

Reproduction des Angiospermes

Les Angiospermes sont, avec les Gymnospermes, des plantes à graines ou Spermaphytes. La graine est une structure multicellulaire résistante et complexe qui contient l'embryon et des réserves nutritives. Son rôle est de protéger l'embryon et de permettre sa dissémination. Elle constitue une solution aux problèmes de stress environnementaux et de dispersion de la progéniture (Campbell and Reece, 2004).

Les Angiospermes diffèrent des Gymnospermes par la mise en place de structures reproductrices particulières : les fleurs et les fruits et par la double fécondation. La reproduction des Angiospermes se fait en trois étapes, la production des gamètes contenus dans des gamétophytes portés par les fleurs, la pollinisation ou arrivée des grains de pollen sur le stigmate et la fécondation qui aboutit à la formation de graines. Les Angiospermes sont divisées en deux sous classes, les Monocotylédones et les Dicotylédones en fonction du nombre de cotylédons de l'embryon contenu dans la graine.

1. Structure des fleurs

La fleur est la structure qui sert à la reproduction des Angiospermes. C'est l'ensemble des organes reproducteurs et des enveloppes qui les entourent. La fleur typique est portée par un pédoncule. Elle est composée d'un réceptacle floral renflé qui est rattaché au pédoncule et qui porte les pièces florales (sépales, pétales, étamines et pistil ; Figure 1) organisées en quatre verticilles concentriques (respectivement calice, corolle, androcée et gynécée). Chacune de ces pièces florales possède une spécificité. Les sépales ont un rôle essentiel de protection du bouton floral avant son ouverture. Les pétales colorés attirent les pollinisateurs. Les étamines et le pistil sont respectivement les organes reproducteurs mâles et femelles (Nabors, 2008). Le réceptacle floral porte également des glandes sécrétoires, les nectaires, qui produisent le nectar. Cette description de fleur est très générale, beaucoup de fleurs ne possèdent pas l'ensemble des pièces florales. De plus, ces caractéristiques correspondent à une fleur hermaphrodite, mais il existe aussi des fleurs unisexuées mâles ou femelles, portées sur une même plante dite alors monoïque, ou sur deux plantes différentes dans le cas de plantes dioïques.

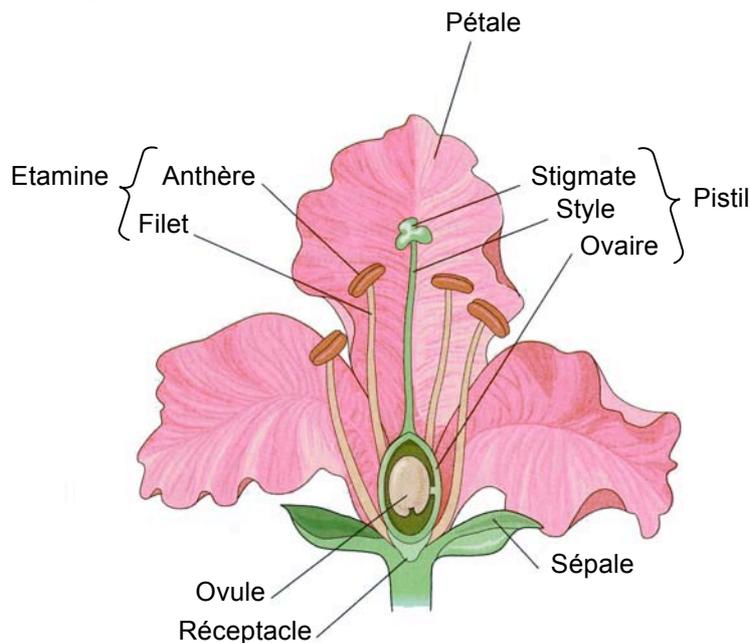


Figure 1 : Représentation schématique d'une fleur bisexuée. Modifié d'après Campbell and Reece (2004).

L'étamine est constituée de deux parties, le filet et l'anthère. Le filet est rattaché au réceptacle floral et porte l'anthère. Cette dernière est formée de deux thèques contenant chacune deux sacs polliniques. Elle est constituée de quatre couches qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur, l'épiderme, l'endothecium c'est-à-dire la future assise mécanique, la couche moyenne qui formera les assises transitoires et le tapis. Ces quatre couches entourent un locule qui est rempli d'un liquide, le fluide loculaire (Bedinger, 1992).

Les parties femelles des fleurs forment le gynécée ou pistil. A l'anthesis, le pistil est composé de trois parties : (i) l'ovaire se trouvant à la base du pistil et contenant les ovules, (ii) le style, extension de l'ovaire à travers lequel se développe le tube pollinique et (iii) le stigmate se situant au sommet du style et qui est le lieu d'adhésion et de germination des grains de pollen (Gasser and Robinson-Beers, 1993).

2. Production du gamétophyte mâle : le pollen

Pour se reproduire, les plantes supérieures utilisent un microorganisme multicellulaire particulier, le grain de pollen. Cette structure bi- ou tricellulaire doit être capable de survivre à

l'état libre et d'assurer un certain nombre de fonctions spécialisées avant que la fécondation soit accomplie (Bedinger, 1992).

Les pollens des Angiospermes possèdent tous (i) des réserves glucidiques dédiées au développement du gamétophyte et à son entretien jusqu'à la germination, (ii) deux parois l'intine et l'exine, et (iii) deux gamètes mâles ou leurs précurseurs. Cependant, ils ne possèdent pas de chloroplaste (Pacini, 2000).

Le développement du pollen a lieu dans l'anthere et requiert la participation de cellules somatiques (Figure 2 ; Bedinger, 1992).

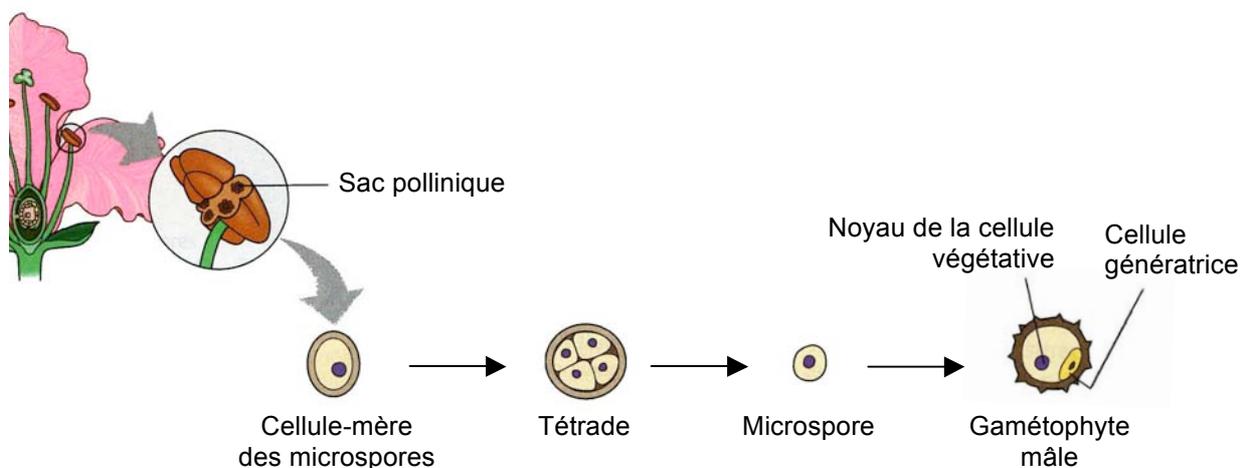


Figure 2 : Formation d'un gamétophyte mâle d'Angiospermes. Modifié d'après Campbell and Reece (2004).

2.1. Formation des microspores

Les cellules sporogènes contenues dans le locule se développent en cellules mères des microspores (CMM) ou microsporocytes (Sanders *et al.*, 1999). Les CMM synthétisent une paroi de callose (β -1,3-glucane) qui pourrait agir comme une barrière ou un filtre moléculaire entre ces cellules et le reste du sporophyte (Scott *et al.*, 2004). Les CMM entrent ensuite en phase méiotique. Chez la plupart des plantes, les divisions méiotiques sont synchrones dans une anthère grâce aux connexions existantes entre les CMM (McCormick, 1993).

Durant cette phase, les cellules du tapis deviennent binucléées et dépourvues de paroi primaire. Elles acquièrent alors une fonction sécrétoire (Bedinger, 1992). Les deux divisions méiotiques des CMM conduisent à la formation d'une tétrade de quatre cellules haploïdes, les microspores, entourées de la paroi de callose. Cette paroi est ensuite dissoute sous l'action de callases sécrétées par le tapis, ce qui entraîne la libération des microspores dans le locule. Enfin, les microspores se vacuolisent : de petites vacuoles se forment puis se rassemblent en

une grande vacuole qui occupe l'essentiel du volume cellulaire et repousse le cytoplasme et les organites contre la paroi.

2.2.Synthèse de l'exine

La mise en place de la paroi pollinique ou sporoderme commence par la synthèse de la couche externe, l'exine. Celle-ci est ornementée, majoritairement constituée de sporopollénine, un composé possédant une très grande résistance chimique et physique, et interrompue par des ouvertures, les apertures (Edlund *et al.*, 2004). La synthèse de cette paroi particulière implique l'action conjointe de la microspore et du tapis. La microspore synthétise une trame de surface, la primexine. Cette dernière détermine le motif de dépôt de l'exine (ornementation) qui est propre à chaque espèce (Bedinger, 1992). Le tapis sécrète les précurseurs de la sporopollénine qui seront polymérisés sur la primexine.

Quand l'exine est formée, le tapis dégénère par mort cellulaire. Ce phénomène induit la libération de débris cellulaires et de substances visqueuses dans le fluide loculaire. Dans certains cas, ces reliquats de cellules tapétales, la tryphine, le pollenkitt et la viscine, se déposent à la surface des microspores en recouvrant les ornements de l'exine. Cette couche supplémentaire constitue le manteau pollinique. Sa composition particulière : lipides, protéines, pigments et composés aromatiques, constitue (i) une protection contre la déshydratation, (ii) un moyen de regroupement des grains, (iii) un facteur d'attraction des insectes pollinisateurs et (iv) un moyen d'adhérer sur leur corps (Pacini, 2000).

2.3.Mitose de la microspore

A la suite du dépôt d'exine, les microspores entrent en réorganisation cytotologique. Le noyau migre à la périphérie de la cellule pour se préparer à la mitose. La mitose de la microspore est une division asymétrique qui conduit à la formation de deux cellules aux devenir très différents. Le produit binucléé de cette mitose constitue le grain de pollen. Le noyau adjacent à la membrane plasmique va se cellulariser pour former la cellule génératrice. Cette cellule se caractérise par un noyau condensé, une quantité réduite de cytoplasme et de mitochondries, un réticulum endoplasmique éparpillé et un faible nombre de pores nucléaires, ce qui témoigne d'une activité transcriptionnelle très réduite (McCormick, 1993). La seconde cellule issue de la mitose, la cellule végétative, possède au contraire un noyau volumineux, un grand nombre de pores nucléaires, une chromatine décondensée et par conséquent, une forte activité

transcriptionnelle (Bedinger, 1992). Le rôle de cette cellule est de servir de réserve énergétique pour assurer le développement du grain de pollen et la croissance du tube pollinique. Chez 70% des familles de plantes à fleurs, le pollen reste binucléé jusqu'à sa germination où la cellule génératrice subira une seconde mitose conduisant à la formation des deux cellules spermatiques (spermatozoïdes). Chez les autres familles, la seconde mitose de la cellule génératrice a lieu avant la libération du pollen (McCormick, 1993).

2.4.Maturation du pollen

A ce stade, le pollen n'a pas fini son développement. Différentes étapes de maturation sont nécessaires à sa survie hors de l'anthere. La mise en place de la paroi pollinique se finalise par la sécrétion de la paroi interne de nature pecto-cellulosique, l'intine. Le pollen accumule des réserves sous forme d'amidon. La dernière étape de maturation est la déshydratation du pollen qui perd jusqu'à 40 à 50 % de son contenu en eau (Bedinger, 1992).

Ces diverses étapes conduisent le pollen à un état de dormance lui permettant alors de résister aux stress environnementaux.

2.5.Présentation du pollen

Avant l'ouverture de l'anthere, le fluide loculaire disparaît par évaporation, réabsorption ou les deux mécanismes ensemble selon les conditions environnementales. L'ouverture de l'anthere, appelée déhiscence, débute par l'ouverture du septum qui sépare les deux locules. Il y a ensuite rupture de l'assise mécanique qui expose les grains de pollen à l'environnement extérieur. La présentation du pollen peut se faire de diverses manières. L'anthere peut s'ouvrir complètement et les grains de pollen sont libérés immédiatement. Autrement, il peut y avoir un mouvement de l'anthere ou du filet qui permet d'éjecter le pollen. Le pollen peut également être retenu par des substances visqueuses (pollenkitt, tryphine, viscine). Ou bien l'anthere peut s'ouvrir progressivement et offrir une exposition graduelle du pollen aux insectes (Pacini, 2000). Ces différents types de présentation conduisent à la mise à disposition du pollen pour la pollinisation.

3. Production du gamétophyte femelle : le sac embryonnaire

Il existe plusieurs types de développement du sac embryonnaire. Le plus commun est le type *Polygonum* décrit pour la première fois par Strasburger en 1879. Ce modèle a lieu chez 70% des plantes à fleurs (Yadegari and Drews, 2004). Le gamétophyte femelle du type *Polygonum* est composé à maturité de 7 cellules et de quatre types cellulaires : les 3 cellules antipodales, les 2 synergides, l'oosphère et la cellule centrale contenant les noyaux polaires (Figure 3 ; Maheshwari, 1950). Le développement du gamétophyte femelle se fait en deux phases, la mégasporogénèse et la mégagamétogénèse.

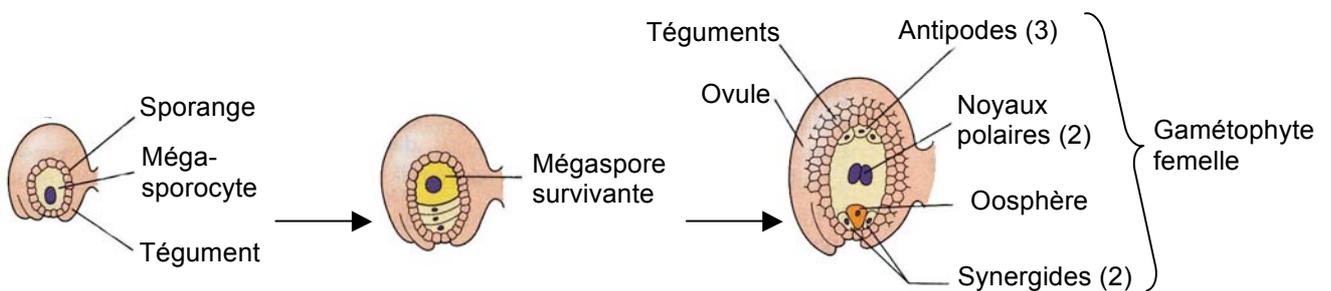


Figure 3 : Formation d'un gamétophyte femelle d'Angiospermes. Modifié d'après Campbell and Reece (2004).

La mégasporogénèse consiste en la formation des mégaspores à partir des cellules mères des mégaspores. Ces cellules diploïdes subissent une méiose qui conduit à la formation de quatre mégaspores haploïdes (Yadegari and Drews, 2004). Dans le type de développement le plus commun, le type monosporique (Maheshwari, 1950), les trois mégaspores les plus proches du micropyle dégénèrent et seule la quatrième devient fonctionnelle (Yadegari and Drews, 2004).

La mégagamétogénèse consiste en la formation du gamétophyte femelle. Pour cela, la mégaspore fonctionnelle subit, dans le cas le plus commun, trois mitoses, sans qu'il y ait cytokinèse. Ces divisions conduisent à la formation d'un cœnocyte à huit noyaux répartis en deux groupes de quatre à chaque pôle. Un noyau de chaque pôle migre au centre où ils fusionnent pour former le noyau diploïde de la cellule centrale. Les autres noyaux s'entourent d'une membrane plasmique et d'une paroi cellulaire, formant ainsi un gamétophyte cellularisé (Yadegari and Drews, 2004).

Les gamètes mâles et femelles ayant été produits dans des structures différentes, une étape de rapprochement est nécessaire pour qu'ils puissent fusionner, il s'agit de la pollinisation.

4. Pollinisation

La pollinisation est le transport des grains de pollen depuis les étamines jusqu'au stigmate (Pesson and Louveaux, 1984). Il existe deux types de pollinisation, l'autopollinisation et la pollinisation croisée. L'autopollinisation correspond à la pollinisation entre deux organes reproducteurs d'une même plante. Il peut s'agir des deux organes d'une même fleur dans le cas d'une fleur hermaphrodite ou de deux fleurs différentes d'une même plante dans le cas de plantes monoïques. La pollinisation croisée, quant à elle, correspond au transfert du pollen de l'anthere d'une plante au stigmate d'une autre plante conspécifique. Ce mode de pollinisation est obligatoire chez les plantes dioïques, mais se produit fréquemment chez les plantes monoïques ou à fleurs hermaphrodites car ce type de pollinisation augmente la variabilité génétique de la descendance (Nabors, 2008). Dans ce cas, le transfert de pollen nécessite l'intervention d'un vecteur. Différents modes de pollinisation sont définis en fonction du vecteur :

- l'anémophilie ou anémogamie lorsque le pollen est transporté par le vent. Ce mode de pollinisation est majoritaire chez les Gymnospermes ;
- la zoïdophilie : dans ce cas, la pollinisation est assurée par des animaux (insectes, oiseaux, chauve-souris, mollusques gastéropodes) ;
- l'hydrophilie : les espèces utilisant ce mode de pollinisation sont peu nombreuses. Il s'agit de plantes aquatiques totalement immergées dont la floraison et la pollinisation ont lieu dans l'eau (Demalsy-Feller and Demalsy-Feller, 1990).

La mise en contact du pollen et du stigmate, que ce soit de manière directe ou indirecte (*via* des vecteurs biotiques ou abiotiques) ne permet pas encore la rencontre entre les deux gamètes. Plusieurs étapes sont encore nécessaires pour qu'il y ait fécondation.

5. Fécondation et nouaison

Différentes étapes séparent l'arrivée d'un grain de pollen sur un stigmate et la formation de graines (Figure 4). Dans un premier temps, le pollen se réhydrate et émet un tube pollinique. Ce dernier pénètre dans les couches cellulaires stigmatiques, se développe dans le style et atteint l'ovaire. Il pénètre ensuite dans l'ovule puis dans le sac embryonnaire avant de libérer les deux gamètes qu'il contient et qu'il y ait fécondation et développement de l'embryon (Cheung, 1995).

L'ensemble de ces étapes ont lieu uniquement dans le cas de pollinisations compatibles. Dans le cas de pollinisations incompatibles, différents mécanismes empêchent le développement du pollen afin d'éviter l'autofécondation ou le développement de pollen d'espèce différente par exemple.

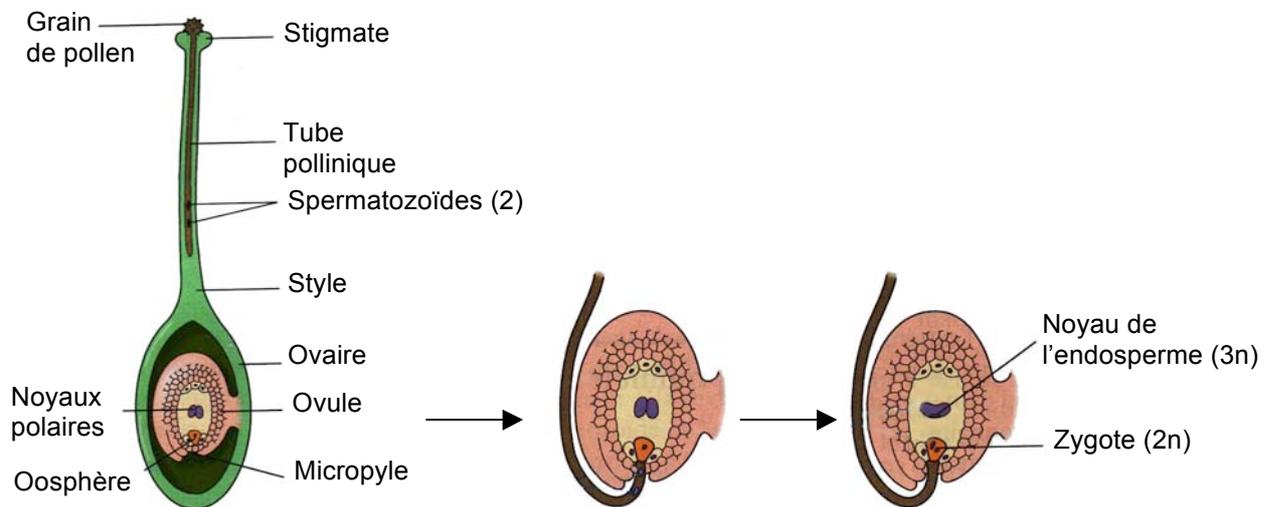


Figure 4 : Croissance du tube pollinique et double fécondation. Modifié d'après Campbell and Reece (2004).

Lorsqu'un grain de pollen arrive sur un stigmate, différents mécanismes d'adhésion se succèdent pour assurer un contact stable entre les deux structures reproductrices (Edlund *et al.*, 2004). Le pollen, plus ou moins fortement déshydraté et métaboliquement inactif, subit une phase de réhydratation nécessaire à sa réactivation métabolique (Swanson *et al.*, 2004). Suite à cette réhydratation, le grain de pollen réorganise son cytoplasme et son cytosquelette pour émettre un tube pollinique. Le noyau végétatif se réoriente de sorte qu'il entre dans le tube en extension avant la cellule génératrice. L'émergence du tube pollinique peut se faire par une ouverture ou par rupture de l'exine et nécessite la dissolution de l'intine (Edlund *et al.*, 2004). Le tube pollinique émis par le grain de pollen pénètre dans le stigmate et traverse les tissus du pistil pour rejoindre l'ovule (Figure 4). Durant cette progression, la cellule génératrice, dans le cas d'un pollen binucléé, subit une mitose conduisant à la formation des deux cellules spermatiques, les gamètes mâles (Weterings and Russell, 2004). Le tube pollinique pénètre dans l'ovule par le micropyle, entre dans le sac embryonnaire en se développant dans une des deux synergides. La croissance du tube s'arrête et une ouverture se forme au niveau de la pointe du tube pollinique. Le contenu du tube incluant les deux cellules spermatiques est libéré rapidement dans le cytoplasme de la synergide qui dégénère (Yadegari

and Drews, 2004). Les cellules spermatiques migrent vers la cellule œuf et la cellule centrale. L'une des cellules spermatiques féconde la cellule œuf, ce qui donne un zygote diploïde (2n). L'autre fusionne avec les deux noyaux polaires de la cellule centrale, formant un noyau triploïde (3n) (Russell, 1992). La double fécondation induit le développement des structures fécondées et la transformation des structures accessoires. Ces transformations conduisent au développement de la graine et du fruit. La graine est constituée des téguments, de l'albumen triploïde et d'un embryon qui se développe à partir du zygote (Boesewinkel and Bouman, 1995). Le fruit, quant à lui, provient de la transformation des tissus de l'ovaire (Campbell and Reece, 2004).

6.Reproduction chez nos modèles d'étude

La famille des Cucurbitacées appartient au groupe des Dicotylédones. Elle comprend environ 800 espèces réparties en 120 genres. La classification phylogénétique place cette famille dans l'ordre des Cucurbitales. Les Cucurbitacées sont principalement des plantes tropicales, présentes dans tous les continents et spécialement en Afrique et en Amérique latine, même s'il en existe des représentants spontanés en Europe (*Bryonia dioica* par exemple). Quelques espèces sont cultivées dans les pays tempérés, mais ne s'y sont pas naturalisées.

Les Cucurbitacées sont généralement des plantes herbacées annuelles ou pérennes, plus ou moins rampantes ou grimpantes grâce à des vrilles spiralées. Les feuilles sont alternes et stipulées. Leur forme peut varier d'un individu à un autre au sein d'une même espèce. Elles sont simples, plus ou moins lobées ou subcordées pour le melon, ou grandes, pentagonales et tri-lobées pour le concombre. Les fleurs sont généralement unisexuées, souvent sur le même individu (espèces monoïques), parfois sur des individus séparés (espèces dioïques). Les pétales, libres ou soudés à la base, sont le plus souvent de couleur jaune à blanchâtre. La fleur est régulière et pentamère. Chez les fleurs mâles, le pistil est non fonctionnel et les étamines sont soudées les unes aux autres. Chez les fleurs femelles, le gynécée est composé d'un ovaire infère tricarpellé qui donnera un fruit. Celui-ci est en général une baie, qui peut être protégée par une écorce dure (Emberger, 1960).

6.1. *Cucumis melo* var. *cantalupensis*

Cucumis melo est une plante annuelle herbacée constituée de tiges rampantes portant des vrilles (Rosa, 1924). C'est une espèce très polymorphe qui présente une grande variabilité phénotypique au niveau des fruits : taille, forme, teneur en sucre, acidité, amertume et arôme, couleur et fermeté de l'épiderme et de la chair, ornementation de l'épiderme, couleur et grosseur des graines (Pitrat and Risser, 1992). Sept variétés principales sont cultivées pour leurs fruits (Tableau 1) dont la variété *cantalupensis* ou melon Cantaloup majoritaire en France.

Variété	Forme/ taille du fruit	Ecorce	Chair	Répartition géographique
<i>cantalupensis</i>	sphérique	lisse/légèrement écrite	orangée/sucrée parfumée	France
<i>inodorus</i>	sphérique gros calibre	pas/peu écrite	verte/sucrée non parfumée	Etats-Unis Amérique Latine
<i>reticulatus</i>	très gros calibre	très brodée	orangée/sucrée peu parfumée	Etats-Unis
<i>flexuosus</i>	allongé et tordu		non sucrée	
<i>conomon</i>	allongé	lisse	non sucrée	
<i>chito</i> et <i>dudaim</i>	globuleux petite taille		non sucrée	

Tableau 1 : Les différentes variétés de *Cucumis melo* classées et regroupées en types variétaux. Modifié d'après Odet (1991).

a. Biologie florale

Morphologie florale

Le melon peut être soit monoïque, soit andromonoïque, dans ce cas il porte des fleurs mâles et des fleurs hermaphrodites sur le même individu, soit très rarement gynomonoïque avec la présence de fleurs femelles et de fleurs hermaphrodites sur le même individu.

La plupart des variétés européennes sont monoïques alors que les variétés américaines sont généralement andromonoïques (Free, 1993).

Les fleurs mâles (Figure 5A et B) sont beaucoup plus nombreuses que les fleurs femelles et de plus petite taille. A la base de la corolle des fleurs mâles se trouve un style non fonctionnel entouré de nectaires (Delaplane and Mayer, 2000) et d'étamines dont les anthères contiennent

le pollen (Free, 1993). L'androcée est composé de cinq étamines dont quatre sont soudées deux à deux (Delaplane and Mayer, 2000). Avant anthèse, les anthères contiennent 8000 à 13000 grains de pollen (Mann, 1953 ; Stangellini *et al.*, 2002). Ceux-ci sont de couleur jaune, de forme sub-sphérique avec une exine épaisse. Leur taille varie entre 45 μm et 55 μm en fonction de la variété (Nandpuri and Brar, 1966).

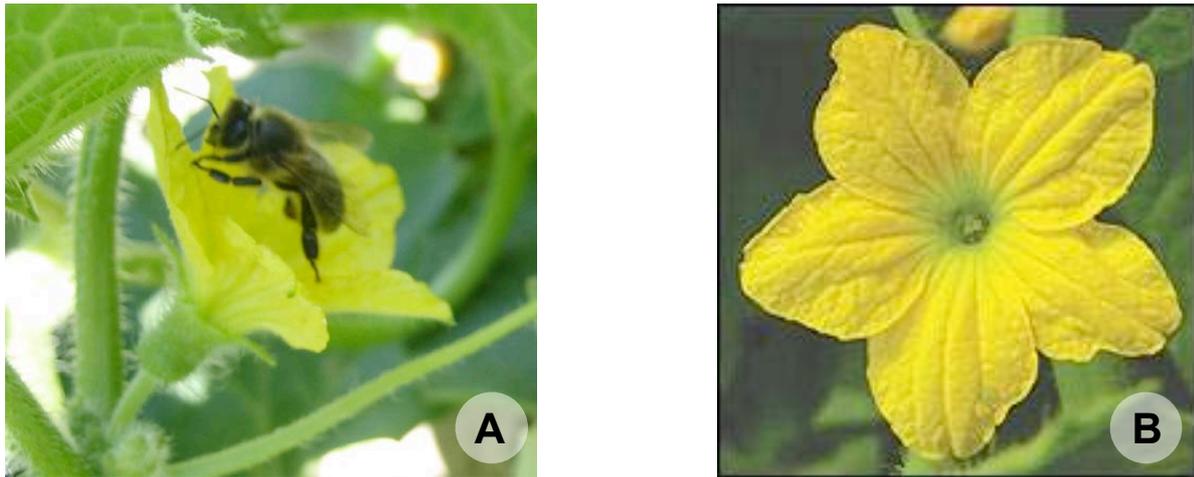


Figure 5 : Fleur mâle de *C. melo* de profil (A) et de face (B).

Chez les fleurs femelles (Figure 6A et B), le gynécée est composé d'un stigmate trilobé vert entouré de nectaires (Delaplane and Mayer, 2000), d'un style court et d'un ovaire infère divisé en trois loges. Chacune de ces loges contient plusieurs rangées longitudinales d'ovules (Free, 1993).

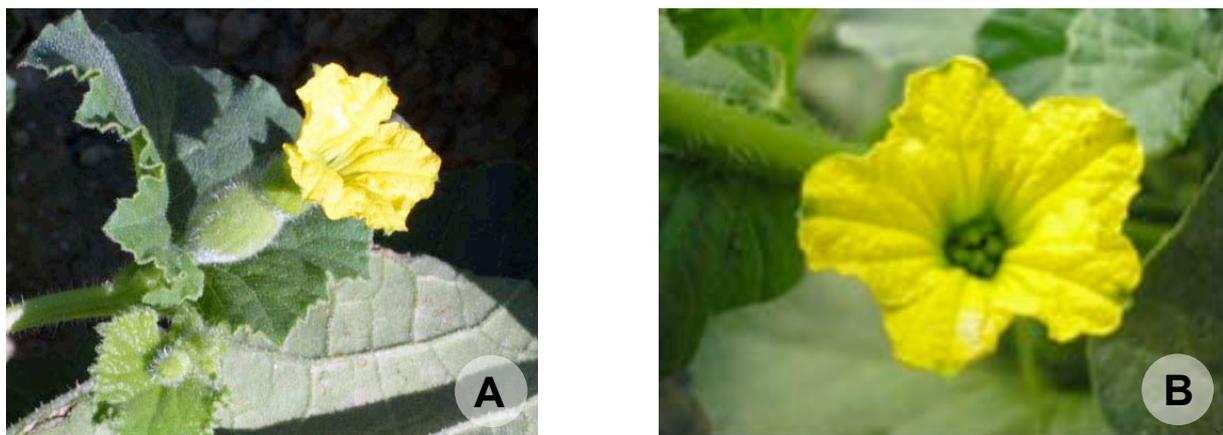


Figure 6 : Fleur femelle de *C. melo* de profil (A) et de face (B).

Anthèse

Ouverture des fleurs

Les fleurs s'ouvrent peu après le lever du soleil et se ferment au cours de l'après-midi du même jour (McGregor and Todd, 1952 ; Delaplane and Mayer, 2000). Le lendemain matin, elles sont fanées (Rosa, 1924). L'heure d'ouverture des fleurs dépend fortement de la température, et par conséquent de la position géographique de la zone de culture. En Californie et en Arizona, zones de latitudes proches de notre zone d'étude, les fleurs s'ouvrent entre 7h00 et 8h00 (Rosa, 1924 ; McGregor and Todd, 1952) alors qu'en Inde, l'anthèse a lieu entre 5h30 et 6h00 (Nandpuri and Brar, 1966). De plus, quand les nuits sont plus chaudes, les fleurs s'ouvrent plus tôt car la température d'anthèse est atteinte plus rapidement (Rosa, 1924).

L'heure de déhiscence de l'anthère de melon est controversée selon les auteurs et semble dépendre de la variété étudiée. Certains auteurs ont observé qu'elle avait lieu 30 minutes avant l'ouverture de la fleur (Nandpuri and Brar, 1966), alors que pour d'autres, elle a lieu de quelques minutes (McGregor and Todd, 1952) jusqu'à 2h30 après (Rosa, 1924).

Différents facteurs peuvent agir sur la déhiscence. La température influence directement l'ouverture des sacs polliniques des Cucurbitacées (Seaton and Kremer, 1939 ; Mann, 1950). L'humidité, la pluie, le vent et l'intensité lumineuse ont une influence indirecte sur la déhiscence car ils affectent la température de la fleur (Mann, 1950). Les fleurs mâles s'ouvrent et libèrent du pollen aussi bien à faible humidité que par temps pluvieux (Whitaker and Pryor, 1946).

La température optimale d'anthèse et de déhiscence du melon se situe entre 20 et 21°C (Seaton and Kremer, 1939). Les températures inférieures à 18°C ou trop fortes ont un effet négatif sur l'anthèse (Nandpuri and Brar, 1966).

b.Fécondation et nouaison

Le pollen germe dans les 30 minutes après son dépôt sur le stigmate. Les tubes polliniques mettent environ 24h pour traverser les tissus du stigmate et du style et entrer dans la cavité ovarienne. La fécondation prend place 48h après (Beharav and Cohen, 1995). La pollinisation et la maturité des fruits sont séparées de 30 à 45 jours (McGregor *et al.*, 1965 ; Loys and Wells, 1995 ; Mary, 1994). Pour que l'ovaire se développe en fruit, un nombre minimum de 30 à 40 grains de pollen doivent être déposés sur le stigmate (Tsyganov, 1953). En revanche, 400 grains de pollen sont nécessaire pour former un fruit de melon convenable (Bohn and

Davis, 1964). En effet, les fruits contenant moins de 400 graines sont mal formés ou en dessous du calibre commercialisable (McGregor and Todd, 1953).

6.2.Ecballium elaterium

E. elaterium est une plante herbacée basse à tiges couchées et pourvue de soies (Rust *et al.*, 2003 ; Blamey and Grey-Wilson, 2000). Elle se distingue des autres Cucurbitacées par l'absence de vrilles (Fahn and Shimony, 2001). Elle est pérenne grâce à son caractère hémicryptophyte (Bock, 2010). En effet, sa partie souterraine très développée lui permet de survivre pendant la mauvaise saison alors que les parties aériennes sont desséchées.

a.Biologie florale

Morphologie florale

E. elaterium est une espèce monoïque dans nos régions, mais il existe quelques individus dioïques dans le nord de l'Afrique et dans le sud de l'Espagne et du Portugal (Costich and Meagher, 1992). Les deux types de fleurs sont de diamètre égal (16-20 mm), ont la même couleur jaune-vert et le même motif de réflexion des ultra-violets (Dukas, 1987 ; Blamey and Grey-Wilson, 2000). Les sépales sont lancéolés, la corolle jaunâtre veinée de vert a une forme de cloche (Fournier, 2000). Les cinq pétales sont soudés à leur base et recouverts de trichomes (Fahn and Shimony, 2001).

Les fleurs mâles (Figure 7A et B) sont regroupées en grappe (Fahn and Shimony, 2001). L'androcée est constitué de cinq étamines charnues avec de courts filets et de larges anthères de couleur orange et sont réparties en deux paires soudées entre elles et une cinquième libre (Dukas, 1987).

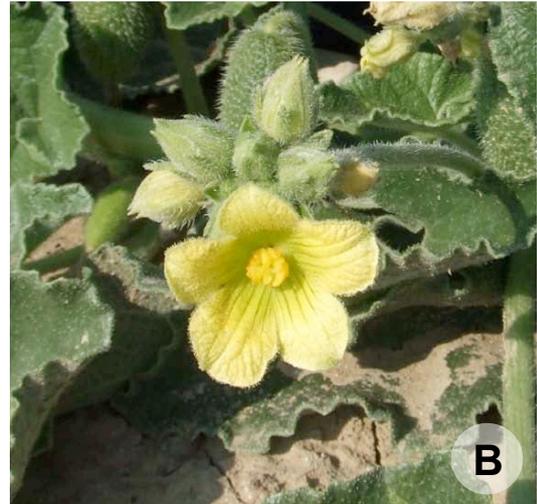


Figure 7 : Fleur mâle d'*E. elaterium* de profil (A) et de face (B).

Les fleurs femelles (Figure 8A et B) sont solitaires, souvent sur le même axe foliaire que les grappes de fleurs mâles (Fahn and Shimony, 2001). Le pistil est composé de trois stigmates bilobés charnus verdâtres portés par un style épais (Dukas, 1987) et d'un ovaire infère. Le pistil est entouré de trois à cinq staminodes qui sont des vestiges d'étamines (Fahn and Shimony, 2001).



Figure 8 : Fleur femelle d'*E. elaterium* de profil (A) et de face (B).

La période de floraison s'étale d'avril à décembre avec un pic entre mai et août.

Anthèse

Les fleurs s'ouvrent très tôt le matin entre 6h00 et 7h00. Les fleurs mâles sont ouvertes un seul jour alors que les fleurs femelles le restent habituellement 2 jours (Dukas, 1987).

b.Fécondation et nouaison

Après fécondation, l'ovaire se développe en fruit contenant environ 30 graines (Dukas, 1987). Le petit fruit charnu, vert et oblong est hérissé de soies et recourbé à l'extrémité d'un long pédoncule dressé (Blamey and Grey-Wilson, 2000).

La dissémination des graines se fait de manière autochore. Les cellules de la paroi du fruit ont une forte pression osmotique. Ces cellules gonflent rapidement lorsque le fruit est mature. Ce processus entraîne le détachement du fruit à partir du pédoncule et l'éjection des graines à plusieurs mètres de la plante par l'ouverture créée (Rust *et al.*, 2003).

La réussite de la reproduction des Cucurbitacées ne dépend pas uniquement des facteurs internes à la plante, comme la mise en place de structures reproductrices fonctionnelles. Elle est très dépendante de facteurs externes à la plante, pour la mise en contact des gamètes mâles et femelles. Elle nécessite l'intervention des insectes pour assurer la pollinisation.

II. Pollinisation entomophile

La pollinisation entomophile est le mode de pollinisation utilisant les insectes comme vecteur biotique pour transporter le pollen. La majorité des Angiospermes utilisent ce vecteur. Les insectes visitent les fleurs principalement pour se nourrir, mais aussi pour s'abriter ou chercher des partenaires sexuels. Ce faisant, ils chargent et déchargent du pollen qu'ils déposent sur le stigmate d'autres fleurs conspécifiques.

1. Interaction mutualiste

La pollinisation entomophile est une relation où la plante réalise sa reproduction sexuée alors que l'insecte trouve un simple repas. Elle est mutualiste puisque réciproquement positive pour les deux espèces. Les plantes procurent de la nourriture et un abri, en contrepartie, les insectes offrent le transport de pollen. Cette relation mutualiste représente un équilibre fragile entre les intérêts et coûts associés au service de l'autre espèce (Rodet, 2010). La situation optimale pour la plante est d'obtenir un service de pollinisation par un vecteur de pollen, sans lui offrir de récompense. L'animal visitant les fleurs doit, lui, exploiter les ressources disponibles aussi efficacement que possible (Herrera and Pellmyr, 2002).

L'avantage évolutif de la pollinisation entomophile pour les plantes est que le transport du pollen est le résultat d'un comportement et non plus du hasard. L'insecte peut visiter des fleurs conspécifiques parce qu'il peut les reconnaître. L'utilisation d'insectes pour la dispersion de pollen présente différents avantages écologiques pour les plantes qui ne peuvent pas se déplacer : (i) les insectes qui recherchent activement des fleurs augmentent la probabilité qu'un grain de pollen collecté sur une fleur rejoigne le stigmate d'une fleur conspécifique, (ii) la pollinisation croisée faite par les insectes peut prendre place dans des habitats avec très peu de vent tels que la canopée fermée dans les forêts tropicales et (iii) la quantité de pollen à produire est plus faible que dans le cas d'une pollinisation anémophile pour la même efficacité pollinisatrice (Herrera and Pellmyr, 2002).

En contrepartie, de nouveaux coûts pour la plante s'ajoutent avec la pollinisation entomophile. La plante doit produire des signaux visuels et olfactifs qui attirent les visiteurs, et des récompenses telles que du nectar, du pollen supplémentaire, ou des résines. Un autre coût dû à la pollinisation entomophile est celui imposé par les insectes non pollinisateurs qui

exploitent les signaux et les récompenses mis en place par les plantes (Herrera and Pellmyr, 2002).

Les bénéfices pour les insectes pollinisateurs consistent à avoir des récompenses de haute qualité nutritionnelle accessibles aisément dans des zones facilement identifiées.

Dans la plupart des cas, il y a peu de coûts pour les insectes visitant les fleurs. Le transport du pollen risque peu de gêner l'insecte, sauf dans certains cas comme lors de visites de plantes produisant de très grandes quantités de pollen comme le tournesol, où l'insecte se trouve entièrement recouvert de pollen ou dans le cas de la pollinisation des plantes nototribiques qui utilisent un système de levier pour transférer le pollen sur l'insecte. Dans ce cas, le dépôt de pollen sur le corps du pollinisateur peut lui couvrir les yeux (Herrera and Pellmyr, 2002).

Cette relation a nécessité une co-évolution plante-insecte et donc des adaptations de chacun des acteurs de cette interaction pour qu'elle soit efficace.

2.Adaptation des plantes pour la pollinisation entomophile

2.1.Caractéristiques des plantes à pollinisation biotique

En fonction du mode de pollinisation sélectionné, les plantes ont développé des caractères spécifiques, notamment au niveau de leurs organes reproducteurs pour optimiser leur pollinisation. Ainsi, par rapport à des plantes à pollinisation anémophile, les plantes à pollinisation zoïdophile et plus particulièrement entomophile ont développé des caractéristiques pour être vues de leur vecteurs et pour être attirantes. Elles possèdent ainsi des pièces florales très voyantes, sécrètent des parfums pour être repérées et produisent du nectar pour fournir une récompense aux pollinisateurs. Au niveau de leurs structures reproductrices, elles ont réduit le ratio pollen-ovule car la dispersion du pollen n'est plus aléatoire mais orientée. Ce pollen est souvent de plus grande taille, et aussi plus lourd (car son transport ne dépend plus du vent). Il est ornementé et recouvert de pollenkitt pour pouvoir adhérer au corps des vecteurs (Culley *et al.*, 2002).

2.2.Récompenses

La plupart des insectes pollinisateurs visitent les fleurs pour trouver de la nourriture. Les récompenses les plus abondantes sont le nectar et le pollen, mais il existe d'autres types de récompenses comme des résines ou des fragrances qui une fois qu'elles auront été métabolisées, pourront être réutilisées en phéromones (Kevan and Baker, 1983). Bien que le pollen soit ancestralement la source de nourriture recherchée par les visiteurs primitifs, le nectar est la ressource la plus communément recherchée.

a.Nectar

Le nectar est constitué principalement de sucres en solution aqueuse, bien qu'il contienne également des lipides, des acides aminés, des protéines, des minéraux, des acides organiques, des vitamines, des pigments et des substances aromatiques (Petanidou, 2005 ; Petanidou *et al.*, 2006 ; Pacini *et al.*, 2003). Sa composition varie fortement d'une espèce à l'autre, mais est liée au type de pollinisateur (Petanidou, 2005). Le nectar représente la principale source d'hydrocarbures des insectes visiteurs. Le saccharose, le glucose et le fructose sont les principaux sucres qui le composent, mais il contient également entre autres du maltose, du tréhalose et du melezitose.

Le nectar est produit dans des nectaires. Le terme nectaire n'indique pas une structure anatomique bien définie, car il existe de nombreux types de nectaires avec des positions et des origines anatomiques différentes. Ce terme a plus une signification fonctionnelle car les nectaires sont le lieu de production et de présentation du nectar (Pacini *et al.*, 2003).

b.Pollen

Le pollen est la seconde source de nourriture recherchée dans les fleurs. Il représente un aliment vital pour de nombreux insectes. C'est un aliment hautement nutritif contenant de nombreux acides aminés. Bien que le contenu en protéines et acides aminés libres varie d'une espèce à l'autre, il reste majoritaire. Des sucres ont été mis en évidence dans le pollen mais en quantité bien moins importante que dans le nectar. Le pollen mature peut contenir ou ne pas contenir d'amidon. Il peut être riche en lipides, surtout chez les espèces n'offrant pas d'autres récompenses florales (Kevan and Baker, 1983). Le pollen reste avant tout la structure

reproductrice à transporter. L'utilisation du pollen comme récompense doit donc rester minoritaire pour assurer un succès reproductif à la plante.

Toutes ces adaptations mises en place par les plantes ont pour but d'attirer des insectes qui assureront leur pollinisation.

3. Insectes pollinisateurs

Pour qu'un insecte soit pollinisateur, il est nécessaire (i) qu'il soit intéressé par les ressources florales et (ii) qu'il transporte du pollen. Principalement quatre ordres d'insectes remplissent les conditions citées ci-dessus, bien que quelques insectes appartenant à d'autres ordres puissent également avoir une activité pollinisatrice. Il s'agit des Coléoptères, des Diptères, des Lépidoptères et des Hyménoptères.

Les Coléoptères sont considérés comme les pollinisateurs les plus primitifs. Ils assurent une pollinisation qualifiée de « mess-and-soil » par Faegri et van der Pijl (1971). Ils déambulent autour des fleurs et consomment toutes les parties florales. Du pollen se dépose sur leur corps lorsqu'ils se déplacent dans la zone contenant les anthères et est déposé sur le stigmate d'autres fleurs. Les fleurs visitées par les coléoptères sont des fleurs ouvertes avec des anthères bien exposées et sentant les fruits fermentés. Les Coléoptères participant à la pollinisation ont des adaptations structurales comme la projection en avant de leurs parties buccales ou l'élongation de leur prothorax, leur permettant d'atteindre les nectaires dans les fleurs profondes et d'extraire le nectar plus rapidement (Kevan and Baker, 1983).

Les Diptères sont également considérés comme des pollinisateurs primitifs à cause de leurs pièces buccales de type lécheur-suceur. Ils visitent les fleurs principalement pour le nectar même si certains se nourrissent de pollen. Les fleurs visitées doivent être facilement accessibles et ne pas être profondes (Kevan and Baker, 1983).

La plupart des Lépidoptères se nourrissent de nectar, mais également d'autres liquides. Généralement, ils ne peuvent boire que les nectars les moins visqueux, bien que certains lépidoptères sécrètent de la salive pour diluer les nectars plus sirupeux. Les papillons diurnes visitent des fleurs de couleur vive avec des corolles tubulaires. Les papillons nocturnes

visitent plutôt des fleurs pâles se distinguant facilement du feuillage foncé et fortement parfumées pour pouvoir les localiser (Kevan and Baker, 1983).

Les Hyménoptères constituent l'ordre qui renferme le plus d'insectes pollinisateurs. Ils se nourrissent de nectar, de pollen et d'autres parties florales. Au sein de cet ordre, les Apoïdés sont les pollinisateurs les plus importants et les plus adaptés. Leurs pièces buccales sont structurées pour la récolte de nectar et leur corps pour la collecte de pollen. Leur comportement est adapté à la connaissance et à la manipulation des fleurs (Kevan and Baker, 1983).

4.Pollinisation chez nos modèles d'étude

Comme présenté précédemment, chez les Cucurbitacées, plusieurs conformations de fleurs sexuées sont possibles. *C. melo* est généralement monoïque ou andromonoïque, alors que *E. elaterium* est monoïque et très rarement dioïque. Chez les espèces monoïques, le transport de pollen d'une fleur mâle vers une fleur femelle est indispensable. Chez les espèces andromonoïques, les fleurs hermaphrodites sont auto-fertiles (Rosa, 1924). Cependant, la viscosité du pollen fait qu'il adhère à l'anthere après déhiscence, ce qui rend l'auto-pollinisation naturelle improbable (Free, 1993) et favorise la pollinisation croisée (Whitaker and Pryor, 1946). La pollinisation des Cucurbitacées est strictement entomophile (Free, 1993). En effet, elle n'est pas possible par le vent car le pollen est trop lourd et visqueux pour être transporté par ce vecteur (Rosa, 1924 ; Delaplane and Mayer, 2000).

4.1.Cucumis melo var. cantalupensis

a.Production de nectar

Peu de temps après l'ouverture des fleurs et la déhiscence des anthers, il y a sécrétion du nectar (McGregor and Todd, 1952). Chez les fleurs mâles, la sécrétion de nectar cesse vers 11h avec environ 3 mg produits. Chez les fleurs femelles, elle dure jusqu'à tard dans l'après-midi quand le nectar n'est pas collecté par les abeilles. On peut retrouver jusqu'à 18 mg de nectar à 16h (Mann, 1953 ; McGregor and Todd, 1952). Le nectar peut contenir jusqu'à 56% de sucres totaux dissous (STD) pour les fleurs mâles et 36% de STD pour les fleurs femelles (McGregor and Todd, 1952).

b. Les insectes pollinisateurs

Les insectes pollinisateurs sont essentiels pour la production de melon cantaloup (McGregor *et al.*, 1965). Le principal insecte pollinisateur est l'abeille domestique, *Apis mellifera* (Rosa, 1924 ; McGregor and Todd, 1953 ; Sarehane, 1997) mais d'autres abeilles interviennent comme les Mégachiles ou les Melissodes (McGregor *et al.*, 1965). Par ailleurs, la coccinelle et d'autres petits coléoptères ainsi que des thrips sont souvent présents dans les fleurs de melon, mais n'ont pas d'activité pollinisatrice (McGregor and Todd, 1952).

c. Activité des abeilles

Les abeilles visitent les fleurs de melon pour le pollen et le nectar (Delaplane and Mayer, 2000). Elles ne font pas de discrimination entre les deux types de fleurs, c'est-à-dire qu'elles visitent autant les fleurs mâles que les fleurs femelles (McGregor and Todd, 1952). Le temps moyen de visite d'une fleur est de 8 à 10 secondes (Mann, 1953 ; McGregor *et al.*, 1965). L'activité des abeilles est liée à la période d'anthèse (Mann, 1953). Les visites ont lieu principalement dans la matinée (McGregor *et al.*, 1965). L'activité des abeilles décroît dans l'après-midi et s'arrête vers 18h (Mann, 1953). Quand les abeilles butinent les fleurs mâles, une masse de pollen s'accumule sur leur corps. Quand une fleur femelle est ensuite visitée, le pollen est déposé par frottement sur la surface stigmatique exposée (McGregor and Todd, 1952). Lorsque la fleur mâle se ferme, 44 à 62% du pollen produit ont été prélevés, dont la moitié pendant les deux heures suivant l'anthèse (Stangellini *et al.*, 2002).

4.2. *Ecballium elaterium*

a. Production de nectar

La production de nectar par les fleurs mâles débute après le lever du soleil, augmente rapidement entre 8h00 et 10h00 puis se stabilise (Rust *et al.*, 2003). Le volume de nectar produit par fleur varie en fonction des populations (Rust *et al.*, 2003) entre 0,25 µl/fleur (Fahn and Shimony, 2001) et 3 µl/fleur (Dukas, 1987). Sa concentration en sucres varie entre 23% de STD le matin et 56% de STD à midi (Dukas, 1987). Ce nectar est riche en saccharose (42% de saccharose versus 29% de glucose et 29% de fructose) (Petanidou, 2005).

Les fleurs femelles ne sécrètent pas des quantités mesurables de nectar. Ceci peut s'expliquer par les différences de taille et de structure entre les nectaires de fleurs femelles et mâles. Les fleurs mâles ont des nectaires plus larges et développés que ceux des fleurs femelles (Fahn and Shimony, 2001).

b.Pollinisation entomophile par duperie

La pollinisation chez *E. elaterium* est particulièrement intéressante car elle se fait par duperie. En effet, les fleurs femelles ne produisent pas de quantité mesurable de nectar et n'offrent pas de pollen. Leur stratégie pour se faire visiter par des insectes est basée sur l'imitation, c'est-à-dire sur leur ressemblance morphologique avec les fleurs mâles qui offrent des récompenses (Dukas, 1987).

c.Insectes pollinisateurs et leur activité

Les principaux insectes qui pollinisent *E. elaterium* sont les abeilles domestiques (*A. mellifera*) et les abeilles solitaires *Lasioglossom malachurum* et *Ceratina cyanea* (Rust et al., 2003).

Les abeilles domestiques discriminent les deux types de fleurs. Elles visitent jusqu'à 30% de moins les fleurs femelles que les fleurs mâles et ces visitent durent moins longtemps. Les abeilles sauvages visitent presque autant les fleurs femelles que les fleurs mâles en début de butinage. Au cours de la journée, elles apprennent à discriminer les deux types de fleurs, et les fleurs femelles sont de moins en moins visitées (Dukas, 1987).

5.Facteurs influençant la pollinisation entomophile

Certains facteurs physiques environnementaux ont une influence sur l'activité des pollinisateurs et donc sur la pollinisation, comme la lumière, la température, l'humidité ou le vent.

La lumière intervient dans la perception de la différence jour nuit. Certains insectes sont diurnes alors que d'autres sont nocturnes ou crépusculaires. L'activité de certains insectes pollinisateurs est fonction de la lumière perçue. La lumière peut être modifiée par la présence de nuages ou d'orages qui favoriseront l'activité d'insectes crépusculaires.

L'effet de la température est assez lié à celui de la lumière, et marque plus un effet saisonnier. Ainsi la température la plus basse pour que l'abeille domestique vole activement est 10°C. L'humidité a une incidence indirecte sur la pollinisation, puisque ce facteur n'intervient pas sur l'activité des pollinisateurs mais sur la concentration en sucre du nectar. Enfin, le vent perturbe le vol alors que la pluie empêche toute activité des abeilles (Kevan and Baker, 1983).

III. Abeille domestique

Comme tous les insectes de l'ordre des Hyménoptères, les abeilles ont une métamorphose complète de larve en nymphe et le métathorax soudé au premier segment abdominal. Leurs caractéristiques propres sont deux paires d'ailes membraneuses couplées par des crochets, des pièces buccales de type broyeur-lécheur, un dimorphisme sexuel bien marqué, un cerveau bien développé et des phénomènes de parthénogenèse fréquents, c'est-à-dire une reproduction sans fécondation (Le Conte, 2002). Les abeilles, au sens large, ont en commun un régime alimentaire exclusivement à base de nectar et de pollen, alors que les guêpes et les fourmis qui font partie du même ordre ont une alimentation d'origine végétale ou animale (Pham-Delègue, 1999).

La super-famille des Apoidea, représentant les abeilles en général, c'est-à-dire les abeilles solitaires et les abeilles sociales, comprend, de par le monde, 25 000 espèces. En Europe, on en retrouve seulement 2 500 dont 900 sont présentes en France. Cette super-famille est subdivisée en six familles : (i) les **Colletidae** qui ont une langue courte et bilobée, et pas de structure pour porter le pollen, (ii) les **Andrenidae** qui nidifient dans le sol, et dont la majorité sont strictement solitaires, (iii) les **Halictidae** qui sont parmi les abeilles les plus communes sur les fleurs et dont la plupart des espèces creusent leur nid dans le sol, (iv) les **Melittidae** dont quelques espèces nidifient dans le bois, mais la plupart dans le sol, (v) les **Megachilidae** dont beaucoup d'espèces sont d'importants pollinisateurs pour les cultures et (vi) les **Apidae** qui comprennent toutes les abeilles hautement sociales ou eusociales, dont l'abeille domestique (O'Toole and Raw, 1991).

Il existe différents niveaux de socialité depuis le stade solitaire où chaque femelle produit la prochaine génération mais ne vit pas avec, jusqu'au stade hautement social où la mère fondatrice vit avec plusieurs dizaines de milliers de descendants, en passant par plusieurs stades intermédiaires où plusieurs individus se tolèrent, jusqu'à s'entraider.

Les abeilles eusociales vivent en colonies pérennes constituées d'une reine, de toutes ses filles ouvrières et des mâles qui assurent la reproduction. Les reines et les ouvrières sont morphologiquement très différentes. De plus, la reine est incapable de vivre seule (elle ne butine jamais) et les ouvrières seules sont incapables de former des colonies viables car elles ne peuvent pas se reproduire et par conséquent constituer une nouvelle génération (Michener, 2000).

Les abeilles du genre *Apis* sont toutes mellifères, c'est à dire productrices de miel. Ce genre est constitué de cinq espèces : l'abeille domestique commune *A. mellifera*, les abeilles mellifères géantes, *A. dorsata* et *A. laboriosa*, l'abeille domestique indienne, *A. cerana* et l'abeille mellifère naine, *A. florea* (Winston, 1991).

L'habitat naturel de l'abeille domestique *A. mellifera* s'étend de la pointe sud de l'Afrique jusqu'au sud de la Scandinavie en passant par la savane, la forêt tropicale, le désert et le climat tempéré méditerranéen. La grande variété d'habitats, de conditions climatiques ou de flores a conduit à une différenciation de nombreuses sous-espèces ou races d'*A. mellifera* adaptées à chaque région (Louveaux, 1966). Ces races sont classées en quatre groupes en fonction de leur répartition : les races européennes, les races africaines, les races orientales, et les races américaines. Parmi les différentes races européennes, les plus utilisées dans le sud de la France sont *A. mellifera mellifera* L. et *A. mellifera caucasica* Gorb.

Dans la suite de ce rapport, l'abeille sera toujours synonyme de l'abeille domestique, *A. mellifera*, sauf mention contraire.

La description qui va suivre est une synthèse des ouvrages de Winston (1991) et Seeley (1995).

1. Anatomie de l'abeille

1.1. Morphologie externe

L'abeille domestique est constituée d'une série de plaques dures connectées entre elles par des membranes et recouvertes dans la plupart des régions par une multitude de poils. Ce squelette externe sert de protection contre les prédateurs, contre les pertes d'eau et sert de structure pour l'attache des muscles.

L'exosquelette et les parties internes sont arrangés en trois régions, la tête, le thorax et l'abdomen (Figure 9).

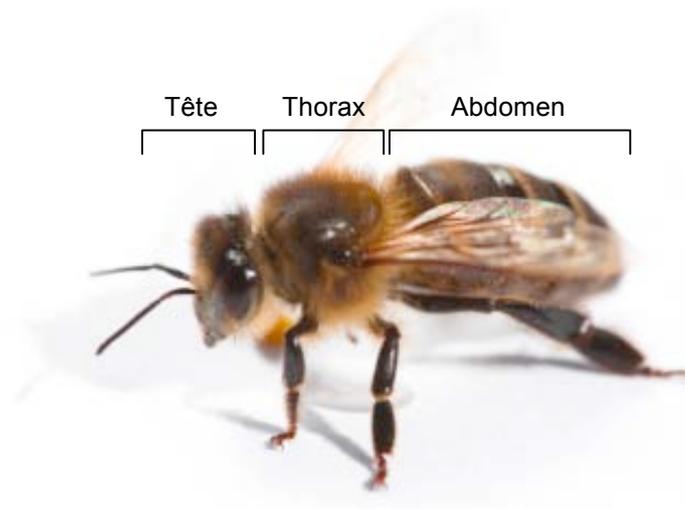


Figure 9 : Vue d'ensemble d'une abeille ouvrière (*A. mellifera*). Modifié d'après WolfWikis (2010).

La tête

La tête porte extérieurement des organes sensoriels permettant d'analyser l'environnement et des pièces buccales permettant d'ingérer les aliments. Elle renferme le cerveau relié au système nerveux et les glandes hypopharyngiennes, labiales et mandibulaires qui participent à la digestion des aliments.

Les organes sensoriels sont constitués (i) d'une paire d'antennes qui permet de capter des odeurs et de percevoir le goût, (ii) de trois ocelles ou yeux simples qui détectent la lumière et régulent l'activité diurne et nocturne et (iii) d'une paire d'yeux composés qui perçoivent la couleur et les mouvements d'air et permettent à l'abeille de s'orienter.

Les pièces buccales de l'abeille domestique sont de type broyeur-lécheur. Elles consistent en une paire de mandibules et un proboscis composé des maxilles, du labre et de la glosse, la langue à proprement parler. Les mandibules permettent d'ingérer le pollen, de couper, de façonner, de manipuler la cire et la propolis, de nourrir le couvain et la reine, de nettoyer ou de se défendre. Le proboscis, quant à lui, permet d'ingérer des liquides tels le nectar, le miel et l'eau et intervient dans les échanges alimentaires et phéromonaux entre individus.

Le thorax

Le thorax est constitué de trois segments, chacun portant une paire de pattes. De plus, les deux derniers segments portent chacun une paire d'ailes membraneuses servant

principalement au vol mais aussi à la ventilation du nid. Le thorax représente donc la principale région locomotrice du corps. Il contient des muscles puissants pour le vol et la marche et pour des fonctions spécialisées comme la collecte du pollen.

Les trois paires de pattes ont la même structure. Elles sont composées de six segments : (i) le coxa qui permet l'articulation avec le corps, (ii) le trochanter, (iii) le fémur, (iv) le tibia, (v) le tarse et (vi) le prétarse. Le tarse est composé de cinq sous-segments, le basitarse allongé et les quatre petits tarsomères. Le prétarse est le segment terminal qui constitue la pointe de la patte. Il comporte deux griffes et un coussinet permettant d'adhérer à un support.

Les pattes des ouvrières assurent les fonctions de nettoyage et de rassemblement du pollen et de la propolis sur les pattes arrière pour le transport au nid. Les pattes avant ont des touffes poilues sur leurs tarses pour nettoyer la poussière, le pollen ou d'autres éléments étrangers présents sur la tête. Ces pattes possèdent également des structures de nettoyage des antennes pour qu'il n'y ait pas de matériel pouvant interférer avec les fonctions sensorielles. Les pattes moyennes, également poilues, servent à débarrasser les poils thoraciques de corps étrangers ou de pollen et à transférer le matériel collecté de l'avant vers les pattes arrière. Les pattes arrière sont hautement modifiées pour le transport de pollen et de propolis. Les tibias élargis possèdent sur la face externe une région concave, la corbicule, portant une soie unique en son centre pour l'ancrage des charges de matériel et entourée de poils (Hodges, 1967). L'extrémité de la face interne du tibia est bordée par un peigne. Le basitarse est également modifié. Il possède contre le tibia une zone aplatie, le pressoir, et il porte sur sa face interne des séries régulières de poils rigides qui forment une brosse.

L'abdomen

L'abdomen qui constitue la partie la plus volumineuse du corps est composé de sept segments visibles et contient la majeure partie des systèmes internes et le dard.

1.2.Systèmes internes

a.Système glandulaire

Les glandes des ouvrières assurent quatre fonctions : (i) la production de cire par des cellules épidermiques modifiées localisées ventralement du 4^{ème} au 7^{ème} segment abdominal, (ii) la communication grâce aux glandes de Nasonov, aux glandes mandibulaires et aux glandes du

dard, (iii) la défense par la glande à poison, grande poche associée au dard qui délivre le venin et (iv) le traitement des aliments.

Deux types de glandes interviennent dans le traitement des aliments, celles qui digèrent partiellement la nourriture comme les glandes labiales ou salivaires, et celles qui sont impliquées dans la production de la nourriture du couvain, comme les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires.

La salive que les abeilles incorporent à la nourriture en remplissant leur jabot se compose probablement d'un mélange des sécrétions des glandes hypopharyngiennes et salivaires (Chauvin, 1968).

Glandes impliquées dans la digestion des aliments

Les glandes salivaires sont présentes chez toutes les castes de l'abeille. Elles sont constituées de deux glandes, la glande postcerebralis située dans la tête et la glande thoracique, et possèdent le même canal excréteur (Chauvin, 1968). Elles sont développées chez les ouvrières et les reines mais réduites chez les mâles. La taille des glandes varie en fonction de l'âge de l'abeille (Costa and Cruz-Landim, 2001). Le pic maximum d'activité de ces glandes a lieu entre 8 et 17 jours, puis il décline rapidement avec le changement d'activité des abeilles en garde ou butineuse (Winston, 1991). La fonction la plus probable de ces glandes est la sécrétion de salive pour ramollir la nourriture stockée dans la ruche avant ingestion, et de la digérer partiellement. Les sécrétions glandulaires semblent également servir à nettoyer les surfaces avec la langue. Elles sont libérées dans le système salivaire et pourraient être mélangées avec la nourriture avant l'ingestion (Costa and Cruz-Landim, 2001). Elles contiennent différentes enzymes dont l' α -glucosidase qui est une invertase. Cette enzyme catalyse la digestion des di-, oligo- et polysaccharides et accomplit la phase finale de la digestion de l'amidon (Bergmeyer, 1984). Elle pourrait agir sur la transformation du nectar en miel (Costa and Cruz-Landim, 2002).

Glandes impliquées dans la production des aliments

La glande hypopharyngienne se situe dans la tête et se compose de deux tubes garnis de glandules qui déversent leurs sécrétions dans un canal collecteur aboutissant à la plaque pharyngienne. Ce canal s'ouvre en fonction des déplacements de cette plaque. Seules les ouvrières possèdent cette glande à l'état complètement développé. Chez la reine, elle est rudimentaire alors qu'elle est souvent absente chez les mâles (Chauvin, 1968). Le stade de

développement, la fonction et la sécrétion de la glande hypopharyngienne dépendent de l'âge, de la nourriture et de la fonction de l'abeille. Son cycle sécrétoire est étroitement lié à la fonction d'alimentation du couvain, qui est assurée par les nourrices âgées de 3 à 18 jours (Costa and Cruz-Landim, 2005). Le développement est maximum 10 jours après éclosion, et après 3 à 4 semaines (stade butineuse), la glande s'atrophie (Chauvin, 1968). La fonction de cette glande est inconnue chez la plupart des Hyménoptères, mais elle produit des enzymes chez la majorité des espèces. Chez les abeilles eusociales, elle est modifiée pour produire en plus des substances nutritives (Cruz-Landim and Costa, 1998). En effet, chez les nourrices d'*A. mellifera*, la glande hypopharyngienne produit la plupart des protéines de la gelée royale qui est la nourriture donnée principalement aux jeunes larves et à la reine (Costa and Cruz-Landim, 2005). La glande hypopharyngienne produit des α -glucosidases et des β -glucosidases (Arnold and Delage-Darchen, 1978). Ces dernières se trouvent en grande quantité seulement chez les nourrices et les butineuses. Elles hydrolysent les sucres tels que le cellobiose, l'hémicellulose, le gentiose et les domaines carbohydratés des glycoprotéines (Costa and Cruz-Landim, 2005) et pourraient avoir un effet sur certains composants du pollen (Costa and Cruz-Landim, 2002).

La composition de la sécrétion des glandes mandibulaires varie en fonction de l'âge des ouvrières mais est composée principalement d'acides aliphatiques (Keeling *et al.*, 2000). Chez les jeunes ouvrières nourrices, ces glandes sont impliquées dans la production de la nourriture du couvain, particulièrement en produisant de l'acide (E)-10-hydroxy-2-décénoïque (10-HDA), le principal composant lipidique de cette nourriture (Butenandt and Rembold, 1957), de l'acide octanoïque et d'autres acides volatiles. La sécrétion de la glande mandibulaire sert également à ramollir et à manipuler la cire et la propolis, et à dissoudre le revêtement lipidique du pollen. Elle est nécessaire pour la construction et pour la récolte et l'emploi de la propolis (Chauvin, 1968).

b. Autres systèmes internes

Les autres systèmes internes sont le système digestif, le système excréteur, le système circulatoire, le système respiratoire et le système nerveux.

Le système digestif est composé de l'hypopharynx externe et du pharynx situés dans la tête et reliés par un long œsophage au jabot ou estomac de l'abeille. Cette poche extensible se trouve dans l'abdomen et contient le miel ingéré dans la ruche et utilisé comme source d'énergie

durant le vol ou le nectar et l'eau collectés par les butineuses. Le jabot débouche sur le ventricule où se font la digestion et l'absorption. Ce dernier est séparé de l'intestin antérieur par le pylore, d'où partent les tubes de Malpighi qui filtrent les déchets azotés présents dans l'hémolymphe et les rejettent dans l'intestin. Les déchets solides s'accumulent dans l'ampoule rectale avant d'être excrétés.

Le système circulatoire ouvert assure le transport de l'hémolymphe depuis l'extrémité de l'abdomen où se situent cinq ventricules dorsaux qui projettent l'hémolymphe dans une aorte thoracique jusqu'à la tête. Le retour de l'hémolymphe vers l'abdomen est assuré par des contractions de muscles abdominaux.

Le système respiratoire est constitué de stigmates, ouvertures dans la cuticule permettant l'entrée d'air, reliés à un réseau de trachées qui se ramifient en trachéoles de plus en plus fines apportant l'oxygène à toutes les parties de l'organisme. Les trachées se dilatent localement en de nombreux sacs à air qui diminuent la densité de l'insecte, favorisant ainsi un grand volume pour un poids réduit au minimum.

Le système nerveux est composé de deux parties : (i) le système nerveux central formé du cerveau et de la chaîne nerveuse ventrale ganglionnaire qui commandent les mouvements et assurent les relations entre l'abeille et son environnement, et (ii) le système stomatogastrique, qui commande le fonctionnement des organes internes.

2. Composés de l'abeille

Les phéromones sont des substances messagères entre les individus. Ce sont des substances chimiques qui peuvent soit stimuler ou inhiber un comportement, soit enrayer un processus physiologique. Elles sont sécrétées par des glandes puis excrétées à l'extérieur de l'individu. A la différence des hormones, les phéromones ne sont pas véhiculées par le sang, mais par les individus dans un groupe social (Pain, 1971). Reçues par un deuxième individu de la même espèce, elles provoquent chez lui une réaction définie qui modifie son comportement ou sa physiologie (Karlson and Butenandt, 1959 ; Karlson and Luscher, 1959).

Wilson (1963) ainsi que Regnier et Law (1968) classent les phéromones en deux groupes, les phéromones de déclenchement et les phéromones d'amorçage. Les phéromones de déclenchement stimulent une réponse comportementale instantanée transmise par le système nerveux, comme les phéromones d'alarme et d'agrégation (Pain, 1971 ; Pankiw, 2004a). Les phéromones d'amorçage, quant à elles, sont capables de modifier profondément la physiologie des individus qui les reçoivent, avec un effet différé. Elles servent à coordonner le

développement physiologique et comportemental de plusieurs individus (Pain, 1971 ; Le Conte and Hefetz, 2008).

Les *phéromones d'alarme* ou d'alerte perturbent le comportement en accélérant la marche ou le vol, en augmentant l'agressivité jusqu'à l'attaque (Pain, 1971). Chez les ouvrières âgées, les glandes mandibulaires produisent du 2-heptanone qui est une des substances d'alarme (Shearer and Boch, 1965). Les phéromones produites par les glandes du dard sont des éliciteurs du comportement de défense. Elles sont libérées lorsque les abeilles sortent leur dard et ventilent ou lorsque leur dard est arraché. Elles contiennent de l'acétate d'isoamyl qui excite les ouvrières et les attire vers la victime potentielle et d'autres composés comme le 2-nonanol qui élicitent également des comportements d'alarme.

La *phéromone de Nasonov* permet l'agrégation des abeilles. Elle assure la cohésion des essaims et permet l'orientation notamment à l'entrée de la ruche ou sur les sites de récolte de l'eau ou sur les fleurs. Il s'agit d'un mélange de sept composés chimiques produits par la glande de Nasonov (Slessor *et al.*, 2005).

La reine induit d'autres types d'agrégations. Elle produit la *phéromone sexuelle* lui permettant d'attirer les mâles durant le vol de reproduction (Gary, 1962). Elle produit également une phéromone constituée de cinq composés synthétisés par la glande mandibulaire et de quatre autres composés. Cette *phéromone royale* signale la présence de la reine et attire les ouvrières pour qu'elles s'occupent d'elle, c'est le comportement de cour (Slessor *et al.*, 2005).

La *phéromone de couvain* peut également déclencher un comportement de soin chez les ouvrières. Elle est constituée d'un bouquet de 10 esters d'acides gras présents sur la cuticule des larves et signale aux ouvrières le moment d'operculer les cellules avant la pupation et les recrute pour cette tâche (Le Conte *et al.*, 1990). Les changements dans les proportions des différents esters de cette phéromone permettent d'indiquer aux ouvrières l'âge des larves (Slessor *et al.*, 2005). La phéromone de couvain est également une phéromone d'amorçage. Elle stimule le développement des glandes hypopharyngiennes des nourrices qui produisent des protéines de l'alimentation des larves (Mohammedi *et al.*, 1996).

La phéromone royale et la phéromone de couvain ont des effets modificateurs communs. Elles agissent ensemble pour inhiber le développement ovarien des ouvrières (Slessor *et al.*, 2005). Une des substances impliquées dans cette inhibition a été récemment identifiée par Maisonnasse *et al.* (2009). Il s'agit d'une molécule hautement volatile, l'E- β -ocimène, qui est produite par les larves. D'autres substances synthétisées par la reine, plus précisément par les glandes mandibulaires et probablement par les glandes tergaes, participent à cette inhibition (Le Conte and Hefetz, 2008). La phéromone royale et la phéromone de couvain ont également

un effet sur la division des tâches des ouvrières. Elles régulent, en effet, l'âge de butinage des abeilles (Le Conte *et al.*, 2001).

Les butineuses produisent également une *phéromone qui retarde l'âge de butinage*, indépendamment de la reine ou du couvain (Leoncini *et al.*, 2004a). Pankiw (2004b) a montré que des substances extraites de la surface du corps de butineuses produisaient cet effet. De plus, Leoncini *et al.* (2004b) ont identifié une substance produite par les ouvrières adultes, l'oléate d'éthyl, qui agit en tant que facteur inhibiteur chimique retardant également l'âge de début de butinage. Cette substance synthétisée *de novo* est présente en très faible quantité sur la cuticule des butineuses, mais en très grande concentration dans le jabot. Cela suggère que l'oléate d'éthyl est transféré entre les abeilles par trophallaxie.

Il existe d'autres substances présentes sur la surface du corps que Wilson (1965) appelle *phéromones de surface* et les définit comme toutes les odeurs absorbées à la surface du corps des insectes, sur le tégument cireux et perçues par chimioréception de contact. Elles sont constituées des substances glandulaires, de substances propres au groupe, des cires constituant le nid, et également de l'odeur des aliments ou des fleurs visitées (Pain, 1971).

Ces lipides présents sur la cuticule agissent comme une carte d'identité qui permet aux abeilles de reconnaître les membres de leur propre colonie (Zupko *et al.*, 1993). Ce système de communication est basé sur les différences de composition chimique des profils cuticulaires (Leonhardt *et al.*, 2009). Les lipides cuticulaires permettent également de préserver les individus de la dessiccation, de l'abrasion de la cuticule et des infections. Les principales classes de substances de lipides cuticulaires sont des hydrocarbures aliphatiques saturés ou insaturés (alcane et alcènes non-polaires, mono-, di- et tri-méthylés) et des composés polaires comme des acides carboxyliques, des esters ou encore des alcools et des aldéhydes à longues chaînes (Leonhardt *et al.*, 2009). Les hydrocarbures aliphatiques constituent la plus grande fraction de la cire cuticulaire. Leur profil est caractéristique des castes et du type d'ouvrières. Les cires cuticulaires des ouvrières contiennent majoritairement des esters alkyl (34-39%), des alcènes (15-18%) et des alcanes (14-17%). Plus particulièrement chez les butineuses, ces cires contiennent plus d'esters alkyl insaturés et d'alcool et moins d'acides que chez les autres ouvrières (Fröhlich *et al.*, 2001).

La surface du corps des abeilles possède également un système protéolytique composé de protéines cuticulaires et de leurs protéases naturelles associées (Grzywnowicz *et al.*, 2009). Elles pourraient avoir pour origine les sécrétions des glandes tarsales que l'abeille répandrait sur son corps en se nettoyant ou les glandes de l'épiderme, dont les canaux s'ouvrent sur la

surface cuticulaire (Zupko *et al.*, 1993). Ces protéines de surface pourraient participer au système immunitaire. Chez certains insectes, elles possèdent une activité antibactérienne (Zupko *et al.*, 1993). Chez les abeilles, elles pourraient également agir en tant que phéromone de contact ou moduler les réponses aux phéromones en ralentissant la libération de substances (Zupko *et al.*, 1993 ; Grzywnowicz *et al.*, 2009).

3. Développement et nutrition de l'abeille

3.1. Développement

Le développement des trois castes d'abeilles passe par quatre stades : (i) l'œuf qui, s'il est fécondé, se développe en ouvrière ou reine, sinon en mâle, (ii) la larve qui subit cinq mues, (iii) la pupa qui subit une maturation interne et (iv) l'adulte (Figure 10). Le temps total moyen de développement depuis la ponte jusqu'à l'émergence pour les abeilles européennes est de 16 jours pour la reine, de 21 jours pour les ouvrières et de 24 jours pour les mâles. Ce temps peut varier (entre 16 et 24 jours pour les ouvrières par exemple) en fonction de la température ou de la nutrition.

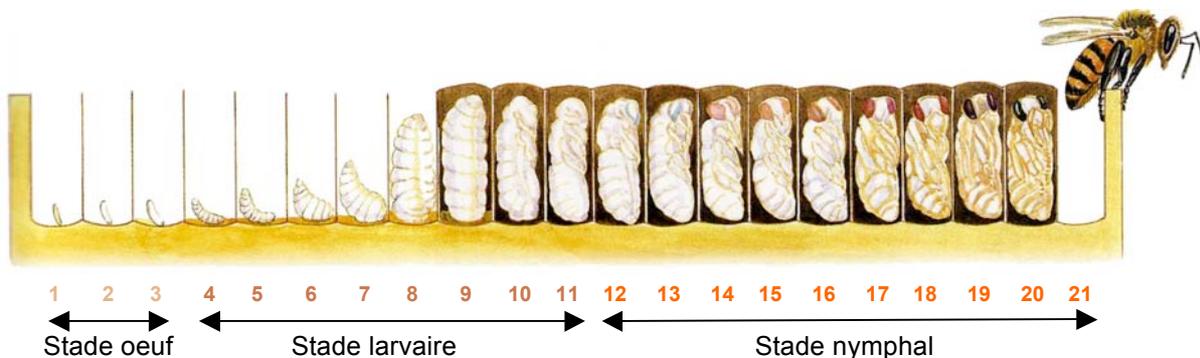


Figure 10 : Développement de l'abeille ouvrière jusqu'à émergence. Modifié d'après Clément (2002).

Après émergence, l'adulte immature finit son développement en 8 à 10 jours. Sa cuticule se renforce et son système glandulaire finit de se développer. Ce dernier ne peut se faire correctement que si la jeune abeille consomme du pollen en quantité suffisante.

La durée de vie des abeilles varie fortement, principalement en fonction de la caste et secondairement en fonction des facteurs saisonniers, de la disponibilité en nourriture, des activités assurées durant leur vie et de la race. De manière générale, en climat tempéré, les ouvrières ont une durée de vie courte en été (15-38 jours), intermédiaire au printemps et à

l'automne (30-60 jours) et longue en hiver (en moyenne 120 jours). Les ouvrières en hiver ont une durée de vie plus longue car elles sont relativement inactives et ont un métabolisme plus lent que les abeilles d'été. Les mâles vivent environ 21 à 32 jours et les reines, qui ont la plus grande longévité, vivent environ 3 ans.

3.2.Nutrition

La base alimentaire de l'abeille, quelque soit la caste ou le stade de développement, est composée de nectar et de pollen. Ces deux produits floraux fournissent tous les éléments nécessaires aux bons développement et fonctionnement de l'abeille.

La source principale d'énergie de l'abeille provient des hydrocarbures contenus sous forme de sucres dans le nectar. Le nectar est collecté par les abeilles butineuses qui le transportent jusqu'à la ruche dans leur jabot. Il peut être donné directement au couvain ou aux adultes, mais il est plus souvent transformé en miel. Dans ce cas, il est transféré à des ouvrières qui lui ajoutent dans leur jabot des enzymes produites par les glandes hypopharyngiennes. Ces enzymes permettent (i) de transformer les polysaccharides en sucres simples plus facilement digérés par les abeilles et (ii) de le protéger d'attaques bactériennes. Le nectar est ensuite évaporé d'abord sur la langue des ouvrières puis par ventilation de la cellule dans laquelle il est placé. Le nectar est mature et appelé miel lorsque les transformations enzymatiques et l'évaporation (contenu en eau inférieur à 18%) sont terminées. La cellule qui le contient est alors operculée par une couche de cire jusqu'à utilisation.

Le pollen constitue la seule source de protéines naturellement disponibles pour l'abeille. Il fournit également d'autres éléments essentiels comme les stérols. Le pollen collecté par les butineuses est traité par les ouvrières dès qu'il arrive à la ruche. Tout en le déposant dans des cellules, elles lui ajoutent du miel régurgité pour limiter le développement bactérien et la germination.

Bien que le nectar et le pollen soient les sources principales de nourriture, l'abeille peut y ajouter d'autres substances dans certains cas. Ainsi, la nourriture du couvain, donnée aux larves en complément du miel et du pollen, est constituée de sécrétions hypopharyngiennes et mandibulaires. De plus, dans le cas particulier des larves de reines, les ouvrières synthétisent

de la gelée royale qui est de la nourriture de couvain additionnée de substances sécrétées par les glandes mandibulaires comme le 10-HDA.

4. Activités des ouvrières

4.1. Polyéthisme

Les activités assurées par les ouvrières sont multiples et liées à leur âge, on parle de polyéthisme. Il dépend surtout de l'état de développement du système glandulaire des ouvrières. De manière générale, après émergence, une ouvrière est nettoyeuse, puis lorsque ses glandes hypopharyngiennes deviennent actives, la jeune ouvrière (3 jours) devient nourrice, elle alimente le couvain à partir de ses sécrétions glandulaires, de miel et de pollen. L'ouvrière d'âge moyen (12 jours), capable de sécréter de la cire, devient maçonne. L'ouvrière plus âgée, dont les glandes hypopharyngiennes produisent les enzymes impliquées dans la transformation du nectar en miel, assure l'activité de manutentionnaire. Elle récupère les charges des butineuses et les stocke dans des cellules en leur ajoutant des sécrétions glandulaires. A partir de 20 jours et jusqu'à la fin de sa vie, l'ouvrière devient butineuse et collecte du nectar, de l'eau, du pollen et de la résine végétale.

En réponse aux changements des conditions d'une colonie, le développement comportemental des ouvrières peut être accéléré, retardé ou même inversé (Robinson, 1992). Ainsi dans des colonies qui manquent de butineuses, certaines abeilles initient le butinage dès 5 jours après émergence, soit deux semaines plus tôt que d'habitude (Leoncini *et al.*, 2004b).

4.2. Butinage

Le comportement de butinage est développé chez les ouvrières les plus âgées. Il sert à récolter des ressources essentielles à la colonie, principalement nutritives comme le nectar, le pollen et l'eau, mais aussi des résines.

La collecte d'éléments liquides s'effectue grâce au proboscis. L'abeille place sa langue au contact de la substance et l'aspire par pompage et capillarité. Le liquide collecté est stocké dans le jabot. Quand ce dernier est plein, la butineuse retourne au nid se décharger auprès des ouvrières manutentionnaires.

En ce qui concerne le pollen, l'abeille le collecte en charge humide, c'est-à-dire que pour faciliter son agglomération et donc son transport, elle le mélange à des régurgitations du jabot pour le rendre plus collant. Le pollen peut être collecté à partir des anthères de deux manières, (i) par des mouvements actifs de frottement des pattes et du proboscis contre les anthères, ou (ii) passivement lors du passage de l'abeille contre les anthères (Thorp, 2000). Le pollen est retenu sur le corps de l'abeille par les poils branchus qui le recouvrent. L'abeille frotte son proboscis avec ses pattes antérieures pour les enduire de régurgitations. Le pollen est ensuite récupéré par frottement des différentes pattes sur le corps puis est transféré sur les brosses des pattes postérieures. Le frottement du peigne sur chaque brosse opposée permet de récupérer et transférer le pollen sur le pressoir. Le pollen est ensuite compacté dans la corbicule par des mouvements de pompage jusqu'à formation d'une pelote.

Il existe différents types de butineuses pour le nectar et le pollen : (i) les butineuses strictes de nectar, (ii) les butineuses strictes de pollen et (iii) les butineuses mixtes. Les butineuses de nectar ne visitent les fleurs que pour récupérer du nectar. Ainsi, elles peuvent se retrouver couvertes de pollen par passage contre les anthères et vont plutôt se nettoyer si ce pollen est présent en trop grande quantité plutôt que de le compacter pour le ramener au nid (Thorp, 2000). Les butineuses de pollen, quant à elles, récoltent également du nectar mais en petite quantité pour consolider les pelotes (Davis, 1997). Enfin, les butineuses mixtes, qui sont minoritaires, récoltent les deux ressources (Free, 1960).