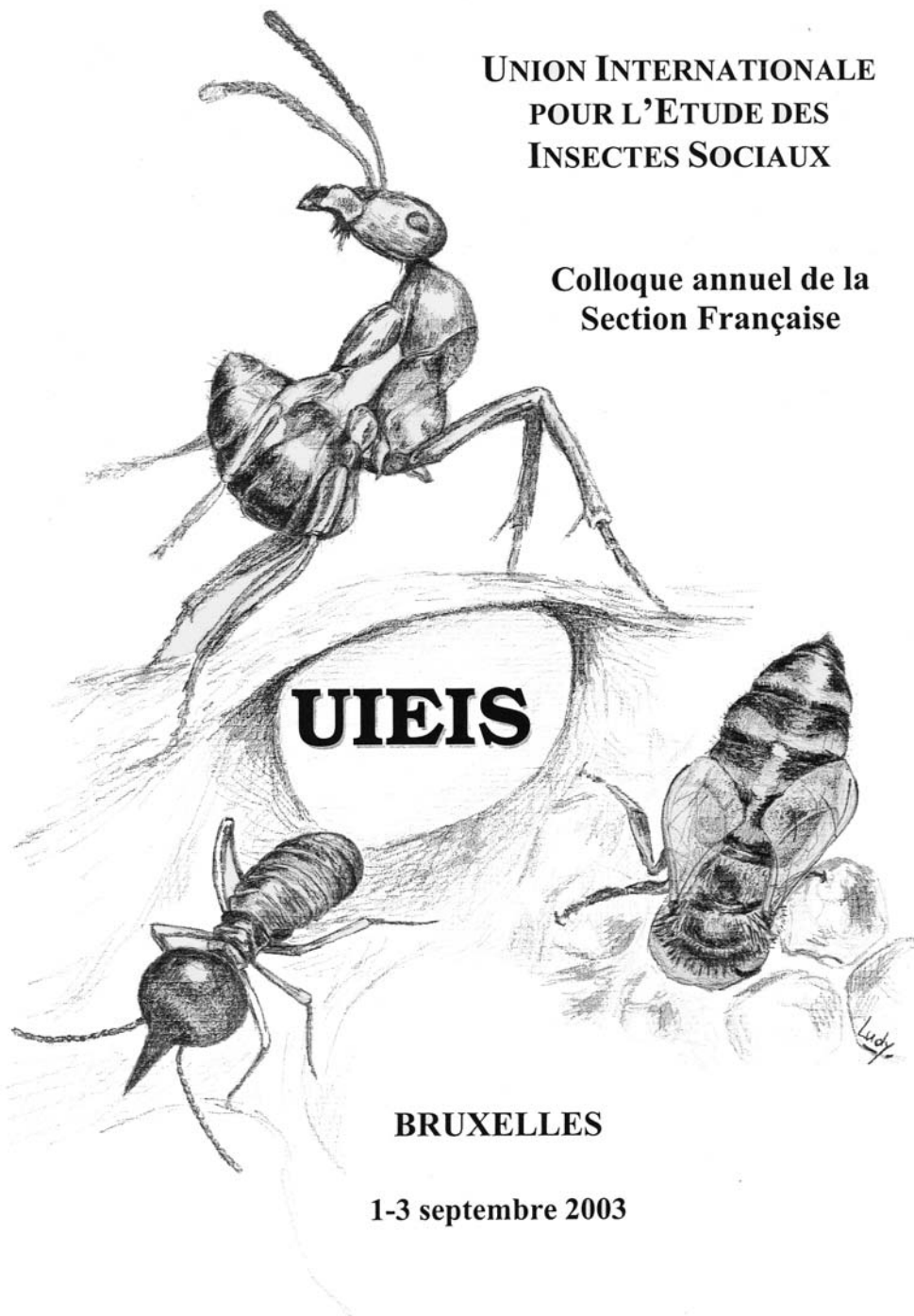


Actes des Colloques Insectes Sociaux

Volume 16 (2004)

UNION INTERNATIONALE
POUR L'ÉTUDE DES
INSECTES SOCIAUX

Colloque annuel de la
Section Française



BRUXELLES

1-3 septembre 2003

Dessin : Ludivine de Menten

LE PROFIL D'HYDROCARBURES CUTICULAIRES SIGNALE-T-IL LA PRESENCE D'UNE REINE FECONDEE CHEZ LA FOURMI *CAMPONOTUS LATERALIS* ?

par Hamidi Rachid, Serge Aron et Jean-Christophe de Biseau

Service d'Éco-Éthologie évolutive (CP 160/12), Université Libre de Bruxelles, 50 av. F. Roosevelt, 1050 Bruxelles, Belgique - rhamidi@ulb.ac.be

Introduction

Un nombre croissant d'études montre que l'activité ovarienne est corrélée avec une modification du profil d'hydrocarbures cuticulaires (HCC) chez les fourmis. Toutefois, ces études concernent principalement des espèces "primitives" appartenant aux sous-familles des Ponerinae et des Myrmeciinae (Monnin et al., 1998; Peeters et al., 1999; Liebig et al., 2000; Cuvillier-Hot et al., 2001; Heinze et al., 2002). La relation entre le profil d'HCC et la fertilité chez les fourmis "évoluées" a été très peu étudiée. Chez *Camponotus vagus*, alors que le profil cuticulaire de la reine est très proche de celui des ouvrières au début de la période d'hibernation, il s'en distingue très nettement pendant la saison de reproduction (Bonavita-Cougourdan et Clément, 1994). Chez *Leptothorax acervorum* et *L. gredleri*, les proportions des composés cuticulaires des reines diffèrent significativement de celles des ouvrières (Tentschert et al., 2002). D'autre part, il a été démontré récemment que le profil d'HCC des reines de l'espèce faiblement polygyne, *Formica fusca*, caractérise le degré de fertilité de l'individu (Hannonen et al., 2002).

Camponotus lateralis (Hymenoptera : Formicidae) est une espèce monogyne, endémique du pourtour méditerranéen. Le dimorphisme entre la reine et les ouvrières est marqué, avec un polymorphisme continu entre les ouvrières. Elle forme des colonies peu peuplées ($N < 1000$ individus). Chez les *Camponotus*, les ouvrières majors possèdent des ovaires fonctionnels capables de donner des œufs haploïdes lorsque la reine meurt ou quand elle est retirée de la colonie (Dartigues et Passera, 1979). Nous avons exploité cette particularité afin d'étudier les hydrocarbures d'individus différents par la caste morphologique et le statut reproducteur. Plus particulièrement, nous avons tenté de répondre aux questions suivantes : La reine exhibe-t-elle un profil d'hydrocarbures cuticulaires spécifique ? Après combien de temps des ouvrières majors et des gynes (reines non fécondées) isolées de la reine se mettent-elles à pondre ? Le profil d'hydrocarbures cuticulaires des majors et des gynes pondeuses se modifie-t-il et devient-il comparable à celui de la reine ?

Matériel et Méthodes

Quatre colonies de *C. lateralis* ont été récoltées dans le sud de la France (Var) en octobre 2001, cinq autres colonies à Montpellier (Languedoc Roussillon, France) en mars 2003.

Constitution des groupes expérimentaux

Afin d'obtenir des ouvrières majors et des gynes (reines non fécondées) pondeuses, nous avons constitué les groupes expérimentaux suivants : 1 Major + 10 minors ($N = 17$) et 2 Gynes + 15 minors ($N = 5$). Toutes les deux semaines, nous avons vérifié la présence d'œufs. Dès l'apparition des premiers œufs, les profils d'HCC des majors et des gynes des groupes correspondants ont été prélevés et analysés. Nous avons également pris soin de vérifier la stérilité des minors de *C. lateralis*, en isolant 85 minors répartis en 4 groupes (tableau 1).

Tableau 1. Inventaire des pontes obtenues dans les groupes expérimentaux : majors (M), gynés (G) et de minors (m) isolés.

Groupe n°	Origines	Castes et effectifs	Temps d'isolement (mois)	Nombre d'œufs pondus
1	Var "D"	20m	8	0
2	Var "A"	20m	8	0
3	Var "D"	20m	8	0
4	Var "B"	25m	8	0
5	Var "C"	1M10m	8	mort de la major
6	Var "C"	1M10m	8	mort de la major
7	Var "C"	1M10m	8	mort de la major
9	Var "C"	1M10m	8	6
10	Var "C"	1M10m	8	0
11	Var "C"	1M10m	8	0
12	Var "C"	1M10m	7	0
13	Montpellier (2)	1M10m	4	2
14	Montpellier (3)	1M10m	4	6
15	Var "C"	1M10m	4	0
16	Montpellier (1)	1M10m	4	0
17	Montpellier (1)	1M10m	4	0
18	Montpellier (5)	1M10m	4	0
19	Montpellier (5)	1M10m	4	0
20	Montpellier (4)	1M10m	4	0
21	Montpellier (4)	1M10m	4	mort de la major
22	Montpellier (5)	1M10m	5	mort de la major
23	Var "B"	2G 15m	9	3
24	Var "B"	2G 15m	9	2
25	Var "B"	2G 15m	9	6
26	Var "B"	2G 15m	9	1
27	Var "B"	2G 15m	9	mort des gynés

Extraction des hydrocarbures

Pour réaliser l'extraction d'hydrocarbures cuticulaires, notre choix s'est porté principalement sur la méthode de micro-extraction en phase solide. La SPME permet l'adsorption des HCC sur une fibre recouverte d'une couche de polydiméthylsiloxane (SUPELCO®) que l'on frotte directement sur l'abdomen la fourmi. Comme celle-ci n'est pas tuée, plusieurs prélèvements peuvent être effectués sur le même individu, à des moments différents (Peeters et al., 1999). Quelques extractions par solvant organique ont également été réalisées. Dans ce cas, le spécimen est tué par congélation, puis plongé dans de l'hexane bi-distillé pendant 10mn.

Analyses chimiques

Les analyses ont été effectuées sur un GC de type "Varian Star 3400 CX series" équipé d'une colonne OV1 ("Chrompack 7442®, type WCOT fused Silica", diamètre de 0,32 mm, longueur de 25 m). Le gaz vecteur était l'hydrogène. Le programme utilisé amène l'injecteur à une température de 250°. La température initiale du four est de 70° et après 2 mn, cette température monte jusqu'à 300° suivant un gradient de 10°/mn. La température du détecteur est fixée à 300°. La durée totale du programme est de 35mn. L'identification des HCC a été réalisée par GC/MS (chromatographe "Varian 8000 Series" couplé à un spectromètre de masse de type "VG Autospec"). Les échantillons ont été analysés en

mode EI (impact électronique) et en mode CI (impact chimique au pentane) afin de permettre une identification précise des hydrocarbures.

Dissections

Les majors et les gynes pondueuses ont été disséquées afin de vérifier leur développement ovarien. A cette fin, nous avons mesuré la longueur du plus gros ovocyte. Douze majors, 7 minors et 3 gynes issues de colonies pourvues d'une reine (Var A, B et C) ainsi que 19 minors appartenant aux groupes orphelinés ont servi de témoins.

Résultats

Le profil d'hydrocarbures cuticulaires chez *Camponotus lateralis*

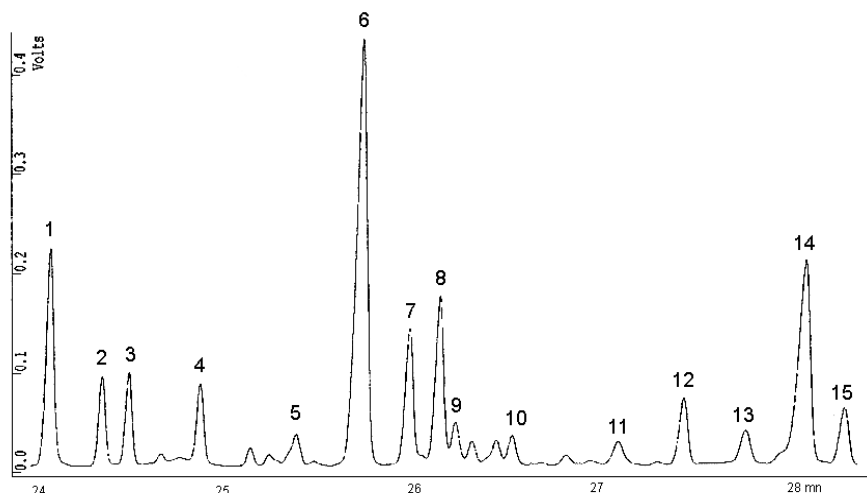


Figure 1. Profil cuticulaire type d'une ouvrière de *C. lateralis*. Les pics numérotés correspondent aux hydrocarbures identifiés au tableau 2.

tps (mn)	Pic	Carbones	MM	EI ions	CI ions (CH4)	Identification
23,8	1	25	352	352	351	Pentacosane
24,1	2	26	366	351, 196	365, 197	13Me pentacosane
24,3	3	26	366	351, 309	365, 309	5Me pentacosane
24,6	4	26	366	366	365	Hexacosane
25,3	5	27	380		379, 337	4Me hexacosane
25,5	6	27	380	380	379	Heptacosane
25,7	7	28	394	379, 253, 224, 196	393, 225, 197	13Me heptacosane
25,9	8	28	394	379, 337	393, 337	5Me heptacosane
26,0	9	29	408	393, 337, 281...	407, 267, 239	x,ydiMe heptacosane ?
26,5	10	28	394	394	393	Octacosane
26,9	11	29	408	407, 393, 365, 295, 239, ...	407, 365, 295, 225	x+yMe octacosane ?
27,2	12	29	408	408	407	Nonacosane
27,6	13	30	422	407, 282, 168	421, 281, 169	11Me nonacosane
27,6	14	31	436	434, 295, 252, ...	435, 295, 239, 225, 169	x,ydiMe nonacosane ?
27,9	15	31	436		437, 311, 295, 272	?

Tableau 2. Identification des hydrocarbures d'une ouvrière (GC/MS).

Le profil des ouvrières minors (n=18) et majors (n=32) de *C. lateralis* est composé d'hydrocarbures dont les principaux s'échelonnent de C25 à C31 (figure 1). L'analyse par GC/MS nous a permis d'identifier la plupart des hydrocarbures étudiés (tableau 2). On distingue une proportion importante d'hydrocarbures méthylés. Ces résultats confirment et

complètent ceux obtenus par Bagnères et Morgan (Bagnères et Morgan, 1991) pour les ouvrières de *C. lateralis*. Le profil cuticulaire des reines (n=9) montre des différences importantes par rapport à celui des ouvrières (figure 2). Les hydrocarbures C25 à C31 rencontrés chez les ouvrières se retrouvent chez les reines. Toutefois, une proportion importante d'alcane linéaires et méthylés plus lourds (C32 à C35) est également observée (figure 3). Les gynes (n=22) ne présentent pas ces hydrocarbures royaux. Leur profil cuticulaire est très proche de celui des ouvrières.

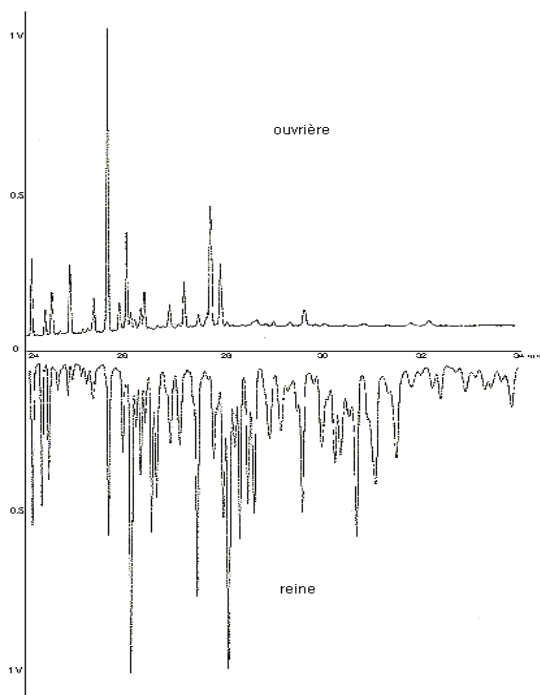


Figure 2. Profils cuticulaires types d'une ouvrière et d'une reine de *C. lateralis* en miroir

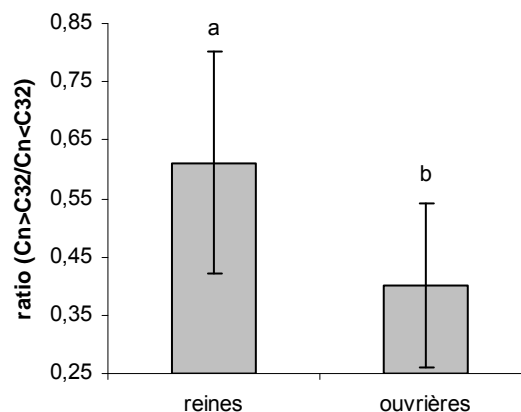


Figure 3. Ratios des hydrocarbures supérieurs et inférieurs à C32 chez la caste reine et ouvrière. Test de Mann-Whitney : $p=0,01$. Reines (N = 8) ouvrières (N = 12)

Effet de l'absence de la reine sur la ponte et le développement ovarien des ouvrières et des gynes

Aucun œuf n'a été observé dans les groupes composés uniquement de minors, même après 8 mois (tableau 1). La stérilité des ouvrières minors ayant été également observée chez l'espèce proche, *Camponotus aethiops* (Dartigues et Passera, 1979). Nous avons considéré que les œufs obtenus dans les groupes 9, 13 et 14, avaient été pondus par l'unique ouvrière major et par l'une des deux gynes dans les groupes 23 à 26. Des œufs ont été obtenus dans seulement 3 des 17 groupes constitués d'une major et de 10 minors (tableau 1). Dans 2 cas, ces œufs ont été observés après 4 mois d'isolement, dans le 3e cas seulement après 8 mois d'isolement. Dans le cas des groupes constitués de 2 gynes et 15 minors, des œufs ont été observés dans 4 groupes sur 5 mais seulement après 9 mois (tableau 1). Dans le 5e groupe, les deux gynes sont mortes après 7 mois sans avoir pondu. Chez les 7 ouvrières minors issues d'une colonie pourvue d'une reine, aucun développement ovarien n'a été constaté, les ovarioles étant toujours rudimentaires. Il en va de même chez les minors orphelines. Par contre, des ovocytes de taille significative ont été observés tant chez les majors pondeuses ($m=0.25\pm 0.1$ mm, $n=3$) que chez les majors témoins ($m=0.22\pm 0.1$ mm, $n=12$). La même observation a été faite en ce qui concerne les gynes : chez les individus issus des groupes expérimentaux dans lesquels une ponte a été observée le plus gros ovocyte mesurait en moyenne 0.24 ± 0.01 mm pour

une taille de 0.28 ± 0.04 mm chez les individus témoins issus des colonies pourvues d'une reine.

Profils cuticulaires des ouvrières et des gynes pondueuses

Les analyses chimiques montrent qu'il n'y a pas d'évolution du profil cuticulaire des ouvrières majors pondueuses chez cette espèce en termes qualitatifs. Nous avons obtenu les mêmes résultats avec les gynes pondueuses (groupes 23 à 26). Il y a donc pas d'évolution du profil cuticulaire vers un profil royal chez les ouvrières majors et les gynes pondueuses de *C. lateralis*.

Discussion et Conclusions

Chez *C. lateralis*, le profil d'hydrocarbures cuticulaires de la reine est nettement distinct de celui des autres membres de la colonie. En effet, des hydrocarbures à plus longues chaînes (C32 à C35) caractérisent la caste royale. A titre comparatif, chez *Camponotus vagus*, le profil de la reine se distingue de celui des autres membres de la colonie par des différences uniquement quantitatives (Bonavita-Cougourdan et Clément, 1994). Les résultats obtenus lors des dissections sont surprenants. En effet, alors que les ovaires des ouvrières minors apparaissent toujours rudimentaires, ceux des majors pondueuses isolées de la reine ne sont pas plus grands que ceux des majors issues de colonies pourvues d'une reine. La même conclusion peut être tirée en ce qui concerne les gynes. Ces résultats suggèrent qu'au moins certaines majors sont capables de pondre en présence de la reine et que l'inhibition royale est incomplète chez *C. lateralis*. Le délai temporel élevé observé avant l'apparition des premiers œufs dans les groupes orphelins est donc surprenant. L'analyse des profils cuticulaires des ouvrières majors et des gynes pondueuses ne révèle pas la présence des hydrocarbures lourds caractéristiques de la reine. Le développement ovarien ne provoque donc pas l'apparition d'hydrocarbures royaux chez les femelles pondueuses non fécondées chez *C. lateralis*. Les hydrocarbures cuticulaires caractéristiques de la reine pourraient donc signaler la présence d'une femelle fécondée plutôt que celle d'individus fertiles comme cela a été proposé chez d'autres espèces (Monnin *et al.*, 1998; Peeters *et al.*, 1999; Liebig *et al.*, 2000; Cuvillier-Hot *et al.*, 2001; Heinze *et al.*, 2002).

Références

- Bagnères, A.G. and E.D. Morgan, 1991. The postpharyngeal glands and the cuticle of Formicidae contain the same characteristics hydrocarbons. *Experientia* 47:106-111.
- Bonavita-Cougourdan, A. and J. Clément, 1994. Complexité du message chimique cuticulaire chez les Fourmis: le modèle *Camponotus vagus* (Scop.) (Hymenoptera, Formicidae). *Memorabilia Zoologica* 48:23-37.
- Cuvillier-Hot, V., M. Cobb, C. Malosse and C. Peeters, 2001. Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. *Journal of Insect Physiology* 47:485-493.
- Dartigues, D. and L. Passera, 1979. La ponte des ouvrières chez la fourmi *Camponotus aethiops* Latreille [Hym. Formicidae]. *Annales de la Société Entomologique de France* 15:109-116.
- Hannonen, M., M.F. Sledge, S. Turillazzi and L. Sundström, 2002. Queen reproduction, chemical signalling and worker behaviour in polygyne colonies of the ant *Formica fusca*. *Animal Behaviour* 64:477-485.
- Heinze, J., B. Stengl and M.F. Sledge, 2002. Worker rank, reproductive status and cuticular hydrocarbon signature in the ant, *Pachycondyla cf. inversa*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 52:59-65.
- Liebig, J., C. Peeters, N.J. Oldham, C. Markstädter and B. Hölldobler, 2000. Are variations in cuticular hydrocarbons of queens and workers a reliable signal of fertility in the ant *Harpegnathos saltator*? *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 97:4124-4131.

Monnin, T., C. Malosse and C. Peeters, 1998. Solid-phase microextraction and cuticular hydrocarbon differences related to reproductive activity in queenless ant *Dinoponera quadriceps*. *Journal of Chemical Ecology* 24:473-490.

Peeters, C., T. Monnin and C. Malosse, 1999. Cuticular hydrocarbons correlated with reproductive status in a queenless ant. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 266:1323-1327.

Tentschert, J., H.-J. Bestmann and J. Heinze, 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.