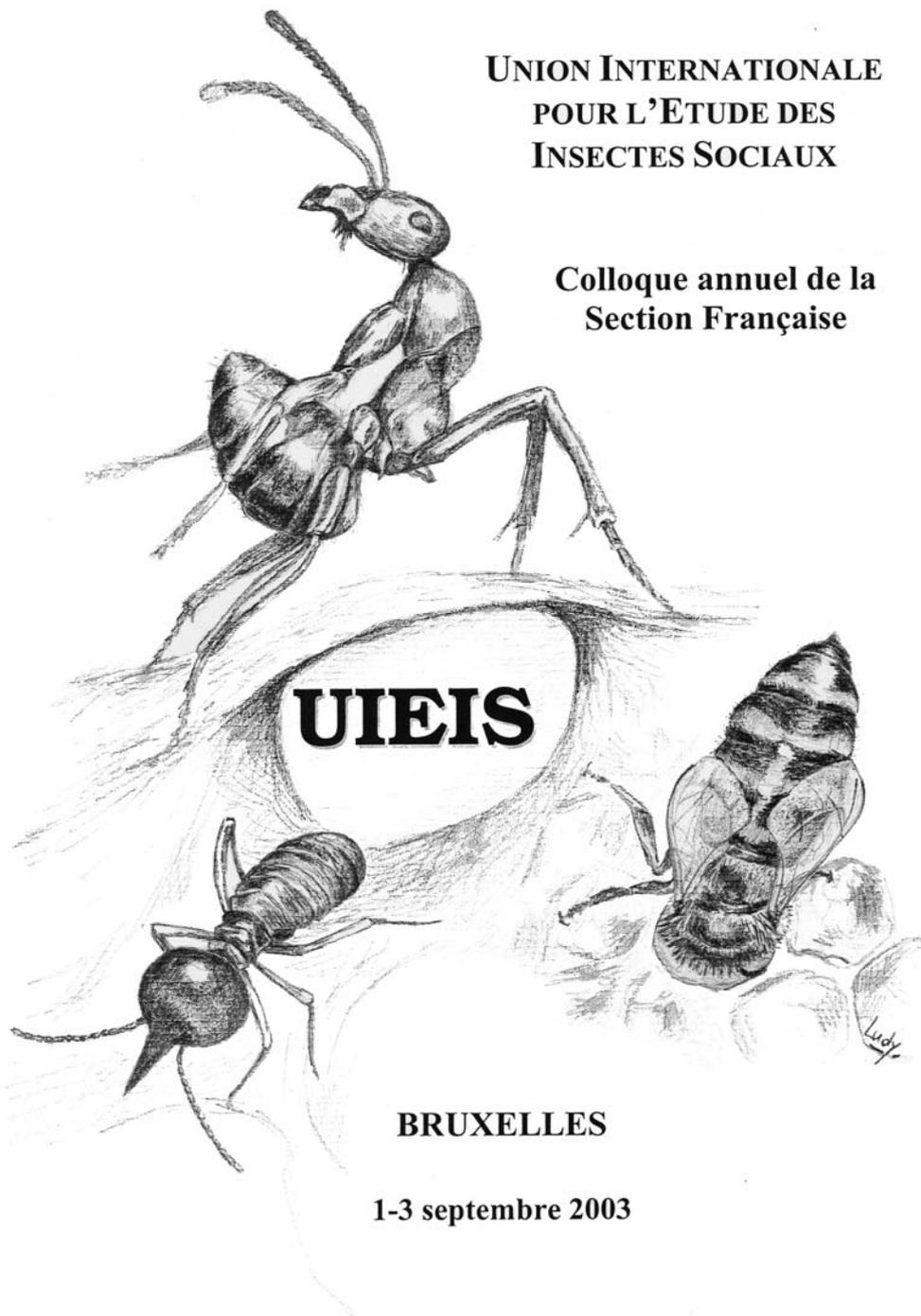


Actes des Colloques Insectes Sociaux

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

**L'ENTERREMENT DES CADAVRES CHEZ LE TERMITE CHAMPIGNONNISTE
PSEUDACANTHOTERMES SPINIGER (TERMITIDAE, MACROTERMITINAE) :
ANALYSE DU COMPORTEMENT NECROPHORIQUE ET DE SON INDUCTION**

par **Thomas Chouvenc***, **Alain Robert***, **Etienne Sémon**** et **Christian Bordereau***

* UMR CNRS 5548, Communication Chimique, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon

tomchouv@hotmail.com

** UMR INRA Arôme, 17 rue Sully, 21000 Dijon

Introduction

Chez les insectes sociaux, l'apparition d'un cadavre au sein de la colonie constitue un facteur de risque important dans la propagation des agents pathogènes. Il a pu être observé chez de nombreuses fourmis (Wilson et al., 1958, Ataya & Lenoir, 1984) ainsi que chez les abeilles (Visscher, 1983) des comportements de rejet des cadavres hors de la colonie. Chez de nombreuses espèces de termites, les cadavres sont éliminés par nécrophagie par les ouvriers avant qu'ils ne se décomposent. Cependant, après l'essaimage, lors de la fondation d'une nouvelle colonie, il y a absence d'ouvriers. Afin d'éviter une épidémie, les essaimants vont donc être contraints de prendre en charge un cadavre, qu'il soit issu de la mortalité larvaire ou adulte en cas de fondation par pléomérose (fondation à plusieurs mâles et femelles). Chez *P. spiniger*, les essaimants étant en fondation claustrale, ils ne peuvent pas rejeter le cadavre hors de la nouvelle colonie. Par ailleurs, ils ne se nourrissent pas par eux-mêmes (ils peuvent jeûner plusieurs mois) et ne peuvent donc pas éliminer le cadavre par nécrophagie. Il a ainsi pu être constaté qu'ils sont capables d'isoler physiquement un cadavre du reste de la colonie, en l'enterrant au sein même de la loge royale. L'objectif de cette étude est de décrire le comportement nécrophorique chez les essaimants de *P. spiniger* et d'en comprendre les mécanismes inducteurs.

Matériel et méthodes

P. spiniger est un termite champignonniste largement répandu en Afrique sub-saharienne. Les colonies utilisées pour cette étude sont élevées dans des terrariums situés dans une pièce climatisée (28°C, 80% HR, photopériode 12h/12h). Elles sont nourries avec du bois légèrement décomposé et la terre est maintenue humide. A l'essaimage, les individus sont capturés par un piège lumineux ($\lambda=300-400\text{nm}$), désaillés, et placés sur du sable dans des boîtes de Petri où ils sont stockés pour les expériences.

Observation et mesure de l'activité nécrophorique

Un cadavre d'essaimant (mort depuis 6h) est placé dans une arène en présence de 10 essaimants vivants et l'activité de recouvrement du cadavre est observée et quantifiée. Cependant, les individus de cette espèce ont tendance à recouvrir tous les corps étrangers à la colonie. Afin de mesurer l'activité réelle d'enterrement, deux morceaux de papier filtre de 5mm x 10mm sont placés dans une boîte de Petri, sur du sable humide. L'un est imbibé de 5 μl d'une solution témoin et l'autre, d'un extrait de cadavre. La quantité de sable déposée sur le papier témoin est comparée à la quantité de sable déposée sur le papier test. Après 6h d'expérience en présence de 10 essaimants, le sable déposé sur les deux leurres est récupéré, séché, puis pesé. L'expérience est répétée un nombre de fois suffisant pour l'application d'un test t de Student apparié.

Les extraits sont réalisés avec le dichlorométhane selon le protocole suivant : 10g d'individus (poids frais) sont mélangés à 10 ml de solvant pendant 20 minutes. La solution filtrée obtenue a une concentration équivalant à 1 mg d'individu / μ l.

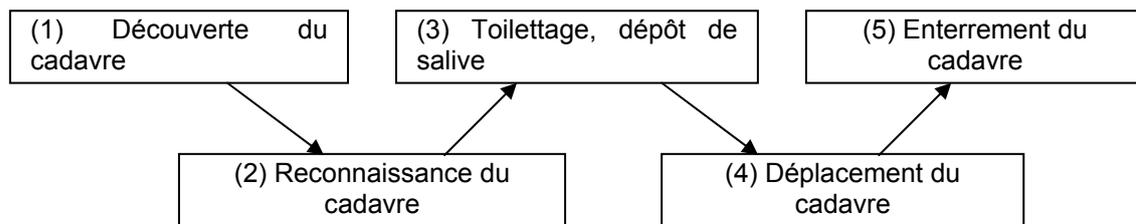
Les différentes solutions testées sont:

- Cadavres F0 (CF0) : les individus sont tués par le froid (30min à -20°C), décongelés à l'air libre pendant 5 min, puis plongés dans le solvant. Cette solution servira de témoin.
- Cadavres F1 (CF1) : Les individus sont tués par le froid, les cadavres sont ensuite laissés à l'air libre à 25°C pendant 1 jour, avant d'être plongés dans le solvant.
- Cadavres F8 (CF8) : Les individus sont tués par le froid, les cadavres sont ensuite laissés à l'air libre à 25°C pendant 8 jours, avant d'être plongés dans le solvant.

L'analyse chimique des échantillons est effectuée par chromatographie en phase gazeuse (Agilent Technologie 6890) couplée à un spectromètre de masse (Agilent Technologie 5973) (CPG-SM).

Résultats

Le comportement nécrophorique des essaimants de *P. spiniger* est très stéréotypé et peut être schématisé dans un éthogramme :



Le cadavre est rapidement découvert (1) par la prospection aléatoire des individus dans l'arène. La reconnaissance du cadavre (2) nécessite des palpations antennaires et léchages rapides (contacts avec les palpes labiaux et maxillaires) car, quand les essaimants sont confrontés en même temps à un grillage recouvrant un cadavre et à un grillage témoin, les deux sont enterrés de façon similaire. Un toilettage minutieux du cadavre (3) (allogrooming) a lieu et dure de 2 à 3 heures ce qui a pour conséquence de le recouvrir entièrement de salive. Le cadavre est ensuite déplacé dans l'arène (4) par un ou parfois deux individus, puis est déposé contre le rebord de la boîte de Petri, généralement à l'opposé de l'endroit où se sont regroupés les individus. Un individu va alors déposer quelques grains de sable imbibés de salive sur le cadavre. A partir de ce moment, le cadavre ne sera plus déplacé et d'autres individus vont se mettre à le recouvrir de sable (5) (Fig.1).

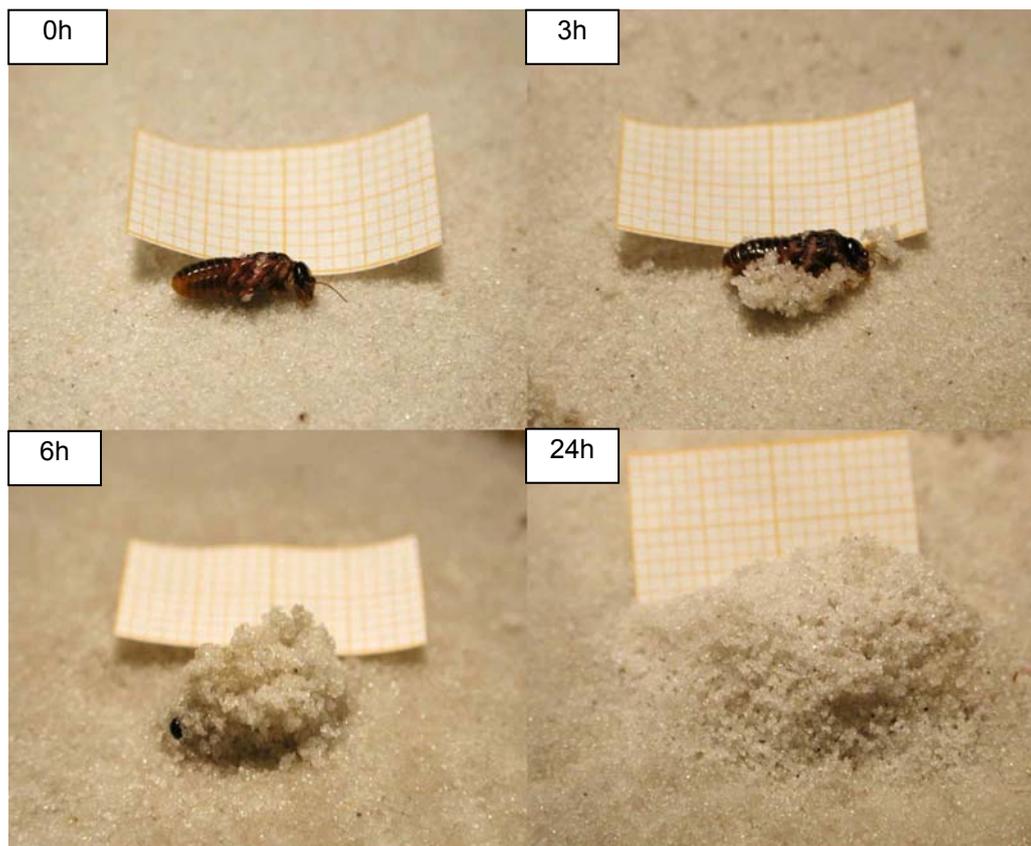


Figure 1 : Évolution dans le temps de l'enterrement d'un cadavre par les essaimants

Rôle de la salive

En utilisant deux morceaux de papier filtre, l'un imbibé d'eau et l'autre imbibé de salive, ce dernier provoque l'enterrement de manière plus importante. Il semble donc que la salive prend une part importante dans l'induction de l'enterrement. Par ailleurs il a été observé que des cadavres recouverts de salive présentent une croissance fongique plus faible que des cadavres non toilettés. La salive joue donc un rôle de barrière chimique contre la propagation des agents pathogènes.

Induction du comportement nécrophorique

Les essaimants enterrent significativement plus l'extrait de Cadavres F1 que l'extrait de Cadavres F0 (témoin) ($n=30$, test t apparié, $p=0,046$). Il y a donc dans un cadavre décomposé de 1 jour des substances capables de provoquer le comportement d'enterrement et ces substances peuvent être extraites par le dichlorométhane. L'activité observée avec l'extrait Cadavres F8 est encore plus significative ($p=0,001$).

L'analyse en CPG-SM a permis d'identifier et de quantifier 51 produits issus de la décomposition et certains d'entre eux, les composés majeurs, ont pu être testés par la suite un par un.

Testés seuls, les composés majeurs émis par un cadavre ne sont pas capables d'induire le comportement d'enterrement chez les essaimants, aux concentrations de l'extrait.

Cependant, une solution artificielle composée des 6 acides gras (AGs) aux concentrations de référence permet d'obtenir un enterrement significatif (Fig.2a, $n=30$, test t apparié, $p=0,03$).

	CR	SR
-Acide tétradécanoïque	0,015	NR
-Acide palmitique	0,300	NR
-Acide stéarique	0,200	50
-Acide palmitoléique	0,050	50
-Acide oléique	0,500	100
-Acide linoléique	0,200	100
-Indole	0,010	10
-Phénol	0,004	10

Tableau 1. Molécules testées dans l'induction du comportement nécrophorique. **CR**= Estimation des concentrations de référence (extrait cadavres de 8 jours (F8)) en mg/ml. **SR**= Seuil de réponse en mg/ml. **NR**= Pas de réponse significative dans une échelle de 0,001 à 100 mg/ml. **AGs**= Mélange d'acides gras. **S-C**= Solution mélange Simulation-Cadavre

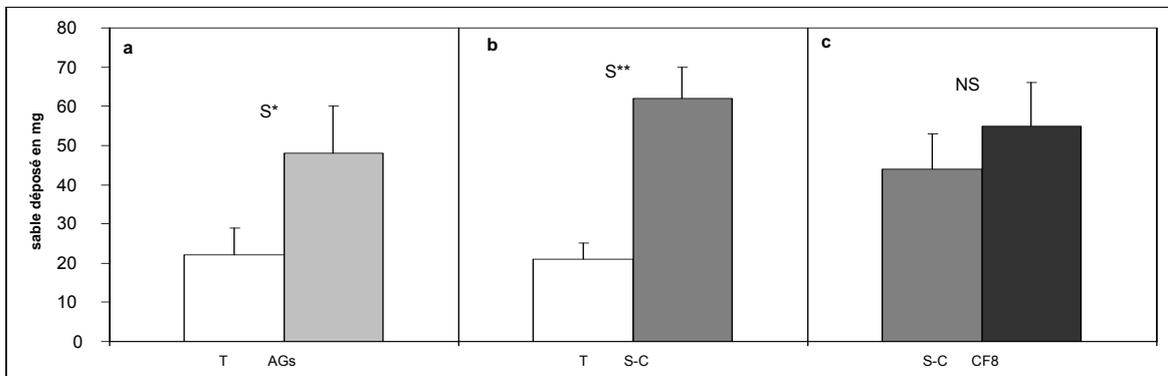


Figure 2. Activité d'enterrement chez les essaimants de *P. spiniger*, mesurée en mg de sable déposés sur les leurres.

T= témoin (dichlorométhane). **AGs**= mélange d'acide gras. **S-C**= Simulation Cadavre. **CF8**= Cadavre F8

En ajoutant à la solution d'acides gras mélangés (AGs) de l'indole et du phénol aux concentrations de référence pour obtenir ainsi la solution " Simulation - Cadavre " (S-C), on obtient une réponse d'enterrement très significative (Fig.2b, n=30, test t apparié, p= 0,007).

Enfin, en testant la solution artificielle " Simulation - Cadavre " face à l'extrait de cadavres de 8 jours (cadavre F8), on obtient une différence d'enterrement non significative (Fig.2c, n=30, test t apparié, p=0,31).

Cette dernière expérience montre donc que les essaimants ne sont pas capables de discriminer la solution artificielle à base d'acides gras, de phénol et d'indole (Simulation - Cadavre) de l'extrait de cadavres de 8 jours (cadavre F8).

Ce mélange de substances, en concentrations estimées dans l'extrait de cadavres, permet donc d'induire le comportement d'enterrement chez les essaimants de *P. spiniger*.

Conclusion

Chez le termite champignoniste *Pseudacanthotermes spiniger*, il a été démontré qu'au sein d'un groupe artificiel d'essaimage, les individus sont capables de prendre en charge un cadavre et de l'isoler physiquement du groupe en l'enterrant.

Ce comportement d'enterrement comporte différentes phases. La découverte du cadavre et la reconnaissance du cadavre se font uniquement par chémoréception de contact en utilisant la palpation antennaire. Le cadavre est ensuite toiletté et recouvert de salive. Ce dépôt pourrait constituer une barrière chimique contre les pathogènes et retarder la décomposition car, chez *P. spiniger*, la salive contient des peptides antifongiques et antibiotiques (Lamberty, 2001). De plus, ce dépôt semble renforcer le comportement nécrophorique. Enfin, le cadavre est toujours déplacé à distance du groupe avant d'être recouvert de sable et complètement enterré.

Le comportement nécrophorique chez les essaimage a donc comme conséquence la formation de deux barrières. L'une chimique avec la salive et l'autre physique avec le recouvrement complet du cadavre par un substrat, sable ou terre.

Cette activité est principalement provoquée par des composés issus du cadavre et 51 d'entre eux, extraits par le dichlorométhane, ont pu être identifiés. L'induction du comportement nécrophorique semble due, non pas à un seul composé, mais à un bouquet complexe de substances. Une solution appelée ici "Simulation - Cadavre", composée d'acides gras, d'indole et de phénol est capable d'induire l'enterrement de cadavres. Cependant, comme il a été observé chez les fourmis (Gordon, 1982), il est possible que ce mode d'induction diffère selon le contexte social dans lequel sont testés les individus.

Ainsi il est montré pour la première fois que l'activité nécrophorique chez des essaimage de termites est due à une induction d'ordre chimique et qu'elle requiert un mélange de substances à base d'acides gras.

Références

Ataya H. & Lenoir A., 1984. Le comportement nécrophorique chez la fourmi *Lasius niger* L. *Ins. Soc.*, 31, 20-33.

Gordon D.M., 1982. Dependence of necrophoric response to oleic acid on social context in the ant *Pogonomyrmex badius*. *J. Chem. Ecol.*, 9, 104-111.

Lamberty M., Zachary D., Lanot R., Bordereau C., Robert A., Hoffmann J.A. & Bulet P., 2001. Constitutive expression of a cysteine-rich antifungal and linear antibacterial peptide in a termite insect. *J. Biol. Chem.*, 276, 4085-4096.

Visscher P.K., 1983. The honey bee way of death: necrophoric behaviour in *Apis mellifera* colonies. *Anim. Behav.*, 31, 1070-1076.

Wilson E.O., Durlach N.E. & Roth L.M., 1958. Chemical releasers of necrophoric behaviour in ants. *Psyche*, 65, 108-114.

Wilson E.O., 1971. *The Insect Societies*. Belknap Press of Harvard University, Cambridge, MA, 548 pp.