

**VARIATION DES HYDROCARBURES CUTICULAIRES CHEZ DES
OUVRIERES DE FOURMI *LEPTOTHORAX NYLANDERI* PARASITEES.**

TRABALON M.¹, PLATEAUX L.¹ & BAGNERES A. G.²

1 - Laboratoire de Biologie et Physiologie du Comportement, URA-CNRS 1293, Faculté des Sciences, B.P. 239, 54506 Vandoeuvre-Les-Nancy (France).

2 - Laboratoire de Neurobiologie-Communication Chimique, CNRS, 31, Chemin J. Aiguier, 13402 Marseille Cedex 20 (France).

Résumé : La présence d'*Anomotaenia brevis* (Cestode, Cyclophyllide) chez la Fourmi adulte ne modifie pas les substances servant à la reconnaissance de l'espèce : les fourmis parasitées possèdent les mêmes hydrocarbures cuticulaires que les fourmis normales. Par contre, le parasite provoque des variations dans la sécrétion/libération de 12 hydrocarbures. Par ailleurs, plus le nombre de parasites à l'intérieur de l'ouvrière est élevé plus la variation quantitative de ces 12 hydrocarbures cuticulaires est importante par rapport aux fourmis normales. Ces modifications peuvent peut-être expliquer l'intolérance partielle observée envers les fourmis parasitées par les ouvrières normales.

Mots-clés : Fourmis, hydrocarbures, parasite Cestode.

Abstract : Variation of cuticular hydrocarbons in *Leptothorax nylanderi* ants modified by parasites.

The presence of *Anomotaenia brevis* (Cestoda, Cyclophyllidea) in an adult ant does not modify the substances used for the recognition of the species : the parasitized ants possess the same cuticular hydrocarbons as the normal ones. On the other hand, the parasite induces some changes in the secretion/releasing of 12 hydrocarbons. Otherwise, the higher the number of parasites within a worker, the larger the quantitative changes of the 12 cuticular hydrocarbons in comparison with the normal ants. Such modifications may explain the partial intolerance exerted by the normal workers against the parasitized ants.

Key words : Ants, hydrocarbons, parasite Cestoda.

INTRODUCTION

La présence de parasites chez les Invertébrés provoque des modifications dans le déroulement de la métamorphose, la physiologie et le comportement de l'adulte.

Ainsi, les larves de *Tribolium* parasitées par *Hymenolepis microstoma* se métamorphosent plus lentement (Tan et Jones, 1969) ; les Ostracodes infestés par des larves de Cestodes ont une maturité sexuelle moindre (Avery, 1969).

Sous l'effet d'un parasite Cestode, *Anomotaenia brevis*, ingéré au cours de leur développement larvaire, des adultes de la Fourmi *Leptothorax nylanderi* sont fortement modifiés, au point de présenter l'apparence d'une espèce distincte de *nylanderi*, semblant parasite social des individus normaux (Plateaux, 1972). En effet, *Anomotaenia brevis* provoque une profonde altération des caractères morphologiques de la Fourmi hôte : modification de la pigmentation (jaune d'or au lieu de roussâtre à bande noire), diminution de la taille moyenne des adultes (réduction relative des pattes, des yeux et de la tête et accroissement relatif du pétiole ; Péru, 1982) et augmentation de la proportion d'intercastes (Plateaux, 1972).

D'autre part, le comportement et la physiologie des Fourmis *Leptothorax nylanderi* parasitées sont modifiés. Ainsi, ces Fourmis sortent peu du nid, elles ne l'approvisionnent guère, sont constamment quémandeuses auprès d'ouvrières normales, sont incapables de nourrir normalement le couvain et semblent inaptes à se reproduire.

Cependant, ces Fourmis parasitées semblent être tolérées dans leur société où elles survivent aussi longtemps que les *nylanderi* normales avec lesquelles elles demeurent en permanence (Plateaux, 1972). Dans un cas précis, six ouvrières parasitées ont laissé deux survivantes jusqu'à l'âge de quatre ans et demi parmi des ouvrières normales qui souvent ne dépassaient pas trois ans de longévité. Toutefois, les fourmis parasitées subissent occasionnellement des agressions qui peuvent causer quelques mutilations d'appendices (Plateaux et Péru, 1987). Ces agressions proviennent des fourmis normales, surtout à l'occasion de perturbations dans la société.

On peut donc se demander si l'odeur portée par le tégument des Fourmis parasitées est semblable à celle des Fourmis normales ou si elle est, elle aussi, modifiée. C'est pourquoi nous avons cherché, dans le cadre de ce travail, à comparer les hydrocarbures cuticulaires de Fourmis normales et parasitées de l'espèce *Leptothorax nylanderi* où les individus parasités sont relativement fréquents.

MATERIEL ET METHODES

L'élevage de *Leptothorax nylanderi* se fait dans des tubes de verre de 11 cm de long et de 12 mm de diamètre possédant à une extrémité un abreuvoir séparé de la chambre principale par du coton. Les Fourmis sont maintenues dans une étuve à 24 +/- 1° C sous une photopériode naturelle et nourries avec du miel et des *Drosophiles* tuées par congélation.

Les hydrocarbures cuticulaires des Fourmis sont dosés par chromatographie en phase gazeuse en utilisant le n-heptadécane comme étalon interne. La colonne utilisée est une colonne capillaire CPSIL 5 de 25 m de long et de 0,22 mm de diamètre. Le chromatographe est un DELSI 200 muni d'un injecteur split-splitless (splitless de 15 secondes) et d'un détecteur à ionisation de flamme. Le programme utilisé va de 100 à 320°C à raison de 5°C/mn. Un intégrateur ENICA 31 donne les proportions relatives de chaque hydrocarbure et sa quantité en nanogrammes. Les temps de rétention sont comparés à ceux d'alcane linéaires de synthèse. Le nombre de carbones théorique est calculé pour chaque constituant de la mixture. L'identification des hydrocarbures a été réalisée grâce au couplage d'un chromatographe en phase gazeuse 5890 HP et d'un spectromètre de masse MSD Hewlett-Packard 5970B relié à une station informatique de traitement de données spectrales HP série 300 HP59970C Chemstation.

L'analyse est effectuée en impact électronique (70 eV), les échantillons sont injectés selon la technique de Bagnères et Morgan (1990).

Les analyses chromatographiques des hydrocarbures cuticulaires sont effectuées sur 2 groupes de Fourmis issues de la même société :

- 1er groupe : ouvrières normales (N = 14).
- 2ème groupe : ouvrières parasitées (N = 14)
 - * ouvrières parasitées par 1 ou 2 larves de Cestode (N = 8)
 - * ouvrières parasitées par 14 à 22 larves de Cestode (N = 6).

Les résultats chromatographiques sont analysés par une analyse de variance (ANOVA). Une analyse en composante principale (ACP) a été réalisée sur les proportions relatives des hydrocarbures qui varient significativement selon les groupes de Fourmis étudiés.

RESULTATS

L'extrait cuticulaire de Fourmis *Leptothorax nylanderi* contient un mélange de 44 hydrocarbures saturés, composés de chaînes carbonées allant de 25 à 35 atomes de carbone. Une ouvrière normale contient environ 469 ng d'hydrocarbures. Les hydrocarbures saturés représentent 84 % du mélange et se répartissent en (tableau 1):

- 9 n-alcane (53% du mélange total) parmi lesquels les chaînes à nombre impair d'atomes de carbone prédominent (41% du mélange ; 248 ng/ouvrière). Les constituants majeurs sont par ordre décroissant d'importance le n-heptacosane (23%), le n-nonacosane (8%), le n-pentacosane (7%), le n-octacosane (6%) et le n-hexacosane (4%) alors que les n-triacontane, n-hentriacontane, n-docotriacontane et n-tritriacontane représentent ensemble 5 % du mélange total.

- 23 méthylalcanes répartis en 17 monométhylalcanes (24% du mélange ; 137 ng/ouvrière) et 6 diméthylalcanes (11% du mélange ; 61 ng/ouvrière).

Les monométhylalcanes les plus abondants ont les radicaux méthyl branchés sur les carbones 3,4,5 et 7 (17% des monométhylalcanes). Le 3-méthylnonacosane prédomine avec 16 ng/ouvrière (3,49% du mixture totale) ainsi que le mélange de diméthyles centraux 11+13+15-méthylnonacosane avec 15 ng/ouvrière (3,29% du mélange total).

Parmi les 6 diméthylalcanes du mélange, le diméthylheptacosane est le constituant majeur (26 ng/ouvrière), il représente 6 % du mélange total.

L'extrait cuticulaire contient par ailleurs 11 produits, non encore identifiés, qui représentent 5 % du mélange total soit 23 ng/ouvrière.

Les analyses chromatographiques des extraits cuticulaires obtenus à partir de Fourmis normales et de Fourmis parasitées sont comparables. Quantitativement, il n'existe pas de différence significative entre la masse totale des hydrocarbures présents chez les Fourmis normales (469 ng/ouvrière) et celle des Fourmis parasitées (525 ng/ouvrière) ($F = 0,43$, $P = 0,66$; tableau 2).

Mais si l'on considère les concentrations de chaque hydrocarbure, on remarque que (tableau 2):

- les ouvrières parasitées possèdent significativement plus de n-pentacosane ($F = 8,27$, $P = 0,002$), de n-hexacosane ($F = 4,30$, $P = 0,03$), de n-octacosane ($F = 5,45$, $P = 0,01$), de n-triacontane ($F = 4,25$, $P = 0,05$), de 9+11+13-méthylheptacosane ($F = 5,23$, $P = 0,01$), de 3-méthylheptacosane ($F = 8,86$, $P = 0,002$) et de diméthylhentriacontane ($F = 4,59$, $P = 0,02$) que les Fourmis normales.

- à l'opposé, les ouvrières normales ont significativement plus de n-heptacosane ($F = 8,25$, $P = 0,002$), de n-nonacosane ($F = 7,02$, $P = 0,005$), de 4-méthylheptacosane ($F = 4,96$, $P = 0,02$), de 11+13-méthylhentriacontane ($F = 6,81$, $P = 0,005$) et de diméthylheptacosane ($F = 7,59$, $P = 0,003$) que les Fourmis parasitées.

ECL	NC	Hydrocarbures	IE	PM
25,00	25	n-pentacosane	352	352
26,00	26	n-hexacosane	366	366
27,00	27	n-heptacosane	380	380
28,00	28	n-octacosane	394	394
29,00	29	n-nonacosane	408	408
30,00	30	n-triacontane	422	422
31,00	31	n-hentriacontane	436	436
32,00	32	n-docotriacontane	450	450
33,00	33	n-tritriacontane	464	464
26,64	27	4-méthylhexacosane	336/7	380
27,34	28	9+11+13-méthylheptacosane	140/1,168/9,196/7,224/5,252/3,280	394
27,42	28	7-méthylheptacosane	112/3,308/9	394
27,50	28	5-méthylheptacosane	84/5,336/7	394
27,72	28	3-méthylheptacosane	56/7,364/5	394
28,35	29	12-méthylheptacosane	182/3,238/9	408
28,46	29	6-méthylheptacosane	98/9,336/7	408
28,62	29	4-méthylheptacosane	364/5	408
29,34	30	11+13+15-méthylnonacosane	168/9,196/7,224/5,252/3,280/1	422
29,41	30	7-méthylnonacosane	112/3,336/7	422
29,49	30	5-méthylnonacosane	84/5,364/5	422
29,70	30	3-méthylnonacosane	56/7,392/3	422
30,29	31	12+14-méthyltriacontane	182/3,210/1,252/3,266/7	436
31,31	32	11+13-méthylhentriacontane	168/9,196/7,280/1,308/9	450
31,42	32	7-méthylhentriacontane	112/3,364/5	450
32,37	33	8-méthyltriacontane	464	464
33,31	34	11+13-méthyltriacontane	168/9,196/7,280/1,308/9	478
27,70	29	diméthylheptacosane		408
28,74	30	diméthylheptacosane		422
29,61	31	diméthylheptacosane		436
29,75	31	diméthylheptacosane		436
31,57	33	diméthylhentriacontane		464
33,54	35	diméthyltriacontane		492

Tableau 1 : Hydrocarbures cuticulaires de Leptothorax nylanderi : ECL = nombre théorique de carbones, NC = nombre de carbones, IE = impact électronique, PM = poids moléculaire.

Table 1 : Cuticular hydrocarbons of Leptothorax nylanderi : ECL = theoretical carbons numbers, NC = carbons number, IE = electronic impact, PM = molecular weight.

ng/ ouvrières	Fourmis normales	Fourmis parasitées
hydrocarbures totaux	568,82 ± 127,78	525,32 ± 51,99
n - pentacosane	36,08 ± 8,04	55,60 ± 4,92
n - hexacosane	19,13 ± 6,87	24,79 ± 4,40
n - heptacosane	103,61 ± 22,03	41,03 ± 6,09
n - octacosane	29,62 ± 10,58	80,44 ± 10,99
n - nonacosane	36,70 ± 8,24	20,85 ± 3,72
n -triacontane	3,98 ± 1,73	10,51 ± 2,28
9+11+13-méthylheptacosane	5,10 ± 1,93	8,88 ± 1,68
3-méthylheptacosane	1,41 ± 0,53	10,33 ± 4,10
4-méthylheptacosane	10,67 ± 2,04	5,71 ± 0,78
11+13-méthylhentriacontane	9,38 ± 3,21	5,10 ± 0,99
diméthylheptacosane	25,94 ± 5,98	10,60 ± 2,06
diméthylhentriacontane	7,43 ± 3,94	11,12 ± 2,04

Tableau 2 : Effets de Cestodes parasites sur les sécrétions d'hydrocarbures cuticulaires chez *Leptothorax nylanderi*. Les taux d'hydrocarbures sont exprimés en ng/ouvrière avec l'erreur standard (N = 14 par groupe).

Table 2 : Effects of parasites Cestodes on levels of cuticular hydrocarbons in *Leptothorax nylanderi*. Hydrocarbon levels were expressed in ng/workers with S.E. (N = 14 per group).

Par ailleurs, l'analyse en composante principale sur les pourcentages relatifs des hydrocarbures cuticulaires (figure 1), qui varient significativement en relation avec la présence ou l'absence de parasite, montre que les deux premiers axes représentent 68 % de la variance totale (43 % et 25 % respectivement).

L'observation de la figure 1 montre que les Fourmis parasitées par 1 ou 2 cestodes sont corrélées négativement à l'axe 1 alors que les Fourmis normales sont corrélées positivement à cet axe.

L'analyse de variance avec les coordonnées de chaque individu sur l'axe 1 et sur l'axe 2 permet de séparer d'une manière significative les ouvrières normales des fourmis parasitées par 5 à 22 cestodes ($F = 1,30$, $P = 0,01$ pour l'axe 1 et $F = 0,96$, $P = 0,05$ pour l'axe 2) mais aussi de séparer les fourmis parasitées par 1 ou 2 cestodes des fourmis parasitées par 5 à 22 cestodes sur l'axe 1 ($F = 1,35$, $P = 0,01$).

Par ailleurs, l'analyse en composante principale (figure 2) montre que l'axe 1 est corrélé positivement à 4 hydrocarbures : le n-heptacosane (49, $r^2 = 0,77$), le diméthylheptacosane (51, $r^2 = 0,62$), le 4-méthylheptacosane (53, $r^2 = 0,63$) et le n-nonacosane (54, $r^2 = 0,86$) et négativement à 4 hydrocarbures : le n-pentacosane (45, $r^2 = 0,53$), le 9+11+13-méthylheptacosane (50, $r^2 = 0,55$), le n-octacosane (52, $r^2 = 0,86$) et le n-triacontane (57, $r^2 = 0,69$).

L'axe 2 est associé négativement à 3 hydrocarbures : le n-hexacosane (46, $r^2 = 0,80$), le 3-méthylnonacosane (56, $r^2 = 0,50$) et le diméthylhentriacontane (62, $r^2 = 0,69$).

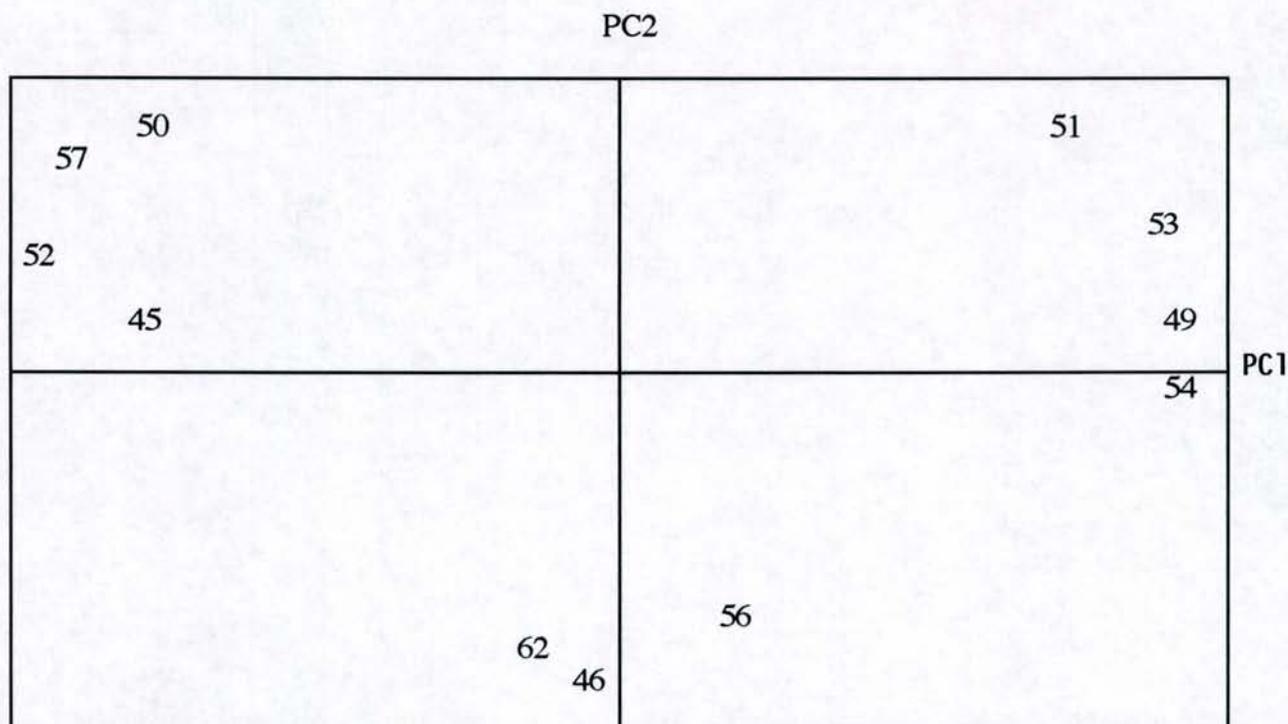


Figure 2 : Projection des hydrocarbures corrélés aux 2 premiers axes (PC1 et PC2) de l'Analyse en Composantes Principales : 45 = n-pentacosane, 46 = n-hexacosane, 49 = n-heptacosane, 50 = 9+11+13-méthylheptacosane, 51 = diméthylheptacosane, 52 = n-octacosane, 53 = 4-méthyl-octacosane, 54 = n-nonacosane, 56 = 3-méthyl-nonacosane, 57 = n-triacontane et 62 = diméthylhentriacontane.

Figure 2 : Projection of the hydrocarbons correlated with the first two axes (PC1 and PC2) from Principal Component Analysis : 45 = n-pentacosane, 46 = n-hexacosane, 49 = n-heptacosane, 50 = 9+11+13-méthylheptacosane, 51 = diméthylheptacosane, 52 = n-octacosane, 53 = 4-méthyl-octacosane, 54 = n-nonacosane, 56 = 3-méthyl-nonacosane, 57 = n-triacontane and 62 = diméthylhentriacontane.

DISCUSSION

Les Fourmis *Leptothorax nylanderi* ne contenant aucun Cestode dans leur hémocoel et les Fourmis de couleur jaune, contenant des larves de Cestodes dans leur abdomen, possèdent les mêmes hydrocarbures cuticulaires. Ces résultats confirment les observations faites par L. Plateaux (1972) : les *Leptothorax* de couleur jaune ne constituent pas une espèce parasite, ce sont simplement des *nylanderi* parasitées.

La présence de larves cysticercoïdes du cestode *Anomotaenia brevis* ne modifie pas les substances servant à la reconnaissance de l'espèce ce qui permet d'expliquer pourquoi la société tolère les Fourmis parasitées.

Par contre, le parasite fait varier de manière significative la sécrétion/libération de 12 hydrocarbures : 6 n-alcanes, 4 monométhylalcanes et 2 diméthylalcanes. En outre, il existe une corrélation positive entre le nombre de parasites et la variation de ces différents hydrocarbures : plus le nombre de parasites présents chez une ouvrière est élevé, plus les différences avec les ouvrières normales sont importantes.

Les modifications de sécrétion/libération de ces hydrocarbures cuticulaires sont peut-être responsables des agressions occasionnelles dont les Fourmis parasitées sont victimes dans leur propre société. On peut donc penser que le parasite modifie la reconnaissance intraspécifique des Fourmis.

Il est remarquable que cette différenciation quantitative se fasse au sein des colonies parasitées malgré l'uniformité du modèle chimique normal (individus non parasités majoritaires). La présence des parasites modifie sans doute la biosynthèse des hydrocarbures cuticulaires responsables de la signature chimique coloniale (Bonavita-Cougourdan *et al.*, 1987). Le réajustement par rapport au modèle normal ne se fait plus. Il s'agirait donc, soit d'une biosynthèse particulière épigénétique, les individus parasités conservant donc une originalité chimique, soit ceux-ci n'arrivent plus à synthétiser normalement leurs hydrocarbures et donc ont perdu l'aptitude à se réajuster sur le modèle environnant normal.

REFERENCES

- Avery, R.A., 1969. The ecology of tapeworm parasites in wildfowl. *Wildfowl*. 20 : 59-68.
- Bagnères, A.G. and Morgan, E.D., 1990. A simple method for analysis of insect cuticular hydrocarbons. *J. Chem. Ecol.* 16(12) : 3263-3276.
- Bonavita-Cougourdan, A., Clément, J. L. and C. Lange, 1987. Nestmate recognition : the role of cuticular hydrocarbons in the ant *Camponotus vagus* Scop. *J. Ent. Sci.* 22 : 1-10.
- Péru, L , 1982. Fourmis du genre *Leptothorax* et Cestodes Cyclophyllides. Modifications de l'hôte intermédiaire sous l'influence du cysticercoïde. *Thèse de 3ème cycle, mention Entomologie, Université P. et M. Curie* (Paris VI). 101 pp.
- Plateaux, L , 1972. Sur les modifications produites chez une Fourmi par la présence d'un parasite Cestode. *Ann. Sc. Nat., Zool.*, 12ème série. 14 : 203-220.
- Plateaux, L and L. Péru, 1987. Les Fourmis *Leptothorax*, hôtes intermédiaires de Cestodes d'Oiseaux (direction scientifique). Film réalisé par V. Kleiner, production SFRS, Paris (7 mn).
- Tan, B. D. and A. W. Jones, 1969. *Hymenolepis microstoma* : Retardation of growth and development of larval and pupal stages of *Tribolium confusum*. *Exper. Parasitol.* 26 : 393-397.