent presque autant d'H.C. que les ouvrières âgées de leur espèce.

Les *M. ruginodis* adoptées portent autant d'H.C. que les témoins du même âge. Au niveau des imagos réadoptés par les congénères et non réadoptés, nous remarquons une variabilité très importante de la quantité d'H.C..

b) Comparaisons des spectres d'hydrocarbures :

FIG. 2 : Profils des HC obtenus en C.P.G. pour des ouvrières de *M. rubra* et *M. ruginodis*.



Nous remarquons sur les chromatographies (Fig. 2) que les profils de *Myrmica rubra* et de *Myrmica ruginodis* sont décalés dans le temps. La partie principale propre à *M. rubra* est formée par des hydrocarbures légers sortant de 235° à 260°C, alors que pour *M. ruginodis*, ce sont des hydrocarbures plus lourds sortant de 285° à 300°C. Les pics communs aux deux espèces sont principalement retrouvés entre 265° et 285°C. Ces deux profils diffèrent donc notablement (indice de Nei de 0,38 entre imagos âgés).

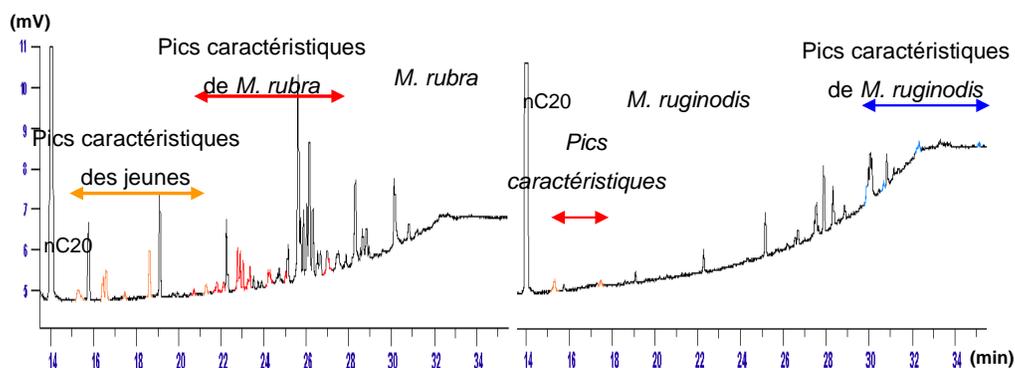


FIG. 3 : Profil des H.C. obtenus en C.P.G. pour les nymphes âgées de *M. rubra* et *M. ruginodis*.

Des pics supplémentaires, dits caractéristiques des jeunes car jamais observés chez les adultes, apparaissent autour de 225°C chez les nymphes de *M. rubra* (Fig. 3). Une faible partie de ce profil caractéristique des jeunes apparaît aussi chez les jeunes de l'autre espèce. Le nombre total de pics retrouvés ne varie pas entre la nymphe de *M. rubra* et l'adulte, alors que chez les *M. ruginodis* les nymphes ont deux fois moins de pics que les adultes.

De plus les nymphes de *M. ruginodis* portent une très faible partie des pics propres à leur espèce et ont une majorité de pics communs aux deux espèces. Elles sont donc " neutres "

en quantité globale mais aussi en qualité d'odeur. Par contre, les nymphes de *M. rubra* portent la quasi totalité du profil propre à leur espèce.

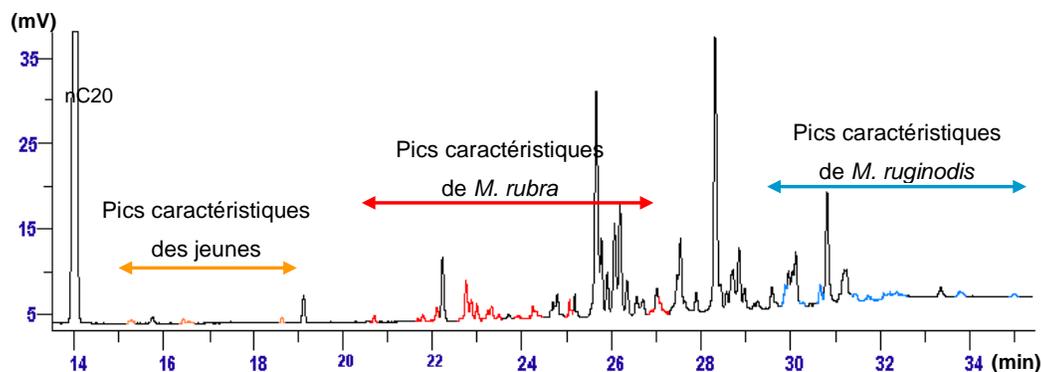


FIG. 4 : Profil des H.C. obtenus en C.P.G. pour un imago de *M. ruginodis* adopté chez *M. rubra*.

Les résultats montrent que les nymphes adoptées (Fig. 4), les imagos réadoptés et ceux non réadoptés ont une plus grande variété de pics que les témoins du même âge et même que les adultes.

Plus de la moitié des pics caractéristiques des deux espèces est retrouvée sur les profils des individus adoptés mais les adoptés sont plus proches des *M. rubra* (indice de Nei = 0,8) que des *M. ruginodis* colonie d'origine (indice de Nei = 0,67). Chez les réadoptés, nous pouvons observer une augmentation légère du nombre de pics typiques de *M. ruginodis* et une baisse du profil spécifique de *M. rubra*. Les réadoptés auraient donc développé plus d'hydrocarbures propres à leur espèce et perdu une partie de l'odeur de *M. rubra* (colonie adoptante). Les non réadoptés ont un nombre global de pics inférieur à celui des réadoptés. En effet, ils ont moins de substances spécifiques de leur espèce d'origine *M. ruginodis* et ont toujours une grande majorité des pics propres à *M. rubra* (leur colonie d'adoption). Nous retrouvons toujours chez les réadoptés et les non réadoptés les pics caractéristiques des jeunes.

DISCUSSION

Les résultats qualitatifs et quantitatifs montrent que les deux espèces étudiées ont des profils différents mais contenant des parties communes et des parties variables.

Le faible taux d'hydrocarbures ainsi que le faible nombre de pics propres à leur espèce font que les nymphes de *M. ruginodis* peuvent être considérées comme " neutres ". Ceci doit avoir une influence sur la reconnaissance par les *M. rubra* : seuls les hydrocarbures de l'adoptée également présents chez l'adoptante seraient reconnus par celle-ci.

Au contraire, la nymphe de *M. rubra* porte une partie importante du profil propre à son espèce, cette partie suffirait à entraîner le rejet de l'intruse car elle serait reconnue comme non conforme à l'odeur de la colonie. De plus, les pics caractéristiques des jeunes retrouvés en grand nombre chez les *M. rubra* (nymphes et témoins) pourraient être également la cause ou pourraient participer avec le reste du profil spécifique au rejet.

Nous pouvons penser que l'origine du manque d'hydrocarbures chez les nymphes de *M. ruginodis* viendrait d'une acquisition plus progressive de leurs " odeurs ", *M. rubra* ayant déjà son équipement d'H.C. à l'émergence.

Nous avons constaté que les pics propres à chacune des deux colonies apparaissaient sur le profil de l'imago adopté : les imagos acquièrent donc une partie du profil cuticulaire de leurs hôtes et synthétisent des hydrocarbures propres à leur espèce qui sont sous la dépendance d'un mécanisme génétique.

Les individus non réadoptés montrent moins de diversité au niveau des pics caractéristiques de leur espèce d'origine que lors de la mise en contact : la partie concernant le profil propre aux *M. ruginodis* a régressé. Les individus réadoptés présentent un profil où le nombre de pics caractéristiques de *M. ruginodis* est augmenté et où les pics propres à *M. rubra* ont régressé.

Lors des tests les ouvrières de *M. rubra* adoptantes sont des ouvrières âgées ; nous pouvons nous demander quelle peut être l'influence de l'âge sur le fonctionnement des récepteurs gustatifs et olfactifs situés sur les antennes (étude en cours). Une ouvrière pourrait perdre avec l'âge une partie de ses capacités de discrimination et ne différencierait pas une ouvrière de sa propre colonie d'une intruse si les différences entre les deux profils sont peu importantes. Ceci expliquerait également que les nymphes de *M. ruginodis* ne soient pas rejetées.

REMERCIEMENTS :

Nous tenons à remercier Jean-Philippe Christides pour son aide lors des analyses chromatographiques.

REFERENCES

- Dahbi, A., Cerdà, X., Lenoir, A., 1998. Ontogeny of colonial hydrocarbon label in callow workers of the ant *Cataglyphis iberica*. *Life sciences* 321 : 395-402.
- Lenoir, A., Fresneau, D., Errard, C., and Hefetz, A., 1999. Individuality and colonial identity in ants : the emergence of the social representation concept. *In Information processing in social insects* (Detrain, C., Deneubourg, J.L., Pasteels, J.M., Ed) Birkhauser Verlag Basel/Switzerland, pp 219-237.
- Le Roux, A.M., 1980. Possibilités de réintégration dans leur groupe d'origine d'individus ayant subi une période d'isolement ou un changement de milieu social (*Myrmica laevinodis nyl.* et *Myrmica ruginodis nyl.*). *Biologie-Ecologie méditerranéenne tome III, n° 3* : 203-204.
- Le Roux, A.M., Le Roux, G., Barreau, S., 1987. Étude préliminaire des hydrocarbures cuticulaires (C.P.G.) de deux Myrmicines : *Myrmica ruginodis Nyl* et *Myrmica laevinodis Nyl*. *Com. Coll. Insectes sociaux ; Paimpont*.
- Le Roux, A.M., Le Roux, G., Berton, F., 1991. Evolution avec l'âge de la reconnaissance intra et interspécifique chez deux espèces de *Myrmica* (Formicidés). *Bulletin S.F.E.C.A tome 6, n°2* : 65-72.
- Vienne, C., 1993. Organisation sociale et reconnaissance interindividuelle dans les colonies mixtes artificielles des fourmis. *Thèse de doctorat. Université Paris XIII. 231 pages*.

ETUDE EN PLEIN CHAMP DE L'IMPACT DE COLZAS RESISTANTS A UN HERBICIDE
SUR LES POPULATIONS D'INSECTES POLLINISATEURS
ET LEUR COMPORTEMENT DE BUTINAGE.

J. Pierre¹, D. Marsault², M.-H. Pham-Delègue², J. Champolivier³, H. Picault⁴, M. Renard⁴

¹UMR INRA/ENSAR, Bio 3P, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex

²INRA Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés, La Guyonnerie, BP 23, 91440 Bures-sur-Yvette

³CETIOM, BP 04, 78850 Thiverval Grignon

⁴UMR INRA/ENSAR, Amélioration des Plantes et Biotechnologies Végétales, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex

RÉSUMÉ

Deux expérimentations ont été conduites sur colza en plein champ, chacune dans un site différent. L'objectif était d'étudier un possible effet pléiotropique du transgène *pat* (conférant la résistance à l'herbicide glufosinate) sur la plante, effet susceptible d'avoir une incidence sur les populations d'insectes pollinisateurs et sur leur comportement de butinage. Sur chaque site, on a comparé une variété avec son homologue génétiquement modifié (respectivement : Site 1, Artus/Artus LL ; Site 2, Falcon/Falcon *pat*). Sur les 2 sites, au cours de la floraison l'évolution de la densité de fleurs a été enregistrée et les densités d'insectes/1000 fleurs ont été mesurées en distinguant 4 taxons (abeille domestique, abeilles solitaires, bourdons et Diptères). De plus, sur le Site 1 des piégeages d'insectes ont été faits. Sur le Site 2, le comportement de butinage des abeilles mellifères et des bourdons a été observé (nombre de fleurs butinées/min. ; passage entre les deux génotypes). Excepté le fait que la floraison d'Artus a été plus précoce que celle d'Artus LL et que ceci a entraîné une plus grande densité d'insectes sur Artus, l'ensemble des résultats montrent qu'il n'existe aucune différence entre les colzas conventionnels et leurs homologues transgéniques aussi bien au niveau de la population d'insectes pollinisateurs qu'au niveau comportemental. Les insectes semblent incapables de distinguer les génotypes homologues entre eux. Ceci est en accord avec l'absence d'effet pléiotropique du transgène *pat* sur le nectar et le pollen enregistrée par ailleurs.

INTRODUCTION

L'introduction du transgène *pat* dans le colza pour lui conférer la résistance au glufosinate ne devrait avoir *a priori* aucune incidence sur les insectes auxiliaires qui se nourrissent de pollen et de nectar. En effet, la protéine est produite en très petite quantité dans les tissus de la plante, elle ne vise pas une perturbation de la physiologie des insectes et, de plus, le mode de transfert de ce gène par le promoteur Ca MV 35s est par ailleurs connu pour ne pas induire d'expression dans le pollen (Jouanin *et al.*, 2000). Cependant, sans parler de toxicité à proprement parler, l'insertion d'un transgène peut avoir des effets pléiotropiques difficiles à prévoir. Parmi ceux-ci, on peut imaginer une modification de la production de fleurs, de la production de pollen et de nectar au plan quantitatif voire qualitatif (composition en sucres du nectar). Ce sont autant d'éléments qui pourraient modifier la valeur attractive de la plante pour les insectes pollinisateurs.

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'incidence de ces éventuels effets pléiotropiques sur le comportement des pollinisateurs en comparant le comportement des insectes visitant deux variétés de colzas transgéniques par rapport à deux colzas conventionnels homologues, ceci en situation de plein champ et dans des conditions environnementales différentes.

MATERIEL ET METHODES

Les expérimentations ont été conduites sur deux sites très différents et selon deux dispositifs distincts.

- L'essai 1, situé dans le Sud Ouest, avec pour géotypes Artus (conventionnel) et Artus LL (transgénique) disposés en 4 blocs de 22m x 22m séparés par des allées de 5m.
- L'essai 2, situé en Bretagne, avec pour géotypes Falcon (conventionnel) et Falcon *pat* (transgénique) disposés sur deux bandes parallèles de 6m x 30m séparée de 24m et une microparcelle de 3m x 7m composée des 2 géotypes placés côte-à-côte.

Dans l'essai 1 la population d'insectes était celle environnante alors que dans l'essai 2 une ruche a été apportée en début de floraison.

La diversité et la densité des insectes pollinisateurs /1000 fleurs ont été mesurées sur des placettes de 5m² en regroupant les insectes selon les 4 taxons les plus représentatifs (abeille domestique, diverses espèces d'abeilles solitaires, bourdons et Diptères).

En outre,

- sur l'essai 1 (Artus/Artus LL) les insectes ont été capturés au piège jaune et dénombrés ;
- sur l'essai 2 (Falcon/Falcon *pat*) le nombre de fleurs visitées par min. par les abeilles domestiques et les bourdons a été noté et le taux de passage entre les deux géotypes a été évalué sur la microparcelle selon une technique déjà décrite par ailleurs (Pierre *et al.*, 1996).

RÉSULTATS

Densité de fleurs

Le suivi de l'évolution des floraisons montre que :

- sur le site 1, la floraison s'est déroulée graduellement mais Artus a été légèrement plus précoce (2 à 3 jours) qu'Artus LL. La différence de densité de fleurs entre les 2 géotypes a été particulièrement notable en début de floraison.
- sur le site 2, la floraison s'est faite de manière sporadique en raison des variations de conditions climatiques mais Falcon et Falcon *pat* ont fleuri de manière très synchrone avec des densités de fleurs très similaires.

Densité d'insectes

Nombre d'insectes butineurs/1000 fleurs épanouies \pm ES. Essai 1 (44 observations, 11 dates) et Essai 2 (59 observations, 11 dates). Présentation partielle de l'analyse ANOVA

	COLZA CONVENTIONNEL	COLZA TRANSGÉNIQUE	Effet géotype	
ESSAI 1	Artus	Artus LL	F	P
Ab. Domestique	10,4 \pm 5,05	8,7 \pm 4,26	5,87	0,018
Ab. Solitaires	0,4 \pm 0,83	0,3 \pm 0,43	0,78	0,381
Bourdons	0,1 \pm 0,20	0,1 \pm 0,17	0,28	0,598
Diptères	0,4 \pm 1,03	0,3 \pm 0,59	0,26	0,610
ESSAI 2	Falcon	Falcon <i>pat</i>		
Ab. Domestique	1,1 \pm 0,15	1,4 \pm 0,14	1,56	0,215
Ab. Solitaires	0,3 \pm 0,07	0,3 \pm 0,05	0,08	0,784
Bourdons	0,7 \pm 0,11	0,8 \pm 0,13	2,76	0,100
Diptères	0,3 \pm 0,04	0,3 \pm 0,05	3,16	0,079

La densité d'abeilles/1000 fleurs a été très élevée dans l'essai 1 situé en région Sud bien qu'il n'y ait pas eu d'apport de ruche. Dans cet essai, on observe significativement plus d'abeilles sur le colza conventionnel que sur le colza transgénique. Ceci peut être attribué à la différence de précocité de floraison entre les 2 géotypes. L'analyse Anova à 2 facteurs (géotype, date) effectuée montre par ailleurs (résultats non présentés ici) qu'il existe un effet date très important et qu'une interaction entre date et géotype est possible. Ainsi, une

analyse date par date montre que certains jours le colza transgénique est plus fréquenté par un taxon donné mais que ceci peut s'inverser le jour suivant.

Piégeage d'insectes sur le site 1

Nombre d'insectes piégés \pm ES et proportion en (%) dans la population piégée (10 prélèvements par génotype, 5 dates de piégeage)

ESSAI 1	COLZA CONVENTIONNEL	COLZA TRANSGÉNIQUE	Effet génotype	
	Artus	Artus LL	F	P
Ab. Domestique	32,2 \pm 18,4 (30,7%)	28,2 \pm 15,7 (31,8%)	0,61	0,451
Ab. Solitaires	30,6 \pm 22,1 (29,2%)	27,6 \pm 22,1 (28,9%)	0,46	0,513
Bourdons	2,1 \pm 2,3 (2,0%)	2,0 \pm 1,7 (2,6%)	0,01	0,919
Diptères	27,0 \pm 8,6 (25,8%)	24,9 \pm 14,3 (26,3%)	0,36	0,561
Autres divers	12,9 \pm 12,9 (12,3%)	9,8 \pm 10,8 (10,5%)	1,44	0,258

Les résultats présentent une grande variabilité mais sont similaires entre Artus et Artus LL.

Comportement de butinage sur le site 2

	Nombre de fleurs visitées/min.		Taux de passage	
	Falcon	Falcon <i>pat</i>	Intra Falcon	Inter Falcon et Falcon <i>pat</i>
Ab. Domestique	13,9 \pm 0,58	13,6 \pm 0,63		
Bourdons	32,3 \pm 0,44	32,3 \pm 0,38	2,22	2,21

Les résultats sont totalement similaires entre Falcon et Falcon *pat*.

CONCLUSION

Les résultats relatifs aux densité d'insectes pour 1000 fleurs épanouies montrent que la seule différence significative notée concerne la plus grande abondance d'abeilles domestiques dans l'essai 1 sur le colza Artus par rapport à son homologue transgénique Artus LL. Cette différence est sans doute imputable à la différence de précocité de floraison entre ces deux génotypes (Artus ayant fleuri 2 à 3 jours plus tôt que Artus LL) et à la très forte densité d'insectes présents sur la parcelle pour une densité de fleurs très faible en début de floraison. Une telle différence ne se retrouve pas dans l'essai 2.

De plus, toutes les autres données (piégeage, comportement de butinage) attestent que les insectes sont incapable de différencier les colzas conventionnels des colzas transgéniques résistants au glufosinate. Ceci est en accord avec l'absence de différence qui a été observée par ailleurs quant à la production de pollen et de nectar de Falcon et Falcon *pat*. Ainsi, le transgène *pat* n'induit pas d'effets pléiotropiques pouvant avoir une incidence sur les insectes pollinisateurs.

REMERCIEMENTS

Les expérimentations conduites sur le Site 1 ont été réalisées dans le cadre de l'Action Inter-Institut pilotées par le CETIOM, et la mise en place des parcelles a été effectuées par la Société Aventis. Les expérimentations conduites sur le site 2 ont été réalisées dans le cadre d'une AIP de l'INRA « OGM et Environnement ». Le matériel biologique a été fourni par Aventis (Artus LL) et par NPZ (Falcon *pat*).

RÉFÉRENCES

Jouanin L., Bonadé-Bottino M., Girard C., Lerin J., Pham-Delègue M.H., 2000 . Expression of protease inhibitors in rapeseed. In : D. Michaud (ed), Recombinant protease inhibitors in plants, pp 179-190.

Pierre J., Pierre J.S., Marilleau R., Pham-Delègue M.H., Tanguy X., Renard M., 1996. Influence of the apetalous character in rape (*Brassica napus*) on the foraging behaviour of honeybees (*Apis mellifera*). Plant Breeding 115, 484-487.

Pierre J., Marsault D., Genecque E., Renard M., Champolivier J., Pham-Delègue M.H., 2002. Effects of herbicide tolerant transgenic oilseed rape genotype on honey bees and other pollinating insects under field conditions (soumis).

Marsault D., Pierre J., Pham-Delègue M.H., 2001. Biodiversity and foraging behaviour of pollinating insects on herbicide-tolerant transgenic oilseed-rape genotypes under field conditions. Proc. Meeting of the International Union for the Study of Social Insects, 25-29 September, 2001, Berlin, Germany

METHODOLOGIES A APPLIQUER POUR ETUDIER L'IMPACT DE PLANTES TRANSGENIQUES SUR LES INSECTES POLLINISATEURS

M.H. Pham-Delègue¹, J. Pierre²

¹ Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (LNCl)
INRA, La Guyonnerie, BP23, 91440 Bures-sur Yvette, France.

² UMR INRA/ENSAR, Bio 3P, BP 35327, 35653 Le Rheu Cédex, France

RESUME

Nous avons développé un ensemble de méthodologies, depuis le laboratoire jusqu'au plein champ, permettant d'évaluer les effets de plantes génétiquement modifiées, ou de produits de gènes, sur la survie, le comportement et la physiologie de l'abeille. Les études ont porté essentiellement sur des colzas exprimant une résistance à des insectes, à des maladies ou à des herbicides. D'une part les effets directs liés à une exposition aux produits de gènes par le biais du nectar ou du pollen prélevé par les abeilles, ont été pris en compte. La survie et le comportement des abeilles ne sont affectés que pour des concentrations de protéines 10 à 100 fois supérieures à celles exprimées dans des tissus végétaux. D'autre part, des effets indirects de la transformation génétique ont été étudiés, sur les sécrétions de nectar et les émissions volatiles qui déterminent l'attraction des abeilles vers la plante. Des différences sont notées dans la composition de ces sécrétions, mais le comportement des abeilles n'apparaît pas perturbé par ces modifications. Des méthodologies sont désormais disponibles dans le cas de plantes qui pourraient présenter un risque pour l'abeille.

INTRODUCTION

Pour aborder l'étude de l'impact de plantes génétiquement modifiées sur l'entomofaune pollinisatrice et plus particulièrement sur l'abeille domestique, il faut tenir compte des facteurs suivants :

- La spécificité des relations abeilles-plantes. Le comportement de butinage repose sur l'association d'un processus individuel au cours duquel une butineuse mémorise les caractéristiques visuelles et olfactives de la plante, associées à la présence d'une nourriture favorable (nectar, pollen), et d'un processus collectif basé sur la communication par les danses dans la ruche et le recrutement de nouvelles butineuses sur la ressource florale. Il en résulte un bénéfice réciproque pour les deux partenaires, l'abeille trouvant une source de nourriture pour la colonie, et la plante étant fécondée grâce au pollen disséminé par les abeilles. Dans cette interaction, les capacités d'apprentissage des butineuses jouent un rôle essentiel dans la reconnaissance et la fidélité à une source florale, et divers auteurs ont montré que les odeurs florales étaient le signal le mieux appris (e.g. Menzel et al, 1993).
- Les différents types d'effets potentiels de plantes génétiquement modifiées sur les abeilles. Il existe d'une part, des effets directs liés à la présence de produits de gènes dans le nectar ou le pollen consommés par les abeilles, d'autre part, des effets indirects résultant de modifications des signaux de reconnaissance de la plante par l'abeille à la suite de l'introduction du gène d'intérêt (effets pléiotropiques).
- L'exposition aux produits de gènes. L'abeille étant un insecte social, les butineuses récoltent la nourriture pour l'ensemble de leurs congénères. Dès lors, non seulement les butineuses visitant la plante, mais également les jeunes ouvrières présentes dans la ruche ainsi que les larves, peuvent être exposées aux produits de gènes. De plus la durée de l'exposition peut être variable, les butineuses étant exposées brièvement lors du butinage tandis que les larves pourraient être nourries de façon chronique avec une nourriture contaminée.

Depuis plusieurs années, nous conduisons des études permettant de prendre en compte tout ou partie des paramètres mentionnés ci-dessous en associant des études de laboratoire et de terrain (pour une revue, voir Malone et Pham-Delègue, 2001). Notre objectif est

d'évaluer les effets de plantes transgéniques et/ou des produits de transgènes, sur la survie, le comportement et la physiologie des abeilles.

MATERIEL EVALUE

Plantes transgéniques :

- colzas exprimant des résistances à des insectes déprédateurs, à des maladies, à des herbicides
- maïs exprimant une endotoxine de *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Protéines :

Inhibiteurs de protéases à cystéine et à sérine, lectines, chitinases, protéines PAT, endotoxines de Bt. Ces différentes protéines ont été testés à des doses réalistes par rapport à celles potentiellement exprimées dans les tissus des plantes transformées.

Remarque : en préalable à la présentation des travaux, il faut rappeler que pour le matériel végétal évalué jusqu'ici, les produits de gènes n'ont jamais été détectés dans le nectar floral. Toutefois, même s'ils n'ont pas non plus été détectés dans le pollen de ces plantes, ce qui était attendu dans le cas des colzas utilisant le promoteur 35 S, l'absence d'expression dans le pollen avec ce promoteur n'est pas garantie, et d'autres événements de transformation peuvent amener une expression dans le pollen. De plus, quelque soit le type de transformation, des modifications secondaires d'autres signaux intervenants dans la relation abeille-plante peuvent se produire, et leurs effets doivent être examinés. Les travaux présentés ont donc valeur de schéma méthodologique pouvant être appliqué si le type de transformation présente un risque potentiel pour les abeilles.

ETUDES DES EFFETS DIRECTS

Au début de nos études, aucun protocole validé n'était disponible pour évaluer les effets de plantes transgéniques ou de produits de gènes sur les abeilles. Les seules méthodes d'évaluation en écotoxicologie de l'abeille concernaient des produits phytosanitaires conventionnels. Nous avons donc calqué notre approche globale sur celle utilisée dans le cadre de l'homologation de produits phytosanitaires pour l'obtention d'un label abeille (EPPO, 1993), à savoir l'établissement d'une toxicité au laboratoire, suivi d'études des effets en conditions plus réalistes. De plus, nous avons pris en compte le fait que les produits de gènes sont présents, le cas échéant, à très faible dose et pendant des périodes relativement longue au cours de la phénologie végétale.

1. Etudes au laboratoire

En référence à l'évaluation de la toxicité aiguë de pesticides chimique, nous avons d'abord testé les effets de protéines sur la mortalité à court terme. Les expérimentations consistent à proposer à des lots d'abeilles de tous âges prélevées à l'intérieur d'une ruche, différentes doses de protéines dans un substrat alimentaire. La mortalité induite est relevée 24 ou 48 h plus tard. Pour les produits testés (inhibiteurs de protéases, chitinases, glucanase) aucune toxicité aiguë n'a été décelée (Picard-Nizou et al, 1997).

Pour tenir compte des effets d'expositions de plus longue durée, des études de mortalités chroniques ont été conduites : des abeilles naissantes sont mises en cagette et nourries de façon continue avec une solution alimentaire contaminée. La mortalité quotidienne est enregistrée. Les courbes de survies obtenues pour différents inhibiteurs de protéases, montrent qu'une mortalité accrue n'est observée que pour des doses 10 à 100 fois supérieures à celle potentiellement exprimée dans des tissus végétaux (Pham-Delègue et al, 2000).

Les effets attendus portant moins sur la mortalité que sur des perturbations du comportement, nous avons développé un essai biologique destiné à évaluer les effets de produits de gènes sur l'apprentissage des odeurs. Cet essai repose sur la reproduction au laboratoire d'une réponse naturellement produite par les butineuses. Lorsqu'elle atterrit sur

une fleur, l'abeille explore le substrat à la recherche de nourriture grâce à des récepteurs gustatifs placés sur les tarsi, les antennes ou les pièces buccales. Elle étend alors son proboscis (langue) de façon réflexe, et prélève ainsi de la nourriture. Ce faisant, elle associe cette prise alimentaire aux signaux odorants environnants. Il en résulte un apprentissage associatif de type Pavlovien. Cette réponse peut être obtenue sur des abeilles en contention individuelle. On soumet l'individu à plusieurs associations odeur-nourriture (phase de conditionnement ou d'acquisition) puis on lui propose l'odeur sans nourriture (phase de test ou d'extinction). Si l'abeille a correctement appris le signal odorant, elle étend le proboscis en présence de l'odeur seule (réponse conditionnée). Pour évaluer les effets possibles de produits de gènes sur cette réponse, ces produits sont additionnés soit à la nourriture lors du test, soit de façon plus prolongée dans la nourriture proposée lors de l'élevage qui précède l'expérimentation. On a ainsi pu montrer que les capacités d'apprentissage pouvaient être affectées, mais seulement après une exposition prolongée à certaines protéines (inhibiteurs de protéases), à des concentrations 100 fois supérieures à celles exprimées dans des plantes (Pham-Delègue et al, 2000).

Enfin, dans le cas d'inhibiteurs de protéases nous avons recherché leurs effets sur la physiologie digestive de l'abeille. Une ingestion prolongée d'inhibiteurs de protéases à sérine induit l'apparition d'une nouvelle forme de protéases ce qui suggère l'existence de processus de régulation en présence d'inhibiteurs de protéases digestives de l'abeille (Girard et al, 1998).

2. Etudes en conditions semi-naturelles

Afin de nous placer dans des conditions plus réalistes et de tenir compte du caractère social des abeilles, nous avons développé des expérimentations à l'échelle de colonies placées dans des enceintes climatisées ou dans des cages de vol extérieures. Dans ces conditions, les butineuses en vol libre ont la possibilité de visiter des sources alimentaires artificielles ou des fleurs (transformées ou témoins).

Sur plantes entières, les paramètres enregistrés sont le nombre total de visites et les stratégies individuelles de butinage (temps passé sur la fleur, type d'aliment prélevé). Dans le cas de colzas exprimant une chitinase, aucune différence n'est apparue dans le comportement de butinage des abeilles sur plantes transformées et plantes témoins (Picard-Nizou et al, 1995).

Sur fleurs artificielles, une étude a été menée pour évaluer la quantité de protéines accumulée dans la colonie et potentiellement transférée aux abeilles de la ruche. Pour ce faire, des colonies ont été nourries avec une solution alimentaire additionnée d'un inhibiteur de protéase à sérine à des doses réalistes pendant une durée de 2 mois. Une fois par semaine, le développement des colonies est évalué par la mesure des surfaces de couvain et de nourriture stockée. La nourriture contaminée est colorée avec des colorants neutres de différentes couleurs afin de suivre la cinétique de son stockage dans la ruche. La concentration d'inhibiteurs de protéases dans la nourriture stockée et dans des abeilles adultes et des larves, est évaluée en fin d'expérimentation. La protéine a pu être dosée dans la nourriture stockée et une légère augmentation de l'activité protéasique a été décelée chez les larves nourries avec la protéine. Toutefois aucun effet n'a été observé sur le développement de la colonie (Pham-Delègue et al, en préparation).

Par ailleurs, des études à plus grande échelle ont été menées sous tunnels en plaçant des ruches en présence de parcelles de colza exprimant une résistance à un herbicide glufosinate sur une période d'un mois. Différents paramètres ont été enregistrés au niveau des abeilles (mortalité, activité de butinage, activité d'entrées et sorties de la ruche, développement de la colonie), ainsi qu'au niveau des plantes (quantité et composition des nectars, dosage des protéines ou de résidus d'herbicides dans le miel, le pollen ou les abeilles). Aucune différence notable entre plantes transformées et témoins n'a été rapportée (voir Pham-Delègue et al, même volume).

3. Etudes en conditions naturelles

Compte tenu des difficultés de mises en place d'expérimentations de terrain à grande échelle, peu d'expériences ont été conduites jusqu'ici en conditions naturelles. Nous avons pu mener sur deux sites (Bretagne, Sud-Ouest) et sur des parcelles de colza exprimant une résistance à un herbicide et de colza témoin, de différentes dimensions (voir Pierre J. et al, même volume) des relevés de l'entomofaune pollinisatrice et de son comportement. Aucune différence n'a été notée au niveau des populations d'insectes et de leur comportement, entre les différentes variétés de colzas.

ETUDES DES EFFETS INDIRECTS

Les deux paramètres sur lesquels nous avons étudié l'apparition éventuelle de modifications secondaire liées à l'introduction d'un transgène sont d'une part le nectar, et d'autre part les arômes floraux (pour une revue, voir Pham-Delègue et al., 2002).

Pour les analyses de nectar, la procédure consiste à prélever du nectar sur des plantes transformées ou témoin, à un même stade de floraison, à l'aide de pipette de verre (5 µl), et d'estimer la quantité de nectar sécrétée par fleur. La composition en sucres de ces échantillons est ensuite analysée par HPLC après dérivation des sucres selon une méthode déjà utilisée sur le colza. Nos études, conduites sur différents types de colza transformés indiquent des différences dans les volumes de nectar sécrété, et corrélativement dans les concentrations en sucres totaux entre plantes transformées et témoins, et selon les types de colzas considérés. Ces différences dépendent de la date de récolte, des conditions environnementales et de la variété, comme nous l'avons déjà montré dans le cas de variétés de colzas conventionnels (Pierre et al., 1999). En ce qui concerne la composition en sucres, lors des comparaisons entre plantes transformées et témoins, nous avons autant que possible récolté les échantillons dans des conditions comparables, et les deux types de plantes étaient soit fortement reliées génétiquement, soit isogéniques. Donc les différences observées le cas échéant sont imputables à des effets pléiotropiques. Nous avons noté des différences de composition pour certaines paires de génotypes, avec une tendance pour un nectar plus concentré en sucres chez les plantes transgéniques, ce qui ne devrait pas affecter négativement le comportement des abeilles.

Concernant les arômes floraux, les études ont consisté en l'association d'analyses chimiques de la composition des émissions volatiles de colzas exprimant un inhibiteur de protéases (et de son témoin), et d'enregistrement de réponses d'extension du proboscis. Il est apparu que des différences quantitatives et qualitatives pouvaient être mises en évidence dans les profils chromatographiques des émissions volatiles des deux types de plantes. Toutefois, les abeilles sont capables d'apprendre les deux types d'odeurs, et ne les distinguent pas l'une de l'autre. De plus, on a montré que la reconnaissance des deux types d'arômes se faisait sur la base des mêmes composés-clés, le linalool et le phényl acétaldéhyde, ce qui avait également été montré pour des colzas conventionnels (Blight et al., 1997).

CONCLUSION

L'ensemble de ces travaux permet de proposer des méthodes d'évaluation des effets de la transformation génétique de plantes cultivées, sur différents paramètres de la biologie de l'abeille. L'originalité de ces approches et de prendre en compte des effets autres qu'une mortalité aiguë, peu probable dans le cas d'une exposition à des produits de gènes. De plus, les études de laboratoire permettent d'établir des seuils de toxicité comportementale pour une gamme de protéines potentiellement exprimées dans des plantes, et peuvent être utilisées pour évaluer en amont des protéines-candidates.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été financés en majeure partie dans le cadre d'un contrat européen (BIO CT 960365) du Programme Biotechnologie du 4^{ème} PCRD.

REFERENCES

- Blight M.M., Le Métayer M., Pham-Delègue M.H., Pickett J.A., Marion-Poll F., Wadhams L.J., 1997. Identification of floral volatiles involved in recognition of oilseed rape flowers *Brassica napus* by honeybees *Apis mellifera*. *J. Chem. Ecol.*, 23, 1715-1727.
- EPPO, 1993. Decision-making schemes for the environmental risk assesment of plant protection products-honeybees, OEPP/EPPO Bull.23, 151-165.
- Girard C., Picard-Nizou A.L., Grallien E., Zaccomer B., Jouanin L., Pham-Delègue M.H., 1998. Effects of protéinase inhibitor ingestion on survival, learning abilities and digestive proteinases of the honeybees. *Transg.Res.*, 4, 239-246.
- Malone L.A., Pham-Delègue M.H., 2001. Effects of transgenes products on honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus* sp.). *Apidologie*, 32, 287-304.
- Menzel R., Greggers U., Hammer M., 1993. Functional organization of appetitive learning and memory in a generalist pollinator, the honey bee. In : *Insect learning*, Papaj D.R., Lewis A.C. (eds), Chapman and Hall, New York, pp.79-125.
- Pham-Delègue M.H., Girard C., Le Métayer M., Picard-Nizou A.L., Hennequet C., Pons O., Jouanin L., 2000. Long-term effects of soybean protéase inhibitors on digestive enzymes, survival and learning abilities of honeybees. *Ent.Exp.Applic.*, 95, 21-29.
- Pham-Delègue M.H., Jouanin L., Sandoz J.C., 2002. Direct and indirect effects of genetically modified plants on the honey bee. In : *Honey bees – Estimating the environmental impact of chemicals*, Devillers J., Pham-Delègue M.H. (eds), Taylor and Francis (sous presse) .
- Picard-Nizou A.L., Pham-Delègue M.H., Kerguelen V., Douault P., Marilleau R., Olsen L., Grison R., Toppan A., Masson C., 1995. Foraging behaviour of honey bees (*Apis mellifera* L.) on transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*.). *Transg.Rus.*, 4, 270-276.
- Picard-Nizou A.L., Grison R., Olsen L., Pioche C., Arnold G., Pham-Delègue M.H., 1997. Impact of protéines used in plant transgenic and engineering : toxicity and behavioral study in the honeybee. *J.Econ.Entomol.*, 90, 1710-1716.
- Pierre J., Mesquida J., Marilleau R., Pham-Delègue M.H., Renard M., 1999. Nectar secretion in oilseed rape *Brassica napus* – quantitative and qualitative variability among 71 genotypes. *Plant Breed.*, 118, 471-476.

COMPARAISON DE LA TOXICITE AIGUË DE DEUX MODES D'INGESTION D'INSECTICIDES : INGESTION COLLECTIVE ET INDIVIDUELLE CHEZ *APIS MELLIFERA*

H. Rafalimanana, M.-H. Pham-Delègue

Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (LNCI), INRA, BP 23, 91440 Bures-sur-Yvette, France

RESUME

La méthode de la Commission des Essais Biologiques, C.E.B. n° 95, dite standard, en particulier la toxicité aiguë par ingestion, est loin d'être totalement fiable du fait de la grande variabilité des valeurs de DL50. Pour pouvoir apporter une information supplémentaire sur la variabilité de sensibilité de *Apis mellifera*, nous avons comparé en laboratoire la toxicité par ingestions collective et individuelle en se basant sur la méthode C.E.B. n°95. Nous avons testé la deltaméthrine et le chlorpyrifos éthyle ainsi que le diméthoate utilisé comme référence toxique. Les insecticides ingérés par les abeilles ne se comportent pas de la même manière en fonction du mode d'ingestion et du produit. Le chlorpyrifos éthyle et la dose faible de diméthoate ont un effet plus toxique en ingestion collective qu'en ingestion individuelle. Le diméthoate à dose forte n'entraîne pas une différence de toxicité en ingestions collective et individuelle. Et on ne peut pas conclure sur la toxicité de deltaméthrine qui varie en fonction du mode d'ingestion. La valeur de DL50 par ingestion exprimée en ng/abeille n'est pas une valeur totalement fiable de la toxicité. Mais, on peut dire que l'ingestion collective est la plus proche de la réalité chez les insectes sociaux et serait à recommander pour ne pas sous-estimer la toxicité des produits.

INTRODUCTION

Une standardisation des méthodes d'évaluation de la mortalité des insectes auxiliaires causée par des produits phytosanitaires fait l'objet d'études en France (Commission des Essais Biologiques, (1996) ; Action de Coordination des Techniques Agricoles, Reboulet, 1994) ; et en Europe. Or, la méthode de la Commission des Essais Biologiques, CEB n° 95, dite standard, en particulier la toxicité aiguë par ingestion en laboratoire, n'est pas fiable du fait de la grande variabilité de DL50 de la deltaméthrine (4 à 67 ng/abeille) (Faucon, 1985 ; Atkins *et al.*, 1981 ; Stevenson, 1968). Et les résultats par ingestion collective que nous avons obtenu sur les deux années successives confirment encore cette variabilité pour la deltaméthrine (455,06 < 621,81 < 749,32 ng/abeille en 2000 et 264,34 < 401,65 < 542,39 ng/abeille en 2001). La comparaison des DL50 obtenues en ingestion collective et ingestion individuelle permet d'apporter une information supplémentaire sur la variabilité de la sensibilité de l'abeille.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Nous avons testé les abeilles d'âge indéterminé prélevées dans la ruche sur des cadres de réserves, qui n'ont pas de symptômes pathologiques et ne sont pas traitées par des acaricides. Le prélèvement se fait la veille du test.

Nous avons comparé deux neurotoxiques : la deltaméthrine (pyrethrianoïde) qui perturbe la transmission de l'influx nerveux en agissant sur le canal sodium (Soderlund & Bloomquist, 1989 ; Cluzeau & Paternelle, 2000 ; Worthing, 1979) et le chlorpyrifos éthyle (organophosphoré) et le produit de référence toxique, le diméthoate (organophosphoré), qui inhibent l'action de l'acétylcholinestérase (Cluzeau & Paternelle, 2000 ; Worthing, 1979). Nous avons utilisé le produit technique à 99% de matière active chez Cluzeau Infolabo (Sainte-Foy-La-Grande, France).

Ces insecticides protègent les cultures contre l'attaque de nombreux ravageurs (Lépidoptères, Homoptères, Coléoptères).

On dissout la matière active dans de l'acétone dont la concentration dans le sirop de traitement est de 10%.

Dispositif expérimental

Nous avons appliqué la méthode C.E.B. n°95. L'unité expérimentale est la cagette de 20 abeilles. Chaque test comprend : le lot témoin, les lots traités comprenant cinq doses croissantes de matière active testée, les lots traités avec le diméthoate aux doses forte et faible. Chaque lot comprend trois cagettes. Le test est répété trois fois.

Pour les deux groupes d'ingestion, on soumet les abeilles à un jeûne de deux heures dans une enceinte climatisée, à une température de 25 ± 2 °C et dans l'obscurité. Pendant le test, les abeilles sont placées à la lumière, à une température de 25 ± 2 °C. Pour l'ingestion collective, chaque lot est nourri avec 200 µl d'une solution de saccharose à 500 g/l contenant le produit à différentes doses. Pour l'ingestion individuelle, chaque abeille est nourrie de 10 µl de sirop contaminé pendant une heure. Les individus ayant consommés la totalité du volume administré, sont regroupés dans leur cage d'origine. Les abeilles dans les deux groupes de tests sont alimentées avec du sirop de saccharose non contaminé et sont placées à l'obscurité dans une enceinte climatisée.

On enregistre les mortalités 24 et 48 heures après traitement, les données obtenues sont traitées statistiquement par le logiciel WinDL, qui analyse l'effet de concentrations croissantes d'une molécule d'insecticide sur le taux de mortalité de lots d'insectes (relation dose- effet) (CIRAD, 1998). La mortalité obtenue en fonction de la dose d'insecticide est représentée graphiquement avec une échelle logarithmique pour les abscisses et une échelle probit pour les ordonnées.

Pour que le test soit valide, la mortalité dans les lots témoins doit être inférieure ou égale à 10 % et les pourcentages de mortalité avec le diméthoate doivent être proches ou supérieurs à 50%. Et la DL50 calculée doit être comprise entre les deux doses extrêmes testées.

RESULTATS

Les résultats de la comparaison de la toxicité par ingestion collective et individuelle, nous montrent que les insecticides ne se comportent pas de la même manière, les effets toxiques varient en fonction du mode d'ingestion et de la matière active.

Les doses de chlorpyrifos éthyle testées entraînent très peu de mortalité et les données obtenues avec deltaméthrine qui sont hétérogènes n'ont pas permis de valider les DL50 trouvées. La valeur de DL50 du chlorpyrifos en ingestion collective est comparable à celle de la littérature mais la DL50 de la deltaméthrine est six à dix fois moins toxique que la valeur de DL50 de la littérature (Tableau 1).

Par contre, il n'y a pas de différence de toxicité en ingestion individuelle et collective à dose forte de diméthoate. Mais, la dose faible de diméthoate entraîne plus de mortalité en ingestion collective qu'en ingestion individuelle (Tableau 2).

Insecticides	Mode d'ingest	Littérature (ng/ab)	Gamme de doses (ng/ab)	r	Nb d/répétitions et doses	Lim inf.<DL50 <Lim sup (ng/abeille)	
						24 h	48 h
Chlorpyrifos éthyle	Indiv	250	83,87- 205,00	1,25	5 doses répétition	Peu de mortalité	
	Collect					153,08< 164,05 <173,35	153,30< 164,34 < 73,77
Deltaméthrine	Indiv	4-67	294,44-1490,62	1,5	5 doses répétition	11,16<311,19<663,59	25,98<295,97<579,22
	Collect					264,34< 401,65 <542,39	289,80< 364,18 <428,48
						valable	valable

Tableau 1 : DL50 de la deltaméthrine et du chlorpyrifos éthyle en ingestion individuelle et collective (r : raison géométrique : facteur multiplicatif entre les doses)

Diméthoate	Mode d'ingest	Littérature	Dose $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	n	Effet du au traitement 24 h après ingestion			Effet du au traitement 48 h après ingestion		
					Taux de mortalité 24h	ddl	p (Chi)	Taux de mortalité 24h	ddl	p (Chi)
Forte	Indiv	C.E.B. n°95	3,5	21	87,31 \pm 5,67	39	0,63	83,57 \pm 5,72	39	0,63
	Collect			21	82,62 \pm 3,96			82,62 \pm 3,96		
Faible	Indiv		1	21	44,29 \pm 6,44	39	0,0065	45,71 \pm 6,12	39	0,0018
	Collect				21			31,67 \pm 4,52		

Tableau 2 : Comparaison des pourcentages de mortalité entre ingestion individuelle et collective de diméthoate

DISCUSSION

Le chlorpyrifos éthyle et la dose faible de diméthoate ont un effet plus toxique 24 et 48 heures après une ingestion collective qu'après une ingestion individuelle. Et à dose forte de diméthoate, la matière active se comporte de la même manière par ingestion collective et par ingestion individuelle. Et, on ne peut pas conclure sur l'effet de la deltaméthrine selon le mode d'ingestion.

De plus, on ne peut pas déterminer les DL50 de la deltaméthrine et du chlorpyrifos éthyle administrés par ingestion individuelle.

La valeur de DL50 du chlorpyrifos par ingestion collective est comparable à celle de la littérature mais la DL50 de la deltaméthrine est six fois moins toxique que la valeur de DL50 de la littérature.

Les variabilités observées en fonction du mode d'ingestion ou de la matière active peuvent s'expliquer par la variabilité de la quantité reçue par abeille par ingestion collective en raison du phénomène de trophallaxie. Cette différence proviendrait d'une compétition de prise de nourriture ingérée par quelques abeilles au détriment des autres, quand elles sont en groupe. Et du fait des échanges aléatoires de nourriture entre individus, les abeilles ne reçoivent probablement pas la même quantité de molécule toxique (Van Buren *et al.*, 1993). De plus, on n'arrive pas à contrôler la quantité reçue par abeille en ingestion collective lors de la détermination de la DL50. Decourtye (2002) a montré que l'administration individuelle d'imidaclopride (néonicotinoïde) induit une dose létale inférieure à celle obtenue par ingestion collective. Nous n'avons pu confirmer cette différence pour les molécules que nous avons testées. Une variabilité dans le phénomène de trophallaxie peut interférer sur la répartition homogène d'insecticide en fonction de la taille du lot considéré, ce qui entraîne une estimation imprécise de la DL50.

CONCLUSION

La valeur de DL50 par ingestion exprimée en ng/abeille est difficilement interprétable. Cependant, on peut dire que l'ingestion collective est la plus proche de la réalité chez les insectes sociaux et serait à recommander pour ne pas sous-estimer la toxicité des produits. La détermination de la dose létale par ingestion chez l'abeille est rendue complexe du fait de la variabilité du phénomène de trophallaxie nécessitant une étude plus approfondie, ce qui permettrait d'améliorer l'estimation de la toxicité de pesticides par la méthode C.E.B. n°95 en ingestion.

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement tous ceux qui m'ont aidée dans la réalisation de cette étude L. Kaiser, pour son co- encadrement scientifique au laboratoire, A. Decourtye, pour ses conseils lors des différentes manipulations, M. Charreton qui m'a aidé pour prélever les abeilles. Ce

travail est réalisé dans le cadre d'une Thèse financée par une bourse de coopération Franco-Malgache.

RÉFÉRENCES

- Atkins E.L., Kellum D., Atkins K.W., 1981. Reducing pesticides hazards to honey bees : Mortality Prediction Techniques and Integrated Management Strategies. Univ. Calif. Div. Agri. Sci. Leaf. 2883.
- Cluzeau, S. & Paternelle, M.C., 2000. Index phytosanitaire. 36ème édition. Association de Coordination Technique Agricole. 73 ; 78-79 ; 117 .
- Commission des Essais Biologiques (C.E.B.), 1996. Méthode de laboratoire d'évaluation de la toxicité aiguë orale et de contact des produits phytopharmaceutiques chez l'abeille domestique *Apis mellifera* L. Methode n°95. Association Nationale de Protection des plantes. 8p.
- Decourtye A., 2002. Etude de l'impact de produits phytopharmaceutiques sur la survie et l'apprentissage associatif chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.). Thèse de Docteur en Sciences de l'université Paris XI Orsay. 137p.
- Faucon J.P., Flamini C., Colin M.E., 1985. Evaluation de l'incidence de la deltaméthrine sur les problèmes de cheptel apicole. Ere partie : Etude de la toxicité aiguë. Appréciation de la validité des méthodes de dosage des résidus de la deltaméthrine. Bull. Lab. Vet. 17. 49-65.
- Finney D.J., 1971. Probit analysis, 3rd edition. Cambridge. University Press. (U.K.). 27p.
- Reboulet J.N., 1994. Impact des produits phytosanitaires sur la faune auxiliaire. Méthodologie d'expérimentation en vergers. ACTA-POINT 1, Paris ; 45 p.
- Soderlund D.M., Hessney C.W. & Helmuth D.W., 1983. Pharmacokinetics of cis- and trans substituted pyrethrinoids in the american coackroach. Prog. Pestic. Biochem. Toxicol. 20. 161-168.
- Stevenson, J.H., 1968. Laboratory studies on the acute contact and oral toxicities of insecticides to honey bees. Annals of Applied biology. 61. 467-472
- Van Buren N.W.M., Mariën A.G.H., Velthuis H.H.W., 1993. The effectiveness of systemic agents used to control the mite, *Varroa jacobsoni*, in colonies of the honey bee, *Apis mellifera* depends on food distribution patterns. Apidologie. 24. 33- 43.
- Worthing, C.R., 1979. The pesticide manual. A world compendium. 6th edition. British crop Protection Council. 119 ; 137 ; 432.

RYTHME D'ACTIVITÉ ET COMPORTEMENT PRÉDATEUR
CHEZ LA FOURMI ARBORICOLE NÉOTROPICALE
DOLICHODERUS BIDENS (L.) (HYMENOPTERA : FORMICIDAE)

P. Servigne¹, B. Corbara², C. Gaspar¹, A. Dejean³, J. Orivel³

¹Unité de Zoologie Générale et Appliquée,

F.U.S.A.Gx, 2, Passage des déportés, 5030 Gembloux, Belgique.

²LAPSCO, Université Blaise Pascal, CNRS UMR 6024, 34 Avenue Carnot,
F-63037 Clermont-Ferrand cedex, France.

³LET, Université Paul Sabatier, CNRS UMR 5552

118, Route de Narbonne, F-31062 Toulouse cedex, France.

INTRODUCTION

Dolichoderus bidens est une fourmi néotropicale arboricole polycalique qui construit des nids en carton fin sous les limbes des feuilles d'arbres. Selon la littérature, son alimentation liquide se compose essentiellement de miellat ou de sécrétions de nectaires extrafloraux (Delabie, 1991; Leston, 1978; MacKay, 1993; Corbara et coll., 2000). Les données sur son alimentation solide et son éventuel comportement prédateur sont quasi inexistantes. Nous présentons ici les premiers résultats concernant les rythmes d'activité de fourrage et le comportement prédateur de cette espèce fréquente en Guyane française.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce travail a été réalisé en Guyane française, sur les lisières des pistes et routes des alentours du barrage de Petit Saut (commune de Sinnamary) de Mars à Juin 2002. Les rythmes d'activité ont été enregistrés sur un nid situé en lisière de forêt, en contrebas d'une petite vallée perpendiculaire à la route d'accès au barrage. Ce nid, composé de 42 calies, était situé à l'extrémité d'une branche de *Vismia sessilifolia* (J.B. Aublet) Choisy. Les mesures ont été effectuées par temps sec et peu venteux, la pluie et le vent perturbant considérablement l'activité des fourmis. En raison de la fréquence des pluies, les observations se sont déroulées pendant une semaine pour pouvoir couvrir une période de 24 heures. Pour décrire le rythme d'activité de fourrage de cette société, nous avons pris en compte :

- le nombre d'ouvrières présentes à la surface de trois calies prises au hasard.
- le nombre d'ouvrières présentes à la surface de deux branches de fourrage prises au hasard.
- le nombre d'allers-retours par 5 minutes, sur la branche principale qui mène au nid.

L'étude du comportement prédateur a été réalisée sur trois sociétés distinctes. Les ouvrières de *D. bidens* (taille : 1 cm; masse : $7,48.10^{-3}$ g, moyenne pour 100 ouvrières) étant confrontées à trois sortes de proies :

- un termite *Reticulitermes* sp. (taille : 4 mm; masse : $2,08.10^{-3}$ g, moyenne pour 100 proies); 33 cas.
- un criquet (taille : 30 à 40 mm; masse : $7,84.10^{-2}$ g, moyenne pour 10 proies). Les tibias des pattes postérieures sont préalablement enlevés; 32 cas.
- 30 termites groupés; 33 cas.

Une liste complète des séquences comportementales (détection, attaque, capture, recrutement, écartèlement, transport de la proie) a été mise au point sur base d'observations préliminaires. Les séquences ont été enregistrées par observation directe depuis l'introduction d'une proie jusqu'à sa disparition du champ visuel (tombée ou emportée dans le nid par les ouvrières). Ceci permet de construire un éthogramme séquentiel avec les fréquences de transition entre chaque séquence comportementale.

RÉSULTATS

Rythmes d'activité.

D. bidens est active et garde ses territoires 24h/24, on parlera de *territorialité absolue* (Hölldobler & Wilson, 1990). Les ouvrières sont présentes à la surface des calies toute la nuit, le matin et le soir. Elles rentrent dans les calies aux heures les plus chaudes de la journée (entre 12 h et 15h). Les aires de fourragement sont constamment fréquentées durant tout le cycle du nyctémère. Le jour, les ouvrières restent souvent immobiles sous les branches à proximité des Hémiptères exploités pour le miellat, alors que la nuit les mouvements sont plus fréquents.

Les flux entre le nid et les aires de fourragement confirment une légère préférence pour l'activité nocturne des fourmis. Les pistes forment un flot presque incessant d'ouvrières qui effectuent des allers-retours, le plus souvent par groupes de quatre à cinq ouvrières.

Prédation

Cas d'un termite

Les ouvrières de *D. bidens* en exploration détectent la proie une fois sur deux par contact, puis la capturent (45,4 %) ou l'évitent et l'ignorent (6,1 %). Dans le cas où l'ouvrière détecte la proie à distance (1 à 2 cm) (48,5 %), elle approche rapidement et saisit la proie, toujours par le corps. La saisie, très rapide, est suivie par une traction en arrière (27,3 %), soit pour rejeter, soit pour garder la proie. Après la capture nous observons une grande variété de comportements : attitude "calme" et très efficace, très "excitée", "malaxage" du termite sur place (6,1%) ou encore utilisation d'un venin de contact (absence d'aiguillon) (30,4 %) qu'elle dépose sur la proie en recourbant l'abdomen sous son thorax. Au final, les proies sont ramenées au nid (85 %) ou rejetées (9 %). Le recrutement à courte distance, sonore (tapotements de l'abdomen sur le substrat), n'est pas utilisé. Le laps de temps pour trouver la proie est très variable (moyenne : 7 min ; min : 1 min ; max : 30 min).

Cas d'un criquet

Les proies sont détectées par une ou deux ouvrières en exploration. La proie est saisie par une patte (75 %) ou l'abdomen (25 %). Toutes les ouvrières tirent leur proie en arrière et recrutent des congénères par recrutement à courte distance (tapotements). Il en résulte un écartèlement de la proie. Le venin est utilisé dans 40 % des cas. Le nombre de rejets de proies est non négligeable et représente 17 % directement par la première ouvrière, 30 % après écartèlement. Les proies restantes (53 %) sont découpées sur place et les morceaux transportés au nid (41 %) ou rejetés (12 %). Pour ces 53 %, une piste chimique de recrutement de masse est tracée et attire en moyenne 13 ouvrières qui écartèlent et 15 qui patrouillent autour de la proie. Le temps mis pour évacuer une proie après un recrutement chimique peut varier de 5 min à 1h19 min.

Cas de 30 termites

La détection à distance est plus fréquente. La différence fondamentale avec l'expérience du termite seul se trouve dans l'élaboration d'une piste chimique de recrutement de masse après un temps moyen de 9 min (mesuré sur 14 cas). Après l'arrivée des ouvrières en nombre, tous les termites sont ramenés au nid (sauf 10 sur 990 qui sont mangés sur place). Dans tous les cas (n = 33), le venin a été utilisé, mais au sein même d'une expérience à 30 termites, toutes les ouvrières ne l'ont pas utilisé (6,5 sur les 30 en moyenne). À noter que le venin est souvent utilisé par les mêmes ouvrières. Contrairement aux cas avec un seul termite, nous avons observé un comportement d'écartèlement pour 7 termites (sur 990). La proie est alors découpée sur place (5 cas) ou mâchée directement (2 cas). Le recrutement à courte distance apparaît tardivement, après quelques minutes, parfois après l'arrivée massive d'ouvrières. La durée moyenne d'une séquence entière (du premier termite détecté au dernier capturé) est de 21 min (mesure sur 29 cas), variant de 4 à 50 min.

CONCLUSION

Outre son agressivité et sa capacité à nidifier de façon autonome dans un arbre (Servigne, 2002), *Dolichoderus bidens* par son comportement prédateur, présente de nombreuses caractéristiques comportementales communes avec certaines sociétés de fourmis arboricoles dominantes (Orivel, 2000). La territorialité absolue, l'écartèlement des proies, la détection suivie d'une attaque rapide, la capture de grandes proies grâce à un recrutement à longue distance, l'utilisation d'un recrutement à courte distance et la chasse en groupe sont autant de caractéristiques que l'on retrouve chez d'autres dominantes.

Cependant, ses effectifs modestes (quelques milliers d'ouvrières tout au plus) et ses petits territoires ne permettent pas de la classer parmi les fourmis dominantes. Nous lui préférons le statut de sub-dominante.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Philippe Cerdan du Laboratoire Environnement de Petit Saut (HYDRECO-EDF) pour son soutien logistique sur place. Merci également à Ariane Dor, Bérangère Lavabre, Laureline Rousson et David Oudjani pour leur aide sur le terrain.

RÉFÉRENCES

- Corbara B., Dejean A., Orivel J., 2000. Une guêpe sociale associée à la fourmi arboricole *Dolichoderus bidens* (Dolichoderinae). *Actes Coll. Ins. Soc.*, 13,115-119.
- Dejean A., 1990. Circadian rhythm of *Oecophylla longinoda* in relation to territoriality and predatory behaviour. *Physiol. Entomol.*, 15, 393-403.
- Hölldobler B., Wilson E. O., 1990. *The ants*. Harvard University Press, Cambridge, Mass, 732 pp.
- MacKay W. P., 1993. A review of the New World ants of the genus *Dolichoderus* (Hymenoptera : Formicidae). *Sociobiology*, 22, 1-148.
- Orivel J., 2000. *L'adaptation à la vie arboricole de la fourmi *Pachycondyla goeldii* (Hymenoptera : Formicidae)*. Thèse de Doctorat, Université Paris XIII, 225 pp.
- Servigne P., 2002. *Eco-éthologie de la fourmi arboricole *Dolichoderus bidens* (L.) (Hymenoptera : Dolichoderinae) en Guyane Française*. Travail de fin d'études, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, 62 pp.

STRATEGIES DE REPRODUCTION CHEZ *CARDIOCONDYLA ELEGANS* : POSSIBILITES DE TRANSFERTS INTER-NIDS DE SEXUES

S. Stoeckel, J. Brotons, J.L. Mercier

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS N° 6035,
Faculté des Sciences et Techniques, Parc de Grandmont, 37200 Tours, France.
solenn.stoeckel@etu.univ-tours.fr

RESUME

Chez les Formicidae, certaines espèces monogynes du genre *Cardiocondyla* ne produisent que des mâles aptères. Il est admis que ces mâles ergatoïdes ne quittent pas leur nid. Ils fécondent uniquement les femelles qui se trouvent dans leur colonie. Dans ce cas, comment ces espèces assurent-elles le brassage génétique ?

Afin d'évaluer les possibilités de transferts de sexués entre nids, nous avons quantifié l'agressivité développée par les ouvrières de *C. elegans* vis-à-vis de femelles ailées et de mâles ergatoïdes provenant des mêmes colonies ou de colonies étrangères. Nos expériences montrent que les deux sexes suscitent de la part des ouvrières une agressivité très faible, du même ordre de grandeur que l'agressivité développée vis-à-vis d'ouvrières étrangères. Par ailleurs, des tests d'adoption par introduction dans des nids artificiels de femelles ailées résidentes ou étrangères montrent que lorsqu'une femelle ailée cherche à pénétrer un nid étranger comportant déjà une reine, elle est tuée en moyenne au bout de 2,6 jours. Cependant, il semblerait que les colonies sans reines de *C. elegans* soient capables d'adopter de nouvelles femelles, quelle que soit leur origine.

Sur le terrain, nous avons observé la présence de mâles ergatoïdes à l'extérieur des nids, ce qui confirme la possibilité d'un transfert de mâles d'un nid à l'autre. Bien que les colonies soient toujours monogynes, les deux formes sexuées auraient donc la possibilité de transiter d'un nid à l'autre, et d'assurer un certain brassage génétique entre des colonies dont l'agressivité laisse penser qu'elles sont génétiquement relativement proches.

MOTS-CLES : *Cardiocondyla* ; reproduction ; reconnaissance de congénères ; agressivité ; brassage génétique.

ABSTRACT

In Formicidae, several monogynous species of the genus *Cardiocondyla* produce only wingless males. Those ergatoid males have always been considered to stay inside their own colony and consequently mate only with winged females found inside their nest. In such a case, how do these species insure outbreeding?

In order to evaluate the possible shift of sexuals from one colony to another one, we quantified the aggressiveness of workers of *C. elegans* towards winged gynes and ergatoid males originating from the same or different colonies. Our experiments showed workers are very slightly aggressive towards both sexual forms, as they are towards non-nestmate workers. In addition, we performed adoption tests of young winged females in artificial colonies. We found that a winged female introduced in a queenright colony is killed after about 2.6 days. However, queenless colonies may adopt new winged females, whatever they may be originating.

In the field, we observed ergatoid males walking or staying outside the entrance of their nest, which tend to confirm the possible shift of ergatoid males from a nest to another one. Although colonies of *C. elegans* are monogynous, both sexual forms may be accepted in neighbouring colonies, and thus partly insure outbreeding between two probably genetically related non-aggressive colonies.

KEY-WORDS : *Cardiocondyla*; reproduction; nestmate recognition; aggressiveness; outbreeding.

LA FAIBLE DIVERSITE GENETIQUE EN INDE DE LA FOURMI SANS REINE
DIACAMMA INDICUM SUGGERE UNE RECENTE INTRODUCTION

B. Viginier, L. Brazier, C. Peeters, C. Doums

Laboratoire d'Écologie, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai St Bernard, 75005 Paris,
France
e-mail: cdoums@snv.jussieu.fr

L'absence de reine ailée chez diverses familles de fourmi restreint les capacités de dispersion et peut mener à un fort niveau de différenciation génétique entre les populations, comme cela a été observé chez la fourmi sans reine *Diacamma cyaneiventre* en Inde (Doums et al., soumis). Dans ce travail, nous avons analysé la structure génétique des populations en Inde d'une autre fourmi sans reine *Diacamma indicum* qui diffère des autres espèces par ses caractéristiques écologiques. *D. indicum* est également monogyne (une seule gamergate par colonie) et monoandre avec reproduction des colonies par fission. Cependant, les colonies sont de taille plus petites (88 ± 62 ouvrières, $N=11$) avec un nid souterrain moins complexe et moins profond, et des mouvements de colonies ont pu être observés. Ces caractéristiques laissent suggérer une plus grande fréquence de mouvement et fission des colonies et donc potentiellement un plus fort flux de gènes chez *D. indicum* que chez *D. cyaneiventre*. Une étude de la structure des appareils génitaux mâles menée par W.L. Brown Jr, indique que *D. indicum* en Inde est la même espèce que *Diacamma sp.* du Japon. *D. indicum*, qui se trouve également au nord de l'Inde et au Sri Lanka, possède donc une aire de distribution beaucoup plus large que la majorité des *Diacamma*, suggérant également une plus grande capacité de dispersion.

Afin de tester l'hypothèse d'un flux de gènes plus élevé chez *D. indicum*, nous avons développé des marqueurs microsatellites en utilisant la même procédure que pour *D. cyaneiventre* (Doums 1999). Nous avons déterminé le niveau de polymorphisme pour 10 loci microsatellites dans neuf populations indiennes (2 à 5 colonies par population avec un individu dans chaque colonie), deux de Sri Lanka (collectées par S. Yamane) et 2 de Okinawa (Japon, collectées par K. Tsuji). Nous avons également analysé le niveau de polymorphisme de l'ADN mitochondrial à partir d'une séquence de 600bp du gène CO2 (1 individu par population).

Les données mitochondriales confirment que *D. indicum* en Inde est proche génétiquement de *Diacamma sp.* du Japon (voir notre phylogénie moléculaire à <http://www.biologie.ens.fr/fr/ecologie/phylogenie.html>). Le niveau de polymorphisme s'est avéré très faible en Inde pour les deux types de marqueurs par comparaison à *D. cyaneiventre* (Doums et al., soumis). Ces premiers résultats indiquent que *D. indicum* a subi récemment une forte réduction de la taille de sa population en Inde, suggérant une introduction récente en Inde, probablement liée aux échanges humains. Sa large distribution actuelle en Inde indiquerait une colonisation rapide, qui serait en accord avec les caractéristiques écologiques de *D. indicum*, qui pourrait en faire une espèce invasive.

MOTS -CLES: Dispersion, espèce invasive, ponerinae, gamergates

Doums C., Cabrera H., Peeters C. Population genetic structure and male-biased dispersal in the queenless ant *Diacamma cyaneiventre*. Soumis.

APIDOLOGIE, UNE REVUE FRANCO-ALLEMANDE DEVENUE INTERNATIONALE.

C. Courant

UMR INRA-UAPV Ecologie des Invertébrés, 84914 Avignon cedex 9

RESUME

On présente l'historique de la revue *Apidologie*, son mode de fonctionnement, ainsi que quelques données chiffrées issues des 4 dernières années sur les articles publiés.

APIDOLOGIE, UNE REVUE ORIGINALE

1. Par son propriétaire :
 - le propriétaire n'est pas un éditeur commercial mais deux organismes, l'un français (INRA) , l'autre allemand (DIB).
 - Le copyright est partagé avec l'éditeur, mais le titre appartient aux deux organismes.
 - Les organismes propriétaires et les deux fondateurs de la revue (J. Louveaux et F. Ruttner) ont su très vite quitter la simple collaboration franco-allemande pour donner à *Apidologie* une dimension internationale.
2. Par son caractère trilingue :
 - possibilité de publier en français ou en allemand, même si 97 à 100% des articles sont publiés actuellement en anglais.
 - Présence systématique d'un résumé détaillé dans les deux autres langues.
3. Par son mode de fonctionnement :
 - pas de Rédacteur-en-chef mais un comité de rédaction qui travaille de façon collégiale. Les décisions sont prises par l'ensemble des rédacteurs.
 - Chaque rédacteur prend en charge un certain nombre de manuscrits qu'il conduit jusqu'à l'acceptation ou le rejet.
 - La coordination est assurée par une information mutuelle par courriel et
 - par un « managing editor » qui centralise les informations et les manuscrits, assure les relations avec l'éditeur commercial et les organismes propriétaires, apporte un appui technique dans le domaine de l'édition scientifique.
4. Par le domaine couvert : revue transversale couvrant des champs thématiques qui appartiennent à diverses disciplines scientifiques.
5. Par l'esprit qui anime le Comité de rédaction : « Maximum communication in a spirit of friendship » (F. Ruttner) fait que la direction collégiale a toujours très bien fonctionné.

DATES IMPORTANTES DANS L'EVOLUTION DE LA REVUE

- 1970 :Création d'*Apidologie* par fusion des *Annales de l'Abeille* et de la *Zeitschrift für Bienenforschung*. Deux rédacteurs : 1 français et 1 allemand.
- 1981 : Création d'un Comité de rédaction tricéphale, FRA-DEU-USA, avec l'arrivée d'un rédacteur américain.
- 1984 :Début d'informatisation de la gestion des manuscrits. Création d'un Comité scientifique international.

- 1987 :Le Comité de rédaction s'étoffe : 2 allemands, 2 français (dont un « managing editor »), 2 américains.
- 1989 :Passage à 6 numéros par an.
- 1996 :Utilisation systématique des manuscrits sur disquette.
- 1998 : Un autre rédacteur français rejoint le Comité de Rédaction.
- 2000 :Version électronique en ligne pour les abonnés. Sommaires et abstracts en libre accès sur Internet. Utilisation maximale des moyens électroniques pour la soumission et l'envoi des manuscrits aux lecteurs.
- 2001 : Arrivée d'un 3^e rédacteur germanophone. Le Comité de Rédaction comporte 7 rédacteurs scientifiques (2 francophones, 2 anglophones, 3 germanophones) et un « managing editor ».
- 2002 : Soumission des manuscrits centralisée chez le « managing editor » qui les répartit, par voie électronique, aux rédacteurs scientifiques.
- 2003 : Création d'une base de données en ligne pour l'ensemble des rédacteurs et d'un site web pour la soumission des manuscrits.

LES EDITEURS D'APIDOLOGIE

De 1970 à 1988 l'INRA a été son propre éditeur.

De 1989 à 1999 : En 1989, l'INRA a souhaité confier l'ensemble de ses revues, dont *Apidologie*, à un éditeur privé afin d'améliorer leur diffusion et ce sont les Editions Scientifiques et Médicales Elsevier, filiale parisienne du groupe Elsevier qui ont été choisies.

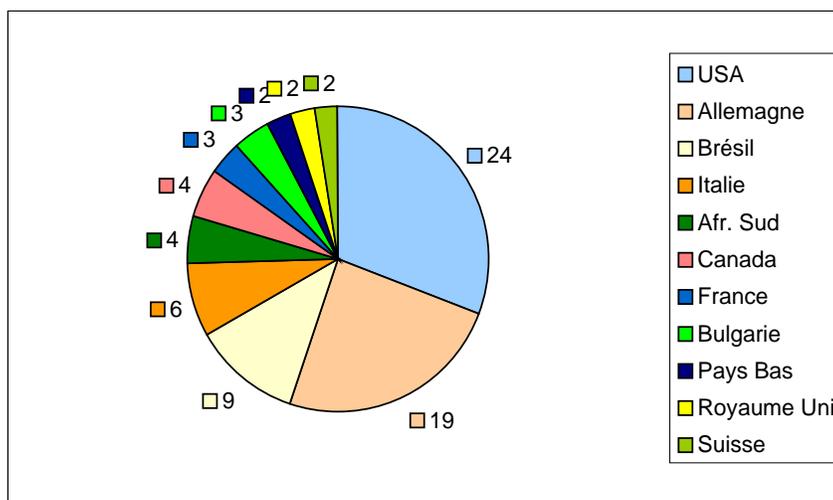
Depuis 2000 : Fin 1999 l'appel d'offres a retenu l'éditeur EDP Sciences, spécialisé dans l'édition de revues pour des sociétés savantes. Il s'agit d'une société anonyme dont les principaux actionnaires sont la Société française de Physique et la Société Française de Chimie.

Les fondateurs d'Apidologie : Le Prof. Dr. Friedrich RUTTNER et le Dr. Jean LOUVEAUX

Les deux revues *Annales de l'Abeille* et *Zeitschrift für Bienenforschung* avaient le même but, publier les résultats de la recherche concernant les abeilles, leur biologie et leurs produits, et aussi les mêmes difficultés. C'est sur une route bulgare en octobre 1968 dans un car de tourisme, où Friedrich Ruttner et Jean Louveaux, collègues et amis de longue date, étaient assis côte à côte, qu'a germé l'idée d'unir les forces pour créer une revue de plus grande envergure. Quel nom lui donner qui soit à la fois neutre et significatif pour les Allemands et les Français? *Apidologie* fut la réponse.

QUELQUES DONNEES SUR LES 4 DERNIERES ANNEES (1998-2001)

1. La répartition des articles en fonction de l'origine géographique des auteurs.



Les articles sont issus en moyenne de 22 pays différents.

Deux pays se détachent nettement, et ce depuis très longtemps : les Etats Unis (24% des manuscrits publiés) et l'Allemagne (19%). Le Brésil, où la recherche sur les abeilles est développée dans de nombreuses universités, vient en 3^e position (9%), suivie par l'Italie (6%), où là aussi de nombreux laboratoires de recherches étudient les abeilles et leurs produits. Viennent ensuite l'Afrique du Sud et le Canada (4% chacun), puis la France et la Bulgarie (3% chacun). Les Pays Bas, le Royaume-Uni et la Suisse représentent chacun 2% des manuscrits publiés.

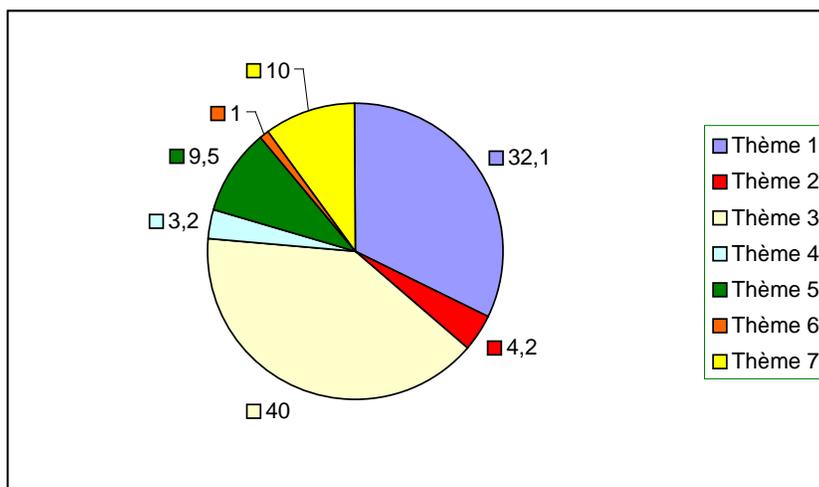
2. La répartition des articles en fonction du thème

Apidologie publie des travaux portant sur la biologie des abeilles s.l., c'est-à-dire des insectes de la super famille des Apoidea, sur leur élevage, leur utilisation pratique et leurs produits. Les articles ont été classés en 7 rubriques (cf légende de la figure). Il s'agit d'une classification grossière, qui fournit néanmoins les principales tendances. Pour affiner l'étude il serait nécessaire de faire une analyse factorielle en s'appuyant sur les mots clés qui décrivent le contenu des articles.

Le thème qui vient en tête (thème 3 : 40% des manuscrits publiés) concerne les maladies, les parasites et l'écotoxicologie des abeilles. L'abeille domestique (*Apis mellifera*), largement utilisée de par le monde, est victime de nombreuses maladies et parasites, dont principalement l'acarien *Varroa destructor* (anciennement *jacobsoni*), et de nombreuses études tentent d'y apporter un remède. L'écotoxicologie des diverses abeilles qui font l'objet d'un élevage s'est bien développée ces dernières années. A noter que le numéro thématique de 1999 appartenait à ce thème.

Le second thème (32,1 %) inclut les divers aspects de la biologie du genre *Apis* et mériterait, à ce titre, d'être subdivisé. Une partie non négligeable de ces manuscrits a trait à la génétique des populations et à la biologie évolutive du genre *Apis*. Je vois deux raisons à cela : 1) le genre *Apis*, de par son mode de reproduction, est un modèle intéressant pour ce genre d'études et *Apis mellifera* est une des rares espèces qui a donné lieu à la description de si nombreuses sous-espèces ; 2) historiquement ce domaine a toujours été bien représenté parmi les domaines de compétence des rédacteurs d'*Apidologie* et continue à l'être.

Viennent ensuite les études sur la biologie des autres Apoïdes (10%) et sur les produits du rucher (9,5%). Les relations abeilles-plantes ne représentent que 4,2% des articles publiés.



Thème 1 = Biologie du genre *Apis* (anatomie, biochimie, comportement, génétique, physiologie) = 32,1%

Thème 2 = Relations abeilles/plantes (pollinisation, comportement de butinage, plantes mellifères, pollen, nectar) = 4,2%

Thème 3 = Pathologie, écotoxicologie et relation hôtes-parasites (y compris la biologie du parasite) = 40%

Thème 4 = Techniques apicoles et assimilées = 3,2%

Thème 5 = Produits du rucher (miel, gelée royale, propolis, pollen) = 9,5%

Thème 6 = Divers = 1%

Thème 7 = Biologie des Apoïdes autres qu' *Apis* (sociaux ou solitaires) = 10%

3. Le taux de rejet des manuscrits

Sur la période 1998-2001, le taux de rejet moyen a été de 41%.

4. Le facteur d'impact

Il monte régulièrement depuis 1995 et est supérieur à 1 depuis 3 ans. Le facteur d'impact pour 2001 est de 1,750.

CONCLUSION

Depuis sa création *Apidologie* a su s'adapter pour se positionner sur la scène scientifique internationale et suivre l'évolution de l'édition scientifique savante. La revue est reconnue comme leader dans son domaine, restreint il est vrai. Cette réussite est le résultat d'un travail continu et de tous les instants d'une équipe qui s'est renouvelée au fil des ans mais a toujours su garder l'esprit qui avait présidé à la création de la revue.