

ACTES DES COLLOQUES INSECTES SOCIAUX

Édités par l'Union Internationale pour l'Étude des Insectes Sociaux
Section française

VOL. 4 – COMPTE RENDU COLLOQUE ANNUEL,

PAIMPONT 17-19 Sept. 1987



Charles Fernal
1899

VARIATIONS INTRA- ET INTERSPECIFIQUES DES SECRETIONS
DEFENSIVES DE DIVERS NASUTITERMES DE NOUVELLE-GUINEE (1)

par

C.EVERAERTS⁽²⁾, J.M.PASTEELS⁽³⁾, Y.ROISIN^(3,4) & O.BONNARD⁽²⁾

(1) Station Biologique Léopold III, Laing Island,
Papouasie-Nouvelle-Guinée, contribution n°156

(2) Université de Bourgogne (C.N.R.S. - UA 674)
Dijon, France

(3) Université libre de Bruxelles, Belgique

(4) Chargé de recherches du F.N.R.S.

Résumé

Les sécrétions défensives de soldats de différents Nasutitermes de Papouasie-Nouvelle-Guinée ont été analysées par GC. capillaire et par GC-MS.

Ces analyses furent effectuées sur 36 nids de 6 espèces de Nasutitermes: N. novarumhebridarum, N. princeps, N. polygynus, N. gracillirostris, et deux espèces encore non décrites.

Dans ce travail, nous avons surtout étudié les variations de la fraction monoterpénique de ces sécrétions. Les principaux composants de cette fraction, pour les espèces envisagées, sont: l'alpha-pinène, le myrcène, le limonène et le terpinolène. L'alpha-phéllandréne, l'alpha-terpinène, et le sabinène sont aussi présents, mais plus rarement et en moindres concentrations. Nous observons certaines différences dans les proportions des monoterpènes entre des populations allopatriques de N. novarumhebridarum la seule espèce étudiée à cet égard, mais ces variations semblent être moins importantes que celles observées entre les différentes espèces.

Dans le cas des diterpènes, les variations intraspécifiques semblent être beaucoup plus importantes.

Mots clés: Nasutitermes, variations, sécrétions défensives, monoterpènes, diterpènes, allopatrie, sympatrie.

Summary

INTRA- AND INTERSPECIFIC VARIATIONS OF THE DEFENSIVE SECRETIONS AMONG SOME NASUTITERMES FROM PAPUA NEW-GUINEA

The defensive secretions of Papuan Nasutitermes soldiers were analysed by capillary GC. and GC-MS.

These analyses were achieved with 36 nests of 6 species of Nasutitermes: N. novarumhebridarum, N. princeps, N. polygynus, N. gracillirostris and two undescribed species.

The variations of the monoterpene fraction of these secretion are discussed. The major components of this fraction for the different studied species were: alpha-pinene, myrcene, limonene, and terpinolene. Alpha-phellandrene, alpha-terpinene, and sabinene were also present but at lower concentrations. We observed some differences in the proportions of monoterpene occurring between allopatric populations of N. novarumhebridarum but these

variations were less important than those observed between the different species. The variations in the diterpenic composition are comparatively very large.

Key words: *Nasutitermes*, variations, defensive secretions, monoterpenes, diterpenes, allopatry, sympatry.

INTRODUCTION

Le genre *Nasutitermes* Banks (Termitidae, Nasutitermitinae) est caractérisé par l'existence de soldats "nasutes" dont la tête piriforme contient une importante glande frontale qui élabore une sécrétion défensive terpénique. Cette sécrétion est principalement constituée d'un mélange de diterpènes dérivés du cembrene, dissous dans des monoterpènes (PRESTWICH 1978, PRESTWICH 1979, DUPONT et al. 1981). Elle est projetée sur tout ennemi potentiel, son action étant à la fois toxique et mécanique (engluante).

La fraction monoterpénique semble avoir un rôle complexe dans cette sécrétion: les monoterpènes servent de solvant, mais leur toxicité est loin d'être négligeable (HRDY et al. 1977, EVERAERTS et al. 1986) et dans certains cas leur rôle comme phéromone d'alarme a pu être démontré (MOORE 1974, VRKOC et al. 1978). Les diterpènes quant à eux semblent principalement agir comme soluté en ralentissant l'évaporation des monoterpènes (DUPONT 1984).

Des variations quantitatives des fractions monoterpéniques et diterpéniques de ces sécrétions ont été mises en évidence précédemment chez différentes espèces de Nasutitermitinae (PRESTWICH 1979, PRESTWICH 1981, GOH et al. 1984, GOH et al. 1982).

Le but de notre étude est d'étudier de manière comparative ces variations entre et au sein de différentes espèces de *Nasutitermes* de Nouvelle Guinée. Dans ce travail, nous présentons principalement les résultats obtenus sur les variations de la fraction monoterpénique, et plus brièvement ceux concernant les diterpènes, chez quelques espèces de *Nasutitermes*.



Fig.1: Localisation des lieux de récoltes.

MATERIELS ET METHODES

1°- Matériel: Nous avons collecté les soldats de 36 échantillons (nids, ou calles) de 6 espèces de *Nasutitermes*: *N. novarumhebridarum* (18 éch.), *N. princeps* (12 éch.), *N. polygynus* (2 éch.), *N. gracillirostris* (1 éch.) et deux espèces encore non décrites appelées ici *Ns.1* (2 éch.) et *Ns.2* (1 éch.).

Les échantillons de *N. novarumhebridarum* furent collectés dans différentes régions de Papouasie-Nouvelle-Guinée (Fig.1): 7 échantillons proviennent de la région de Hansa Bay, 7 de Nouvelle-Bretagne et Nouvelle-Irlande, 1 de Boisa, 2 de Manus, et 1 échantillon provient de Sogerit sur la côte Sud. Tous les échantillons des autres espèces furent récoltés dans la région de Hansa Bay.

2*-Méthodes analytiques: Des échantillons de 150 à 350 soldats sont extraits dans 1 à 2 ml d'hexane ou de chloroforme. Les extraits sont analysés par chromatographie capillaire en phase gazeuse (GC) et par spectrométrie de masse couplée à un chromatographe en phase gazeuse (GC-MS). La spectrométrie de masse nous permet de confirmer la nature des monoterpènes identifiés en GC sur la base de leurs indices d Kovats. Dans le cas des diterpènes nous les identifions uniquement sur la base de leur indices de Kovats comparés aux données de BRAEKMAN et al.(communication personnelle).

3*-Comparaisons Intra- et interspécifiques: Les résultats quantitatifs obtenus pour les monoterpènes furent traités de deux manières. L'analyse factorielle des correspondances fournit une bonne visualisation de la dispersion des échantillons selon différentes caractéristiques, à savoir les concentrations relatives des composants principaux. L'analyse des matrices de corrélations permet la construction de dendrogrammes calculés de manière ascendante sur les liens moyens, et prenant en compte comme indice de similitude les corrélations entre nids.

RESULTATS

Pour quantifier les variations de la fraction monoterpénique entre toutes les espèces, nous avons pris en compte les proportions relatives de chacun des principaux monoterpènes, à savoir l'alpha-pinène, le myrcène, le limonène, le terpinolène, l'alpha-terpinène et l'alpha-phéllandréne. Les très faibles concentrations sont arbitrairement traitées de 2 manières: aux concentrations inférieures à 1%, nous assignons une valeur de 0.2%, et à celles comprise entre 1 et 5%, une valeur de 2%.

Pour *N. princeps*, la figure 2 indique les proportions relatives des principaux diterpènes dans la fraction diterpénique des sécrétions de nos échantillons.

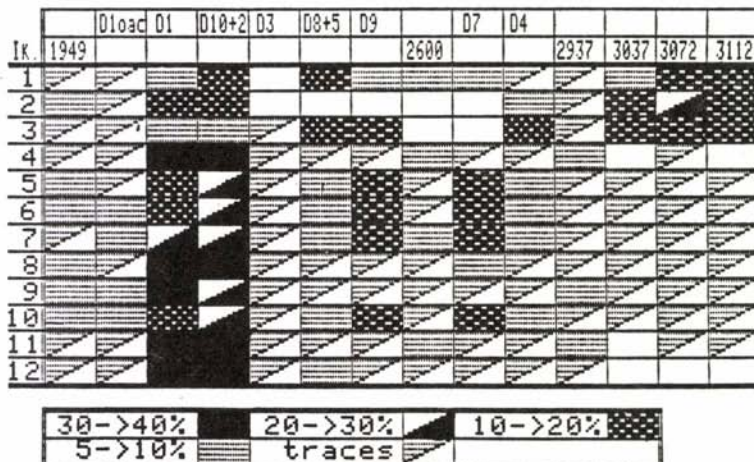


Fig.2: Proportions relatives des diterpènes dans les sécrétions de *N. princeps*

L'analyse de correspondance (AFC) (Fig.3) offre une bonne représentation de la variation des monoterpènes, les 4 premières valeurs propres expliquant ensemble 96% de la variance totale, soit respectivement 31.2%, 30.8%, 25.8% et 7.8%. Les trois premiers facteurs sont donc prépondérants. Une analyse totale, avec toutes les données, nous permet d'observer qu'une espèce particulière (*N. gracilirostris*) est très fortement corrélée avec l'alpha-phéllandrène. Le poids de cette corrélation est si important qu'elle masque toutes les autres caractéristiques de cette représentation.

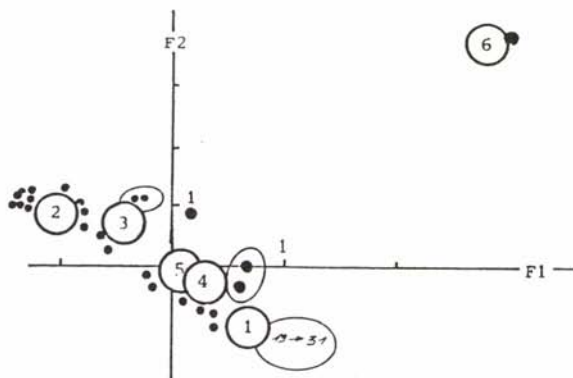
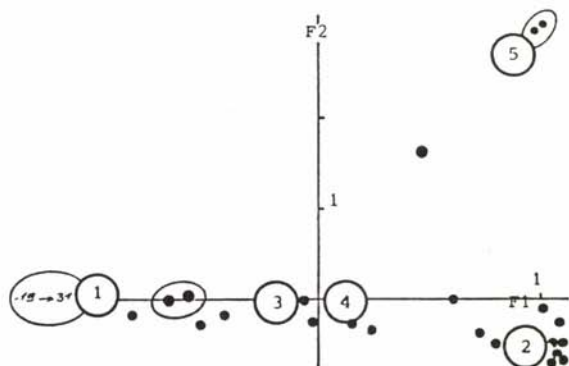


Fig.3: Diagramme obtenu par AFC, représentant la dispersion de tous les échantillons en fonction de leur composition en monoterpènes (1=alpha-pinène, 2=myrcène, 3=alpha-terpinène, 4=limonène, 5=terpinolène, 6=alpha-phéllandrène).



*Fig.4: Diagramme obtenu par AFC, représentant la dispersion des échantillons exception faite de *N. gracilirostris*. (même code pour les monoterpènes)*

Une deuxième analyse (Fig.4) qui ne prend plus en compte ni cette espèce, ni ce monoterpène qui est relativement rare dans les autres échantillons, rend bien compte de la répartition des autres échantillons, les deux premiers facteurs expliquant 81% de la variance totale. Dans ce cas, 3 échantillons sont séparés des autres et corrélés à la présence d'une grande concentration en terpinolène: il s'agit de N. polygyrus et de Ns.2. Tous les autres échantillons se distribuent le long de l'axe F1, qui correspond à l'axe alpha-pinène - myrcène, qui explique 45% de la variance totale. Dans cet ensemble, on peut voir qu'un certain nombre d'échantillons de N. princeps sont étroitement distribués autour de l'alpha-pinène. Les échantillons des autres espèces se répartissent assez largement autour de l'axe F1, avec une petite différenciation des échantillons de Ns.1 due à l'alpha-terpinène qui est mieux visualisée sur l'axe F3. Nous pouvons aussi distinguer une légère séparation entre les échantillons de N. novarumhebridarum venant de Nouvelle-Bretagne, Nouvelle-Irlande et les autres.

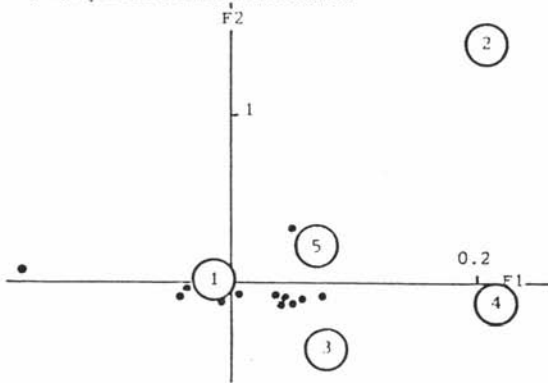


Fig.5: Diagramme obtenu par AFC, représentant la dispersion des échantillons de N. princeps.

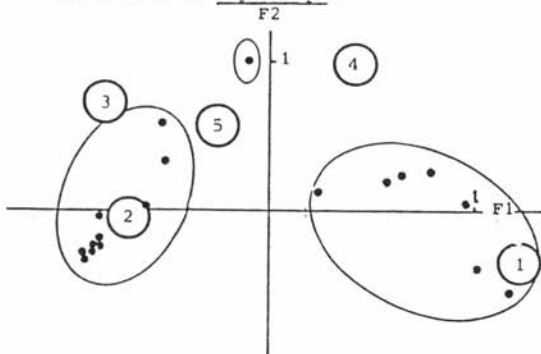


Fig.6: Diagramme obtenu par AFC, représentant la dispersion des échantillons de N. novarumhebridarum.

Pour les deux espèces les plus étudiées, il faut signaler que N. princeps est distribuée uniquement sur la côte Nord et Nord-Est de Nouvelle-Guinée, tandis que N. novarumhebridarum est très largement distribuée jusqu'aux Nouvelles-Hébrides. La

première espèce ne présente donc qu'une seule population, tandis que la deuxième pourrait présenter différentes populations allopatriques.

Une AFC (Fig.5) séparée faite uniquement sur la base des données concernant N. princeps confirme l'étroite concordance entre cette espèce et l'alpha-pinène, composant majeur de sa sécrétion.

Le graphique obtenu uniquement avec les échantillons de N. novarumhebridarum (Fig.6) présente une toute autre situation, elle aussi intéressante. Nous pouvons distinguer, parmi ces échantillons, 3 populations:

-D'abord, un ensemble d'échantillons provenant de Hansa Bay, Manus et Sogeri, plus ou moins centrés sur le myrcène.

-Ensuite, un groupe plutôt corrélé à l'existence d'alpha-pinène, correspondant aux échantillons récoltés en Nouvelle-Bretagne et de Nouvelle-Irlande.

-Enfin, totalement séparé des précédents, l'échantillon de Boisa.

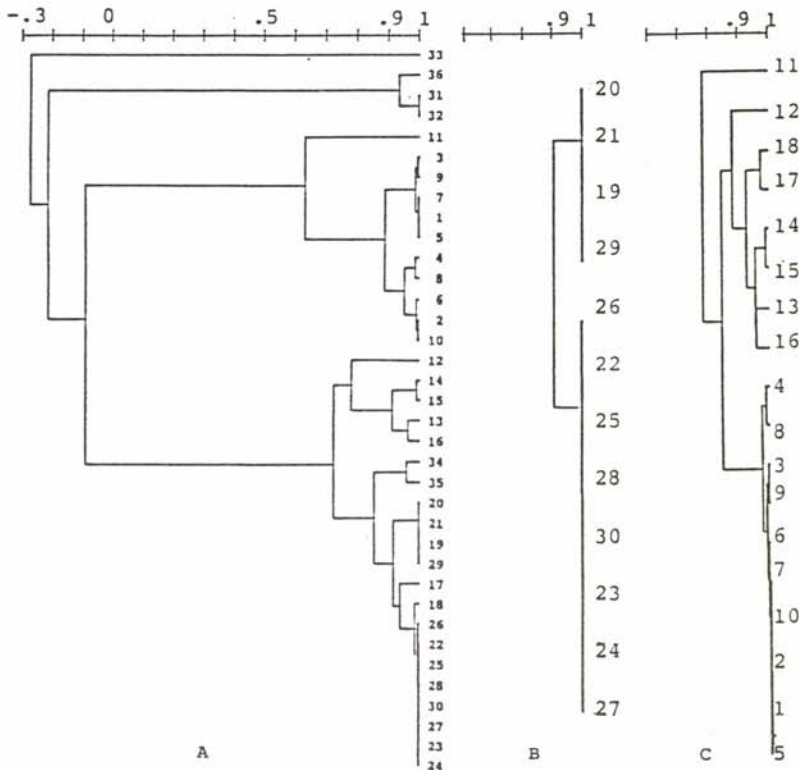


Fig.7: Dendrogrammes obtenus sur la base des indices de corrélations. A: pour tous les échantillons.

B: pour les échantillons de N. princeps

C: pour les échantillons de N. novarumhebridarum

L'analyse des matrices de corrélations (Fig.7a) confirme toutes ces observations. En effet, le dendrogramme obtenu à partir de toutes les données de tous les échantillons met en évidence 4 populations très différentes:

-Premièrement, N. gracillirostris se distingue de nouveau de toutes les autres espèces.

-Ensuite, on observe un ensemble de 3 échantillons correspondant à N. polygynus et à Ns.2.

-Les échantillons de N. novarumhebridarum collectés à Hansa Bay, Sogeri, Manus et Boisa, forment un vaste groupe avec une nette séparation entre le dernier et les autres.

-Le dernier ensemble, plus proche du précédent que des autres, comprend principalement les N. princeps et les N. novarumhebridarum de Nouvelle-Irlande et Nouvelle-Bretagne.

Lorsque nous réalisons des dendrogrammes séparés sur la base des données correspondant à N. princeps ou N. novarumhebridarum, nous observons deux situations comparables à celles obtenues lors des analyses factorielles.

Pour N. princeps (Fig.7b), l'homogénéité est presque parfaite, tous les échantillons ressemblant aux autres à 90%.

Par contre dans le cas de N. novarumhebridarum (Fig.7c), nous observons les trois mêmes ensembles que ceux décrits précédemment. Mais même dans ce cas, les différences intraspécifiques observées sont moins importantes que les variations interspécifiques.

La concordance entre les résultats des différentes analyses confirme la réalité des ségrégations observées.

CONCLUSION

L'analyse des compositions monoterpéniques des sécrétions défensives nous permet donc de discriminer les différentes espèces de Nasutitermes. Mais, à un niveau supérieur, nous observons que dans le cas des 2 espèces pour lesquelles nous avons le plus de données, nous avons 2 situations différentes.

Tandis que chez N. princeps, il y a une très faible variation intraspécifique, nous en observons une relativement importante chez N. novarumhebridarum. Mais, chez cette espèce, il faut signaler que même si on observe une séparation nette entre 3 populations, cette structure est un peu surprenante au regard de la répartition géographique: en effet, Boisa est plus proche de Hansa Bay que Manus; les groupements ne correspondent donc pas exactement à cette répartition. Ceci pourrait suggérer qu'il n'y a pas une relation simple entre les variations de compositions monoterpéniques et la distance séparant différentes populations. Nous ne pouvons donc pas savoir quelle est l'importance de l'isolement reproducteur de ces populations.

ROISIN, PASTEELS et BRAEKMAN (1987) ont récemment démontré qu'il existait une variation assez importante de la composition diterpénique des sécrétions défensives de N. princeps. L'étude qualitative des diterpènes des sécrétions des 12 échantillons de cette espèce utilisés ici, confirme ce résultat. La composition diterpénique différencie fort les différents nids d'une population de N. princeps alors que l'analyse des monoterpènes ne nous permettait pas de les distinguer.

Au niveau spécifique, les compositions monoterpéniques sont des critères réellement efficaces pour discriminer des espèces sympatriques de Nasutitermes. A un niveau infraspécifique, nous observons dans le cas de N. novarumhebridarum, espèce largement distribuée, plusieurs populations qui semblent être distinctes génétiquement, au minimum selon le critère de la composition en monoterpènes des sécrétions défensives. Dans le cas de N. princeps, espèce à distribution restreinte, aucune distinction de la sorte ne peut être réalisée sur la base de ce critère, seule la composition en diterpènes présentant d'importantes variations intraspécifiques.

Remerciements

Nous remercions R. Brossut pour ses commentaires lors de la rédaction, ainsi que J.P. Lobereau pour son aide lors des traitements statistiques.
 Cette recherche a bénéficié du soutien du F.R.F.C. (Crédit N° 2.900 1.86).

Références

- DUPONT A., BRAEKMAN J.C., DALOZE D., PASTEELS J.M., TURSCH B., 1981.- Chemical composition of the frontal gland secretions from Neo-Guinean *Nasute* termite soldiers. Bull.Soc.Chim.Belg., Vol.90,5; P: 485-499.
- EVERAERTS C., GREGOIRE J.C., MERLIN J., 1986.- The toxicity of Norway Spruce monoterpenes to Bark Beetles and their associates. in "Plant resistance mechanism against insects and pathogens" -I.U.F.R.O., Orléans, in press.
- GOH S.H., TONG S.L., THO Y.P., 1982.- Gas chromatography-mass spectrometry analysis of termite defense secretions in the subfamily Nasutitermitinae. Mikrochim,Acta, I; P: 219-229.
- GOH S.H., CHUAH C.H., THO Y.P., PRESTWICH G.D., 1984.- Extreme intraspecific chemical variability in soldier defense secretions of allopatric and sympatric colonies of *Longipeditermes longipes*. J.Chem.Ecol., Vol.10 n° 6; P: 929-944.
- HRDY I., KRECEK J., VRKOC J., 1977.- Biological activity of soldiers secretions in the termite *Nasutitermes ripertii*, *N.costalis* and *Protrichotermes simplex*. Proc. 8th.Int.Cong.I.U.S.S.I., Wageningen; P: 303-304.
- MOORE B.P., 1974.- Pheromones in the termite societies, in: Pheromones, M.C. Birch ed., Elsevier, Amsterdam; P: 250-265.
- PRESTWICH G.D., 1979a.- Termite chemical defense, new natural products and chemosystematics. Sociobiology, Vol.4 (2); P: 127.
- PRESTWICH G.D., 1979b.- Interspecific variation in the defense secretion of *Nasutitermes* soldiers. Biochem.Syst.Ecol., Vol.7; P:211-221.
- PRESTWICH G.D., CHEN D., 1981.- Soldier defense secretion of *Trinervitermes bettonianus* (Isoptera, Nasutitermitinae): chemical variation in allopatric populations. J.Chem.Ecol., Vol.7; P: 147-157.
- PRESTWICH G.D., COLLINS M.S., 1981.- Chemotaxonomy of *Subulitermes* and *Nasutitermes* termite soldiers, defense secretions, evidence against the hypothesis of diphyletic evolution of the Nasutitermitinae. Biochem.Syst.Ecol., Vol.9 n°1; P:83-88.
- ROISIN Y., PASTEELS J.M., BRAEKMAN J.C., 1987.- Soldier diterpene patterns in relation with aggressive behaviour, spatial distribution and reproduction of colonies in *Nasutitermes princeps*. Biochem.Syst.Ecol., Vol. 15 n°2; P: 253-262.
- VRKOC J., KRECEK J., HRDY I., 1978.- Monoterpenic alarm pheromones in two *Nasutitermes* species. Acta Ent.Bohemsl., Vol.75; P: 1-8.