

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 , $p = 1$).

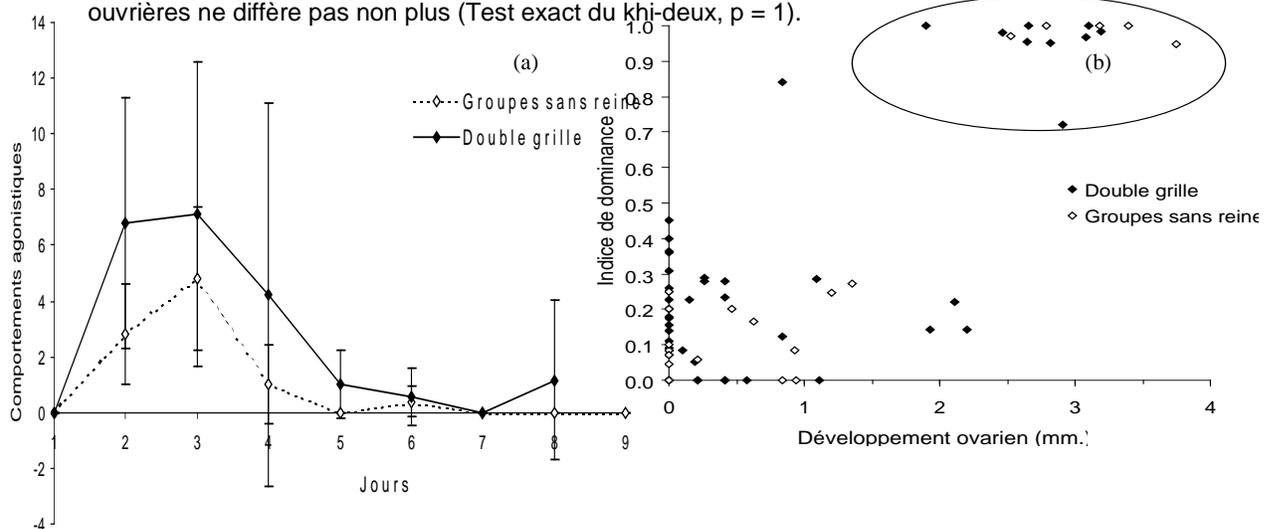


Fig. 1a: Evolution du nombre de comportements agonistiques ($x \pm e.s.$) dans les groupes de 5 ouvrières séparées de la reine par une double grille ($n = 9$) et les groupes de 5 ouvrières sans reines ($n = 5$).

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 *queenexcludng* ($r = 0.73$, $p < 0.01$) et production de reines/pontes des ouvrières en *queenexcludng* ($r = 0.64$, $p < 0.05$).

	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>queenexcludng</i>	30.4 ± 3.9 j., $n = 11$		

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

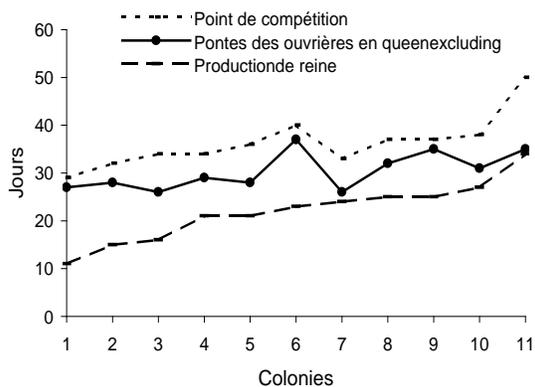


Fig. 3: Dates d'occurrences (jours à partir de l'émergence de la première ouvrière) des événements coloniaux (production de reines et point de compétition) et de la ponte des ouvrières en *queenexcludng* dans les 11 colonies.

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.