

## MORPHOLOGIE ET ULTRASTRUCTURE DE LA GLANDE CLOACALE CHEZ *CATAGLYPHIS NIGER*

WENSELEERS T.<sup>1</sup>, SCHOETERS E.<sup>1</sup>, BILLEN J.<sup>1</sup> ET HEFETZ A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Entomologie, K.U.Leuven, Naamsestraat 59, B-3000 Leuven, Belgique

<sup>2</sup>Laboratory of Zoology, University of Tel Aviv, 69978 Israel

**Résumé:** Les ouvrières du genre *Cataglyphis* sont caractérisées par la présence d'une glande cloacale qui n'est décrite que chez quelques espèces du genre *Camponotus* (Hölldobler 1982) et chez les *Cataglyphis* (Billen 1989, Wenseleers 1995). La présente étude de la glande cloacale chez *Cataglyphis niger* démontre que sa présence n'est pas restreinte à la caste ouvrière: la reine possède une glande cloacale développée de façon comparable. Nous décrivons dans ce travail la morphologie et l'ultrastructure détaillées de la glande et faisons une comparaison entre la taille de la glande chez les ouvrières nourrices et les ouvrières fourrageuses. Ainsi, notre étude donne quelques indications sur la fonction sociale possible de cette glande.

**Mots-clés:** *Cataglyphis*, glande cloacale, morphologie, ultrastructure, Formicidae

**Abstract: Morphology and ultrastructure of the cloacal gland in *Cataglyphis niger***

Ants of the genus *Cataglyphis* are characterised by the presence of a cloacal gland - an abdominal gland which was first described by Hölldobler (1982) in *Camponotus*, but which was later on also found to be present in *Cataglyphis* (Billen 1989, Wenseleers 1995). The present study of the cloacal gland of *Cataglyphis niger* shows that its occurrence is not limited to the worker caste - the queen has an equally well developed cloacal gland. Additionally, the morphology and ultrastructure of the gland are given including a comparison of its size in nurses and foragers. This gave us some useful information about its possible social function.

**Key words:** *Cataglyphis*, cloacal gland, morphology, ultrastructure, Formicidae

### INTRODUCTION

A cause d'une communication surtout phéromonale, les fourmis possèdent un système exocrine très étendu. Les ouvrières du genre *Cataglyphis* sont caractérisées par la présence d'une glande cloacale qui n'est décrite que chez quelques espèces du genre *Camponotus* (Hölldobler 1982) et chez les *Cataglyphis* (Billen 1989, Wenseleers 1995). Jusqu'à présent on ne savait rien de la présence ou développement de la glande cloacale chez la reine, ni d'une éventuelle évolution morphologique de la glande en fonction de l'âge des ouvrières. De données pareilles ont en effet à plusieurs reprises pu fournir des informations très utiles sur la fonction sociale d'une glande exocrine (par exemple chez la glande postpharyngienne: Soroker *et al.* 1996) et pourraient être liées aux premiers résultats préliminaires d'expériences éthologiques concernant la glande cloacale. C'est pourquoi la morphologie détaillée, basée sur

la microscopie électronique à balayage, et l'ultrastructure de la glande cloacale ont été examinées, tandis qu'une comparaison a été faite entre les tailles de la glande chez les ouvrières nourrices et les ouvrières fourrageuses.

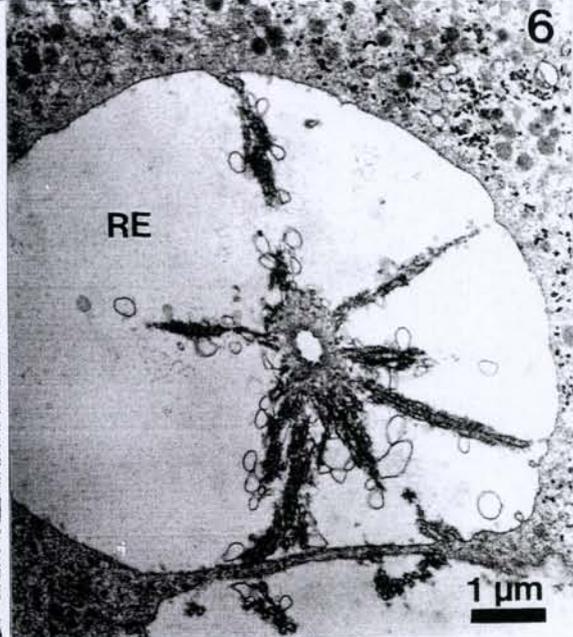
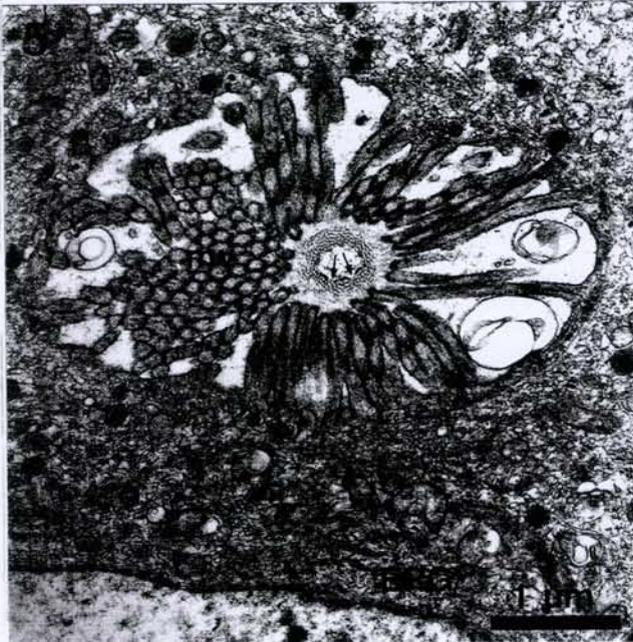
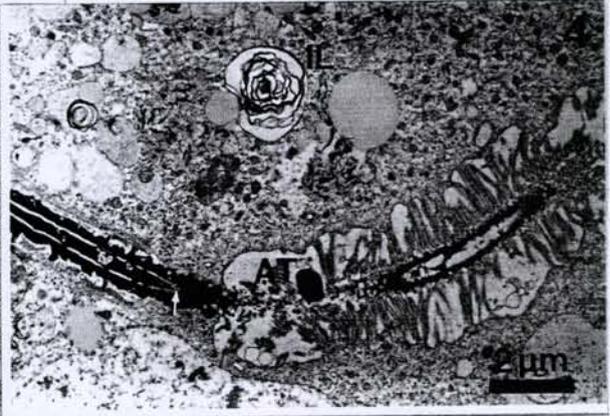
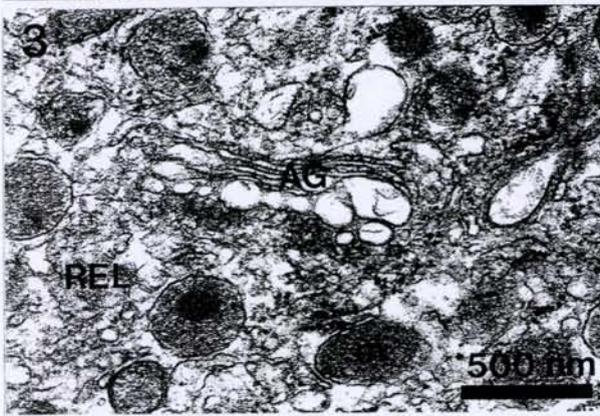
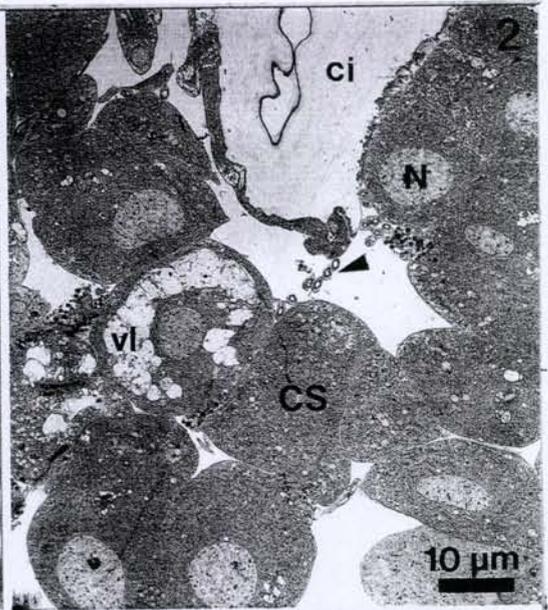
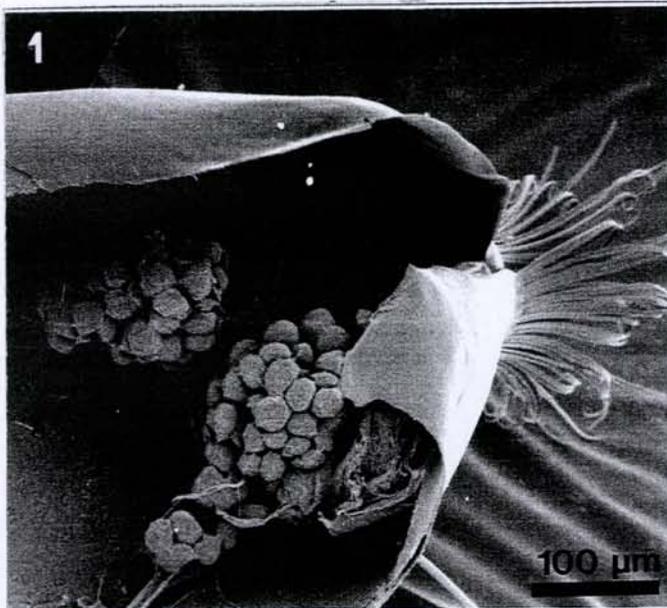
### MATERIEL ET METHODES

Des ouvrières de *Cataglyphis niger* ont été récoltées à Shefaim (Israël). Pour mesurer les glandes, une dissection soignée a été faite en éloignant les tissus environnants. Pour chaque individu, le diamètre maximal (ci-dessous nommé la longueur) de chaque amas de cellules sécrétrices a été mesuré à l'aide d'un système d'analyse d'images Vidas®. La largeur pronotale et la largeur du septième sternite ont été mesurées pour pouvoir corriger les différences entre les tailles des ouvrières. Les sternites 7 avec les glandes cloacales ont été fixés par le glutaraldéhyde froid à 2 % dans un tampon de cacodylate à 0,05 M (pH 7,3; additionné de saccharose 0,15 M) et postfixés par le tétroxyde d'osmium à 2 % dans le même tampon. L'inclusion a été faite dans l'Araldite. Les coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, ont été observées au microscope électronique Zeiss EM900. Les échantillons pour la microscopie électronique à balayage ont été séchés au CO<sub>2</sub> et observés au microscope électronique Philips EM515.

### RESULTATS

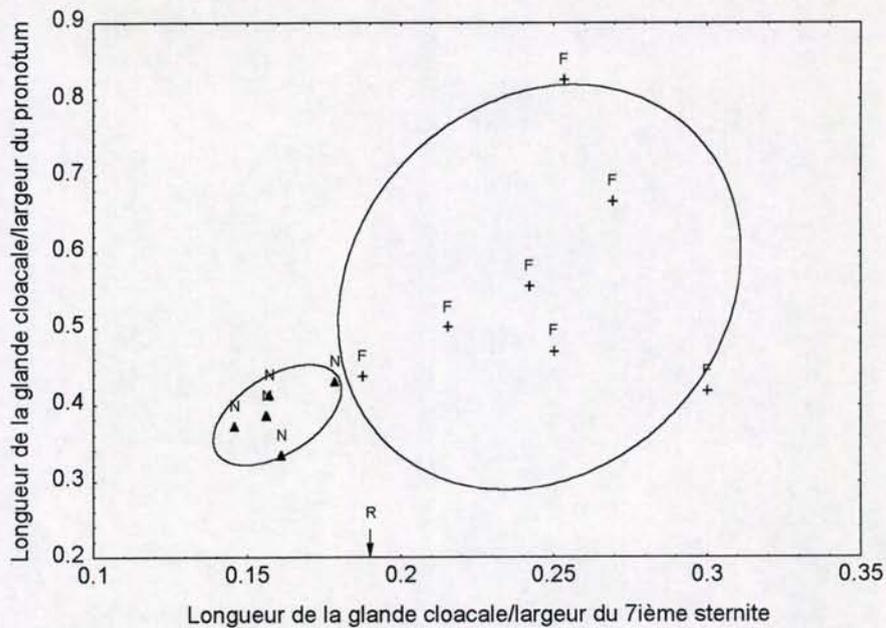
La microscopie électronique à balayage a permis de montrer une image très claire de la glande cloacale (Fig. 1). La glande est formée d'unités bicellulaires (type 3 selon la classification de Noirot et Quennedey 1974), où la cellule sécrétrice décharge sa sécrétion à l'extérieur par l'intermédiaire d'un canalicule conducteur qui est associé à la cellule du canalicule. La glande cloacale est constituée de deux amas de 25 à 45 cellules sécrétrices dans la partie postéro-ventrale de l'abdomen qui débouchent par des cellules du canalicule à travers la cuticule membraneuse intersegmentaire, latéralement des deux côtés au dessous de l'orifice de la glande de Dufour et de la glande à venin (Fig. 2). Les cellules sécrétrices ont une forme arrondie à la base et se rétrécissent en forme de pointe vers la partie apicale qui se joint à la cellule du canalicule. Elles ont un diamètre de 40 à 60 µm. Les cellules du canalicule quittent les cellules sécrétrices le plus souvent sous un angle aigu. Selon la taille de la fourmi et la position de la cellule sécrétrice correspondante, les cellules du canalicule ont une longueur de 60 à 120 µm. Le noyau des cellules du canalicule forme une saillie dans l'alignement membraneuse des cellules du canalicule.

**Fig. 1:** Image en microscopie à balayage des deux amas de cellules sécrétrices de la glande cloacale (échelle: 100 µm). **Fig. 2:** Image en microscopie électronique de la glande cloacale (échelle: 10 µm). **Fig. 3:** Cytoplasme d'une cellule sécrétrice montrant l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique lisse (échelle: 1 µm). **Fig. 4:** Appareil terminal intracellulaire d'une unité sécrétrice de la glande cloacale (section longitudinale, échelle: 1 µm). **Fig. 5, 6:** L'appareil terminal intracellulaire d'une cellule sécrétrice de la glande cloacale d'une ouvrière nourrice (5) respectivement d'une ouvrière fourrageuse (6) (échelles: 1 µm). (→= fénestrations épicuticulaires, ►=cellules du canalicule, +=lumière, AG=l'appareil de Golgi, AT=appareil terminal intracellulaire, ci=cuticule intersegmentaire, CS=cellules sécrétrices, ERG=ergastoplasme, il=inclusions lamellaires, m=mitochondries, mv=microvillosités, N=noyau, REL=réticulum endoplasmique lisse, RSE=réservoir extracellulaire, vl=vésicules lipidiques)



La microscopie électronique à transmission montre des cellules sécrétrices sphériques ou en forme de gouttes avec un noyau basal légèrement excentrique (Fig. 2). Les cellules sécrétrices sont en contact direct avec l'hémolymphe, mais peuvent être entourées surtout ventralement, d'adipocytes. Une membrane basale mince de 10 nm entoure la membrane plasmique de la cellule sécrétrice entière sauf dans la partie apicale où elle est en contact avec la cellule du canalicule. L'appareil de Golgi (Fig. 3) et le réticulum endoplasmique lisse tubulaire sont à la base du processus de sécrétion. L'ergastoplasme est très fortement réduit bien que des ribosomes libres - le plus souvent associés en polysomes - soient fréquemment présents. Dans le cytoplasme on peut distinguer en plus des vésicules pinocytotiques basales (diamètre 0,25  $\mu\text{m}$ ), qui fusionnent avec des vésicules provenant de l'appareil de Golgi en lysosomes primaires. Ceux-ci fusionnent à leur tour en lysosomes secondaires se composant d'un mélange hétérogène d'inclusions lamellaires et de vésicules lipidiques. Ces vésicules lipidiques, aussi bien que les inclusions lamellaires sont sécrétées apicalement vers une couche microvillose très longue et tortueuse. Cette couche de microvillosités entoure le canalicule récepteur cuticulaire - la réunion de ces deux structures constitue l'appareil terminal intracellulaire (Fig. 4, 5, 6). Ils sont séparés par un espace extracellulaire qui a une fonction de réservoir de la sécrétion (Bazire-Bénazet et Zylberberg 1979).

Le cytoplasme de la cellule sécrétrice aussi bien que celui de l'appareil intracellulaire subissent des changements très distincts en fonction de l'âge des ouvrières. Chez les ouvrières nourrices, le cytoplasme contient un nombre moyen de petites mitochondries (longueur 1,1  $\mu\text{m}$ , diamètre 0,3  $\mu\text{m}$ ) distribuées d'une manière uniforme dans le cytoplasme et caractérisées par une matrice opaque aux électrons (Fig. 3). L'appareil de Golgi (diamètre 0,8  $\mu\text{m}$ ) et le réticulum endoplasmique lisse sont peu développés. Le réservoir extracellulaire est bordé de microvillosités courtes (longueur 0,9-1,2  $\mu\text{m}$ , diamètre 0,1  $\mu\text{m}$ ) dans la partie proximale et de microvillosités plus longues (1,7  $\mu\text{m}$ ) dans la partie distale où elles sont groupées en un système hexagonal (Fig. 5). Chez les ouvrières fourrageuses, plusieurs granulations cytoplasmiques subissent des changements. Les mitochondries sont plus grandes et leur matrice devient moins opaque aux électrons. Basalement, la surface entière de la cellule est couverte de vésicules pinocytotiques. L'appareil de Golgi aussi bien que le réticulum endoplasmique lisse se développent beaucoup plus fortement. Finalement, le cytoplasme des cellules sécrétrices des ouvrières fourrageuses est, contrairement à celui des ouvrières nourrices, rempli de vésicules lipidiques. Cette montée de la capacité de sécrétion se rencontre aussi quand on observe l'appareil terminal des cellules sécrétrices. Chez les ouvrières nourrices, la couche microvillose est assez dense, tandis que chez les ouvrières fourrageuses elle apparaît sous un aspect irrégulier avec de grands espaces qui fonctionnent comme réservoir de la sécrétion extracellulaire et qui s'intercalent entre les villosités (Fig. 6). Finalement, la présence des vacuoles lipidiques dans le cytoplasme des cellules sécrétrices de la glande cloacale des ouvrières fourrageuses se traduit par une augmentation de la taille de ces cellules comme on rend compte de l'augmentation globale de la glande elle-même, quand on la rapporte à la largeur du pronotum et du sternite 7 (Fig. 7). On peut pourtant remarquer que ce cycle de sécrétion ne s'effectue pas de manière synchrone dans toutes les cellules sécrétrices - on voit parfois dans la même ouvrière quelques cellules sécrétrices avec un niveau de sécrétion clairement plus élevé que celui des autres (Fig. 2). De plus, la dissection d'une reine montre qu'elle aussi possède une glande cloacale bien développée (Fig. 7). Malheureusement il n'a pas été possible d'obtenir plus d'informations sur l'ultrastructure de sa glande.



**Fig. 7:** L'augmentation de la taille de la glande cloacale chez les ouvrières fourrageuses (N= ouvrières nourrices, F= ouvrières fourrageuses, †=valeur de la glande cloacale chez la reine. Longueur et largeur de la glande sont respectivement rapportées à la largeur du pronotum et à celle du 7ème sternite. Le niveau de confiance à 95% est indiqué.

La sécrétion provenant de la cellule sécrétrice est évacuée dans le canalicule récepteur qui est en contact direct avec le canalicule conducteur de la cellule du canalicule correspondant. Ce sont ces cellules allongées du canalicule qui effectuent la jonction entre le canalicule récepteur et l'extérieur. Le canalicule récepteur est caractérisée par une procuticule basale et une épicuticule apicale qui est fenestrée sauf dans la partie distale (diamètre des pores: 50 nm). La procuticule est formée d'une endocuticule basale transparente aux électrons (épaisseur: 150 à 200 nm) et d'une exocuticule apicale fibrillaire (épaisseur: 150 nm, diamètre des fibrilles: 20 nm). Enfin, l'épicuticule a une épaisseur de 30 nm. La lumière a un diamètre constant de 0,3  $\mu\text{m}$  dans l'appareil terminal. Au niveau de la transition du canalicule récepteur au canalicule conducteur, l'épaisseur de la cuticule double et les fibrilles endocuticulaires et les fenestrations épicuticulaires disparaissent. Les cellules du canalicule s'élargissent au niveau du noyau de forme irrégulière (longueur: 7  $\mu\text{m}$ , largeur: 3  $\mu\text{m}$ ). Dans le noyau on peut distinguer le plus souvent un nucléole associé à des particules de chromatine. Le cytoplasme est moins transparent aux électrons que celui de la cellule sécrétrice. L'ergastoplasme est fortement réduit mais contient un nombre moyen de ribosomes libres. Les petites mitochondries opaques aux électrons (diamètre: 0,1  $\mu\text{m}$ , longueur maximale: 0,5  $\mu\text{m}$ ) ne sont pas abondantes. La cellule du canalicule est limitée par une membrane basale massive (épaisseur 80 nm) qui est en continuité avec celle de la cellule sécrétrice. Finalement, on peut remarquer que dans une même cellule sécrétrice, on observe souvent plusieurs (jusqu'à 10) sections de la cellule du canalicule, ce qui indique que ou bien les cellules sécrétrices sont associées avec plusieurs cellules du canalicule ou bien que la cellule du canalicule est de nature très tortueuse. D'autres recherches seront nécessaire pour révéler l'organisation exacte des cellules glandulaires, du type-3.

### DISCUSSION

Puisque la division des tâches est fonction de l'âge des ouvrières de *Cataglyphis* (Mayade et Suzzoni 1990), le processus de sécrétion est vraisemblablement fonction du même paramètre. Cette évolution du processus de sécrétion en fonction de l'âge des ouvrières est complètement analogue à celle décrite par Bazire-Bénazet et Zylberberg (1979) pour une glande tégumentaire chez *Atta*. Ainsi, la morphologie de la glande cloacale indique une fonction sociale qui pourrait être le marquage du territoire ou des environs du nid. En fait, les résultats préliminaires d'expériences comportementales réalisées chez *C. niger* montrent une fonction territoriale (Wenseleers 1995). La présence d'une glande cloacale bien développée chez la reine peut s'expliquer de la même manière. On sait que la fondation claustrale peut être partielle chez les *Cataglyphis* (Fridman et Avital 1983). Sa reine pourrait alors bénéficier d'un marquage territorial à ce moment de la fondation. Mais il se pourrait aussi que la nature chimique de la sécrétion et sa fonction soient totalement différents chez la reine et les ouvrières. Des expériences concernant le comportement seront nécessaires pour élucider le phénomène.

### REMERCIEMENTS

Nous remercions Dirk Corstjens pour la préparation technique des coupes microscopiques et Julien Cillis pour les photos de microscopie électronique à balayage. Je remercie également le Prof. L. Passera pour la lecture du manuscrit. ES est Chargé de Recherche au 'Nationaal Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek, N.F.W.O.'.

### REFERENCES

- BAZIRE-BÉNAZET, M. and L. ZYLBERBERG, 1979 - An integumentary gland secreting a territorial marking pheromone in *Atta* sp.: detailed structure and histochemistry. *J. Insect Physiol.*, 25: 751-765.
- BILLEN, J., 1989 - Morphology of the cloacal gland in the ant *Cataglyphis savignyi*. *Actes Coll. Ins. Soc.*, 5: 301-306.
- FRIDMAN, S. and AVITAL, E., 1983 - Foraging by queens of *Cataglyphis bicolor nigra* (Hymenoptera: Formicidae): an unusual phenomenon among the Formicinae. *Isr. J. Zool.*, 32: 229-230.
- HÖLLDOBLER, B., 1982 - The cloacal gland, a new pheromone gland in ants. *Naturwissenschaften*, 69: 50.
- MAYADE, S. et SUZZONI, J.-P., 1990 - Le polyéthisme chez *Cataglyphis cursor*. *Actes Coll. Ins. Soc.*, 6: 123-130.
- NOIROT, CH. and QUENNEDEY, A., 1974 - Fine structure of insect epidermal glands. *Annu. Rev. Entomol.*, 19: 61-80.
- SOROKER, V., HEFETZ, A., COJOCARU, M., BILLEN, J., FRANCKE, S. and FRANCKE, W., 1996 - Structural and chemical ontogeny of the postpharyngeal gland of the desert ant *Cataglyphis niger*. *Physiol. Entomol.*, sous presse.
- WENSELEERS, T., 1995 - Exocriene klieren als gedragsmodulatoren bij mieren: de ecologie van het markeren van een territorium bij de woestijnmier *Cataglyphis niger* (André, 1881) (Hymenoptera, Formicidae). Mémoire KU Leuven, Belgique, 1995.