

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.

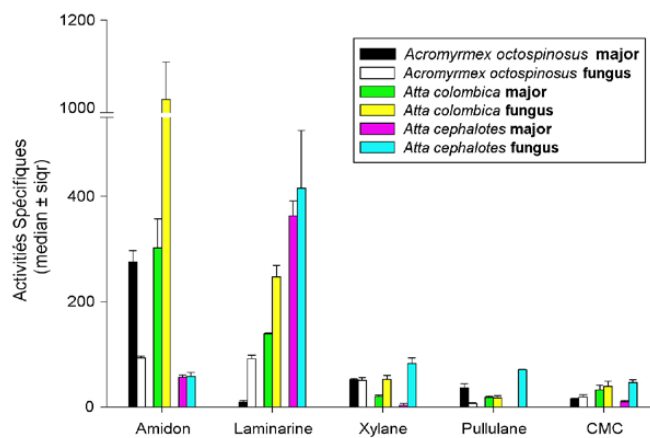


Figure 1. Spectres de différents polysaccharides des fourmis (majors) et de leur champignon chez trois espèces. L'activité spécifique est exprimée en μg de sucres réducteurs par gramme de fourmis ou gramme de champignon par minute.

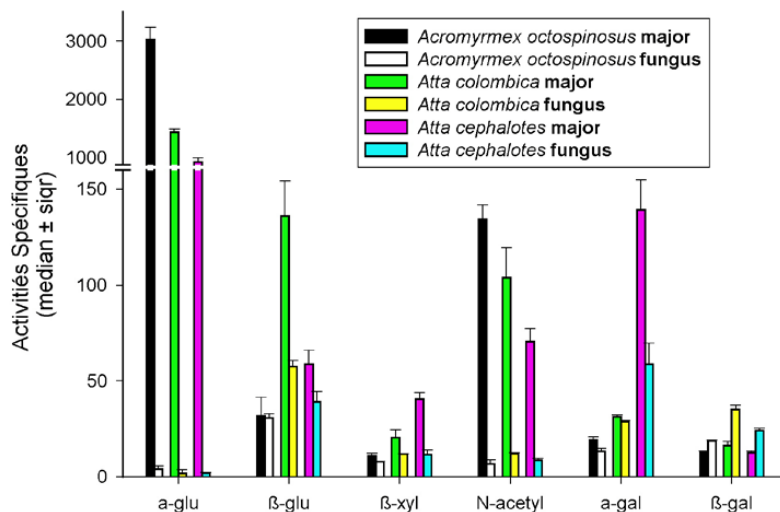


Figure 2. Spectres de différents hétérosides des fourmis (majors) et de leur champignon chez trois espèces. L'activité spécifique est exprimée en μ g de sucres réducteurs par gramme de fourmis ou gramme de champignon par minute.

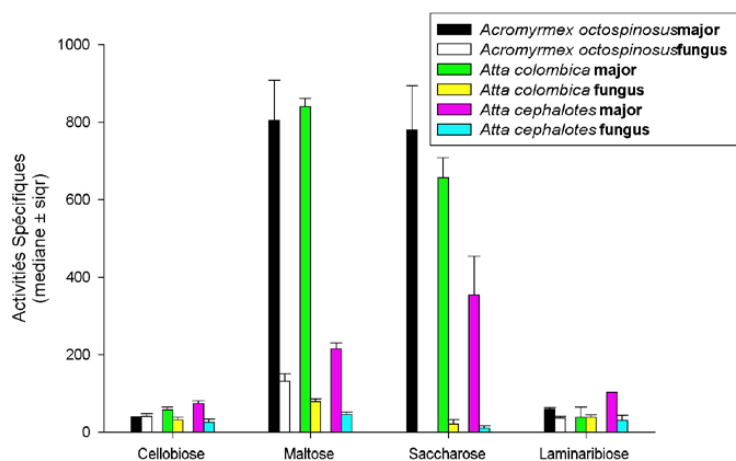


Figure 3. Spectres de différents oligosaccharides des fourmis (majors) et de leur champignon chez trois espèces. L'activité spécifique est exprimée en μ g de sucres réducteurs par gramme de fourmis ou gramme de champignon par minute.