

SPECIFICITE DES PISTES DE RECOLTE DE NOURRITURE CHEZ LES TERMITES :  
LE CAS DE *MACROTERMES ANNANDALEI* ET DE *M. BARNEYI*

**M. Bourillot<sup>1</sup>, A. Robert<sup>1</sup>, E. Semon<sup>2</sup>, C. Bordereau<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Université de Bourgogne, UMR-CNRS 5548, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon, France

<sup>2</sup>INRA, UMR-INRA-ENESAD, 17 rue Sully, 21065 Dijon cedex, France

#### RESUME

Les termites utilisent des phéromones de pistes pour s'orienter, mais de nombreuses espèces possèdent la même molécule comme composé principal de leur phéromone. Ceci pose le problème de la spécificité des pistes et de l'isolement des populations récoltantes. Nous avons pu montrer que *Macrotermes annandalei* et *M. barneyi*, deux termites champignonnistes sympatriques du Vietnam dont le composé majoritaire de la phéromone de piste est le (Z)-dodec-3-ène-1-ol, sont capables de reconnaître leurs pistes respectives. Dans ce cas la spécificité ne provient pas de la phéromone de piste elle-même mais des fèces déposées sur la piste.

MOTS CLES : termites, phéromones de piste, spécificité.

#### ABSTRACT

When moving out of their nest, termites lay down trail-following pheromones for orientation and recruitment. Surprisingly, the same major compound is used as a trail pheromone by many species. This poses the problem of the species specificity of trails and of the isolation of foraging populations. However, we have shown that two sympatric species of Asiatic fungus-growing termites, *M.annandalei* and *M. barneyi*, that possess the same trail pheromone ((Z)-3-dodecen-1-ol), are able to recognize their respective trails. In this case, the species specificity of trails arises from the faeces and not from the trail pheromone itself.

KEY WORDS : termites, trail pheromone, species-specificity.

#### INTRODUCTION

Chez les termites, Abe (1987) distingue le type écologique « one piece », où les colonies s'établissent dans le bois dont ils se nourrissent, et le type « separate », où les populations construisent de véritables nids et où les ouvriers doivent récolter la nourriture à l'extérieur. Un saut évolutif majeur sépare ces deux types écologiques. En effet, pour les termites de type « separate », des systèmes d'orientation performants sont nécessaires. Les Isoptères étant le plus souvent dépourvus d'yeux, c'est la communication chimique qui joue le rôle principal dans ces processus. La majorité des espèces de termites sont de type « separate ». C'est le cas de *Macrotermes annandalei* et de *M. barneyi*, deux espèces champignonnistes asiatiques dont les ouvriers récoltent de la nourriture sur les mêmes zones sans toutefois se mélanger (Peppuy, 1999). Sachant que ces *Macrotermes* utilisent la

même molécule comme composante principale de leur phéromone de piste, le (Z)-dodec-3-ène-1-ol (Peppuy, 1999 ; Peppuy *et al.*, 2001a et b), nous avons recherché l'origine de cet isolement des populations récoltantes.

## MATERIEL ET METHODES

Espèces étudiées : Les expériences ont été réalisées sur des colonies de *Macrotermes barneyi* et de *M. annandalei* fondées au Vietnam en 1996, rapportées en France la même année et élevées dans une salle maintenue à une température moyenne de 24°C, à un taux d'humidité relative de 80% et où l'alternance jour / nuit est de 12h / 12h. La population de ces colonies est actuellement estimée à plusieurs milliers d'individus.

Tests de suivi de pistes en champ libre : Des ouvriers entiers ou des organes prélevés par dissection (glandes sternales, tube digestif, tégument) sont extraits dans l'hexane pendant 12 heures. Des pistes artificielles faites à partir de ces extraits sont tracées sur une feuille de papier filtre à l'aide d'une seringue Hamilton. Le test utilisé est un test en Y qui consiste à mesurer la longueur de piste parcourue en fonction de la concentration ou de l'origine spécifique de la piste (voir Peppuy *et al.* 2001 a pour les détails).

Suivis de piste dans le dispositif expérimental à pistes parallèles : Dans le but de tester au laboratoire la spécificité des pistes dans des conditions aussi proches que possible des conditions naturelles, nous avons utilisé le dispositif expérimental mis au point et décrit par Affolter et Leuthold (2000). Le choix des termites pour une piste homo ou hétérospécifique a été enregistré à l'aide d'une caméra vidéo CCD-IRIS, puis quantifié pendant 2 heures en comptant le nombre de grands ouvriers passant pendant chaque quart d'heure dans l'une ou l'autre piste. Un comptage est également effectué 24 heures après le début de l'expérience.

Analyses chimiques : Les analyses en GC-MS après microextraction en phase solide (SPME) ont été effectuées selon les techniques décrites par Peppuy *et al.* (2001 a, b)

## RESULTATS

Suivis de piste en champ libre : Les résultats sont résumés dans le Tableau 1.

Chez *M. annandalei*, la réponse des ouvriers est spécifique face à des pistes de concentration identique ( $10^{-2}$  ou  $10^{-1}$  éq.ouvrier/cm), les ouvriers choisissent préférentiellement et de manière significative leur propre piste. Ils font le même choix si leur piste est 2 fois ou dix plus concentrées que celles de *M. barneyi*. En revanche, si on leur propose une piste de *M. barneyi* deux fois plus concentrée que la leur ( $2 \cdot 10^{-1}$  contre  $10^{-1}$  éq.ouvrier/cm), ils choisissent la piste *M. barneyi*. Si la piste *M. barneyi* est 10 fois plus concentrée ( $10^{-1}$  contre  $10^{-2}$  éq.ouvrier/cm), les ouvriers de *M. annandalei* empruntent plus

souvent leur propre piste (20 fois contre 10), mais la réponse est à la limite des valeurs significatives.

Chez *M. barneyi*, pour des pistes de concentration identique, la réponse des ouvriers n'est spécifique que pour des concentrations faibles ( $10^{-2}$  éq.ouvrier/cm). À  $10^{-1}$  éq.ouvrier/cm, les ouvriers de *M. barneyi* empruntent aussi bien leurs propres pistes que celles de *M. annandalei*. Si leurs pistes sont plus concentrées que celles de *M. annandalei* (2 ou 10 fois plus), ils les choisissent préférentiellement. Les pistes de *M. annandalei* deux fois plus concentrées que celles de *M. barneyi* ( $2 \cdot 10^{-1}$  contre  $10^{-1}$  éq.ouvrier/cm) ne sont pas préférentiellement choisies par les ouvriers de *M. barneyi*, elles le sont si la concentration est dix fois plus importante ( $10^{-1}$  contre  $10^{-2}$  éq.ouvrier/cm).

Pisteur	N°	Extrait						%	$\chi^2$
		Macrotermes annandalei			Macrotermes barneyi				
		$2 \cdot 10^{-1}$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-1}$	$10^{-1}$	$10^{-2}$		
M.annandalei	60		44			16		73,0	***
	30			27			3	90,0	***
	30	25				5		83,3	***
	30		28				2	93,3	***
	30		8		22			26,7	*
	30			10		20		33,3	-
M.barneyi	60		27			33		55,0	-
	30			7			23	76,7	**
	30	18				12		40,0	-
	30		26				4	13,3	***
	30		7		23			76,7	**
	30			6		24		80,0	***

Tableau 1 : Résultats des tests de suivi de piste en champ libre. Les concentrations données sont en équivalents ouvriers par cm de piste (eq.ouvrier/cm). (N°) : nombre de tests. (%) : Pourcentage de suivi de piste homospécifique. ( $\chi^2$ ) : Test du khi-carré. – pas de préférence significative ; \* significatif à  $P < 0,05$  ; \*\* significatif à  $P < 0,01$  ; \*\*\* significatif à  $P < 0,001$ .

Suivis de piste dans le dispositif expérimental à pistes parallèles :

Si l'on donne le choix aux termites entre deux pistes vierges, aucune préférence significative pour l'une ou l'autre piste n'est enregistrée. Pour *M. annandalei*, les insectes ont choisi quatre fois l'une des pistes et deux fois l'autre (non significatif,  $P < 0,781$  ; Test de Monte-Carlo). Pour *M. barneyi*, ce choix a été de six contre deux (non significatif,  $P = 0,829$  ; Test de Monte-Carlo).

Si le choix est donné entre une piste vierge et une piste empruntée pendant 24 h, la piste établie est choisie préférentiellement et invariablement aussi bien par *M. annandalei* que par *M. barneyi* (cinq fois sur cinq, significatif,  $P = 0,968$  ; Test de Monte-Carlo).

Dans le cas d'un choix entre une piste homo ou hétérosécifique, *M. annandalei* (Figure 1) emprunte préférentiellement sa piste dans les premiers temps de l'expérience. Toutefois, au bout de 24 heures, un équilibre s'établit entre les deux pistes. Chez *M. barneyi* (Figure 2), aucun choix significatif n'est opéré par les termites au cours des deux heures.

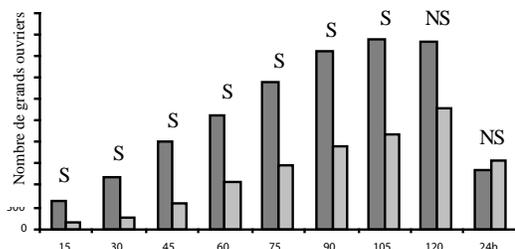


Figure 1 : nombre d'individus passés sur la piste *M.*

*annandalei* (gris foncé) et *M. barneyi* (gris clair) en fonction du temps. NS= test statistique non significatif ; S= test statistique significatif (Test de Wilcoxon). N=5. Espèce testée : *M. annandalei*.

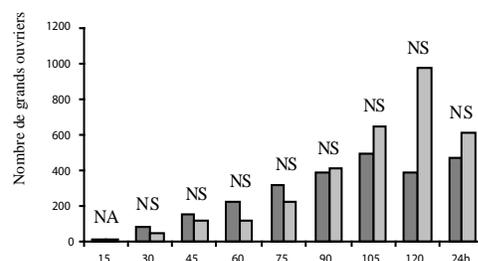


Figure 2 : nombre d'individus passés sur la piste *M.*

*annandalei* (gris foncé) et *M. barneyi* (gris clair) en fonction du temps. NS= test statistique non significatif ; NA= test non applicable (Test de

#### Analyses en GC-MS après SPME :

L'analyse chimique des composés présents à la surface de la glande sternale, glande qui sécrète la phéromone de piste, permet de mettre nettement en évidence (*Z*)-dodec-3-ène-1-ol (à raison d'environ 1 ng par ouvrier chez *M. annandalei* et 1,5 ng chez *M. barneyi*), mais aucun autre composé spécifique de la glande sternale n'a pu être détecté. En revanche, les hydrocarbures cuticulaires des deux espèces sont très nettement différents.

#### Origine de la spécificité des pistes:

N'ayant pas décelé de composés de la sécrétion sternale susceptibles d'intervenir dans la spécificité des suivis de pistes, nous avons cherché à savoir si les hydrocarbures cuticulaires ou les excréments pouvaient être impliqués dans ce phénomène. On peut en effet envisager que des hydrocarbures tégumentaires sont déposés sur le substrat lorsque l'ouvrier de termite frotte la face ventrale de son abdomen pour appliquer la phéromone de piste. D'autre part, les termites maculent leurs pistes d'excréments sous forme de petites boulettes fécales (Grassé, 1985). Ni l'un ni l'autre de ces extraits n'induit, seul, de suivi de piste ( $X=2,1$  cm pour l'extrait de tégument,  $N=30$ ,  $X=1,4$  cm pour l'extrait de contenu intestinal,  $N=30$ ). Additionnés de (*Z*)-dodec-3-ène-1-ol synthétique, les extraits d'hydrocarbures cuticulaires n'induisent de réponses spécifiques significatives chez aucune des deux espèces, mais les pistes préparées à partir de contenu intestinal sont spécifiques chez *M. annandalei* (42 choix homospécifiques sur 60 tests ; significatif à  $P<0,01$ ).

#### DISCUSSION

Chez les termites, on peut aujourd'hui distinguer 3 situations : le cas où les phéromones de piste ne sont absolument pas spécifiques et où la réponse des termites est liée uniquement à la concentration de la phéromone (c'est ce qui est observé chez les termites champignonnistes *Pseudacanthotermes spiniger* et *P. militaris*), le cas où les phéromones

sont totalement spécifiques, (chez certains *Nasutitermes* du Brésil), enfin le cas intermédiaire où la spécificité des réponses est modulée par la concentration phéromonale (Bordereau *et al.* 2002). Dans ce dernier cas, il est fort probable que l'on se trouve en présence d'un système à plusieurs composantes avec un signal anonyme induisant le suivi de piste et un ou des signaux spécifiques. C'est ce qui a été suggéré pour des termites africains (Kaib *et al.* 1982). C'est probablement le cas chez *M. annandalei* et chez *M. barneyi* où la spécificité des pistes est claire, même si elle est plus discrète et plus labile chez *M. barneyi*, et où cette spécificité disparaît si l'on modifie la concentration des pistes. Au seuil d'activité du (Z)-3-dodécène-1-ol, composant majoritaire de la phéromone de piste chez ces espèces, les composants spécifiques induiraient la réponse spécifique des ouvriers. À forte concentration le (Z)-3-dodécène-1-ol masquerait l'action des éléments spécifiques en attirant fortement les ouvriers.

Quant à l'origine de la spécificité des pistes, nos résultats montrent clairement qu'elle ne provient pas de la phéromone de piste. Non seulement, aucun composé spécifique n'a été décelé à la surface des glandes sternales des 2 espèces, mais les pistes artificielles préparées à partir des glandes sternales seules n'apportent pas de réponses spécifiques de la part des ouvriers. En fait, la spécificité semble bien provenir des macules fécales qui balisent les pistes de termites, puisque des pistes artificielles préparées à partir de contenus intestinaux induisent des suivis de piste spécifiques. Il sera intéressant de rechercher la nature des composés intervenant dans ce phénomène.

REMERCIEMENTS : les auteurs tiennent à exprimer leur reconnaissance au professeur R. H. Leuthold pour avoir aimablement fourni plusieurs exemplaires de son dispositif expérimental à pistes parallèles et ainsi contribué à cette étude.

#### REFERENCES

- Abe T., 1987. « Evolution of life types in termites ». In *Evolution and coadaptation in biotic communities*, Eds Kawano S., Connell J. H., Hidaka T., University of Tokyo Press, 125-148.
- Affolter J. and Leuthold R. H., 2000. Quantitative and qualitative aspects of trail pheromones in *Macrotermes subhyalinus* (Isoptera, Termitidae). *Ins. Soc.*, 47 : 256-262.
- Bordereau C., Robert A., Cancellato E., Sémon E. 2002. Species specificity of trail and sex pheromones in termites. Proc. XIV IUSSI Congress, Sapporo.
- Grasse P.P., 1985. *Termitologia* TIII. Masson Ed.- 715pp.
- Kaib M., Bruinsma O., Leuthold R. H., 1982. Trail-following in termites : evidence for a multicomponent system. *J. Chem. Ecol.*, 8 (9) : 1193-1205.
- Peppuy A., 1999. Termites du Nord Vietnam, communication chimique et isolement spécifique. Thèse Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), 146 pp.
- Peppuy A., Robert A., Semon E., Ginies C., Lettere M., Bonnard O. and Bordereau C., 2001a. (z)-dodec-3-en-1-ol, a novel trail pheromone identified after solid phase microextraction from *Macrotermes annandalei*. *J. Insect Physiol.* 47 (2001) 445-453.
- Peppuy A., Robert A., Semon E., Bonnard O., Ngo Truong Son and Bordereau C., 2001b. Species specificity of trail pheromone of fungus-growing termites from northern Vietnam. *Ins.Soc.*, 48 (2001) 245-250.