

UNIVERSITE DE MONS
-
FACULTE DES SCIENCES
-
LABORATOIRE DE ZOOLOGIE

Description et affinité taxonomique d'un nouveau fossile d'abeille (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes) du schiste Eocène de la Green River Valley (Utah, Etats-Unis)

Promoteur :
Dr. Michez Denis

Co-promoteur :
Dr. De Meulemeester Thibaut

Mémoire de fin d'études
Présenté par **Dehon Manuel**
En vue de l'obtention du grade de
Maître en Sciences Biologiques
Biologie des organismes et écologie
Finalité approfondie

Année académique 2012-2013

M. Dehon. 2013. Description et affinité taxonomique d'un nouveau fossile d'abeille (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes) du schiste Eocène de la Green River Valley (Utah, Etats-Unis). Mémoire en Sciences Biologiques, Université de Mons, 102 p.

Résumé :

Les abeilles sont des insectes pollinisateurs qui présentent une grande diversité d'un point de vue morphologique et comportemental. Elles présentent la particularité de dépendre exclusivement des plantes à fleur pour leur alimentation et sont des pollinisateurs majeurs pour ces dernières dans la plupart des écosystèmes. A l'heure actuelle, un des domaines les moins connus dans leur diversité, est la systématique des taxons fossiles. De manière générale, les abeilles sont relativement rares dans les gisements fossiles. Ainsi, la description et l'analyse par morphométrie géométrique d'un nouveau fossile d'abeille retrouvé dans le schiste Eocène de la Formation de la Green River (Utah, Etats-Unis) représente une occasion unique d'étendre nos connaissances concernant l'histoire évolutive de ces insectes.

Pour réaliser cette étude, un échantillonnage des spécimens femelles d'abeilles contemporaines possédant trois cellules submarginales (comme le fossile) a été réalisé à partir de plusieurs collections entomologiques. Le fossile appartenant probablement à une tribu disparue d'Apidae, des individus fossiles appartenant à d'anciennes tribus de ce groupe ont été ajoutés à l'échantillonnage. Au total, 545 photos d'aile ont été rassemblées. Dix-huit points de repères ont ensuite été digitalisés sur les veines alaires sur chacune des ailes photographiées. Des analyses statistiques ont été réalisées afin d'évaluer les affinités taxonomiques du fossile d'abeille avec les taxons contemporains et fossiles.

Les résultats obtenus démontrent dans un premier temps le caractère diagnostique de la forme des ailes des abeilles au niveau taxonomique des familles, et dans un deuxième temps l'affinité morphologique du fossile d'intérêt, *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n., avec le groupe des corbiculés (Apidae, Apinae), plus particulièrement proche de la tribu des Euglossini. Sur base de ces arguments morphométriques ainsi que des arguments morphologiques et biogéographiques, nous proposons l'attribution de *Paleoeglossa b.* à un groupe couronne des Euglossini.

Mots-clés : Apoidea Apiformes – Paléontologie – Ailes – Forme – Morphométrie géométrique – Systématique.

M. Dehon. 2013. Description and taxonomic affinity of a new bee fossil (Hymenoptera, Apoidea, Anthophila) from the Eocene shale of the Green River Valley (Utah, USA). Master Thesis in Biological Sciences, Université de Mons, 102 p.

Summary:

Bees are pollinating insects presenting huge morphological and behavioural diversities. They rely almost exclusively on flowers for their life cycle and are the major pollinators of wild plants and crops. Nowadays, the systematics of bee fossil taxa is partly lacking. Bees are relatively rare in fossil deposits. Thus, the description and the analysis of a new bee fossil from the Eocene Shale of the Green River Formation (Utah, USA) is a unique opportunity to improve our current knowledge about the evolutionary history of these insects.

In order to carry out this study, a sampling of female specimens of extant taxa of bees with three submarginal cells (like the fossil) was done based on several European entomological collections. We additionally selected twelve well-preserved fossil species of bees. The final dataset includes 545 specimens. Their wing shapes were captured from photographs by digitizing 18 landmarks placed on the cross veins. Statistical analyses were carried out in order to assess the taxonomic affinities between the fossil and extant clades of bees.

Our results show that wing shape of bees is a diagnostic character to distinguish bee families, and that *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. shows a morphological affinity with corbiculate Apinae (Apidae), particularly with the Euglossini. Based on morphometric, morphological and biogeographic arguments, *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. more likely belongs to a crown group of Euglossini.

Key words : Apoidea Anthophila – Paleontology – Wings – Shape – Geometric morphometrics – Systematics.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier via ces quelques lignes celles et ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration du présent travail.

Je remercie le Prof. Pierre RASMONT pour m'avoir accueilli au sein du service de Zoologie et m'avoir fourni la logistique nécessaire à la réalisation du présent projet.

Je remercie tout particulièrement le Dr. Denis MICHEZ pour sa grande disponibilité, ses conseils judicieux et pour m'avoir soutenu et épaulé ces derniers mois.

Je remercie chaleureusement le Dr. Thibaut DE MEULEMEESTER pour m'avoir initié aux techniques de morphométrie géométrique et pour son aide durant la réalisation des différentes analyses statistiques.

Je remercie également le Prof. Michael S. ENGEL (Kansas University, USA) pour avoir mis à ma disposition le fossile d'abeille étudié dans le présent travail.

Un grand merci aux responsables des collections entomologiques du National History Museum (Londres, UK), du Naturalis Museum (Leiden, NL), de l'Université de Liège (Gembloux, BE), du Musée Royal de l'Afrique Centrale (Tervuren) et de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (Bruxelles, BE) pour leur accueil et pour m'avoir généreusement prêté une partie de leur précieux matériel de collection.

Ces cinq années d'études n'auraient pas été si joyeuses et inoubliables sans la complicité de mes camarades de classe. Un grand merci à eux pour leur soutien, à Alexandre pour l'entraide développée dans le domaine de la morphométrie géométrique, à Lola, Pierre-Yves, Noémie, Aurore, Stéphane, Jérémy, Laura A., Laura D. ainsi qu'à tous les autres membres de la promotion pour tous les bons moments passés en leur compagnie.

Un grand merci également à Nathalie, à Maryse, à Pilou et Jo pour leur soutien et pour avoir créé une belle ambiance dans le chavbee.

Je remercie également toute ma famille et mes amis proches. Merci à Max, Bever et Mathieu.

Je remercie sincèrement tous les membres du jury pour la lecture du présent travail.

Enfin, que toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce travail et qui n'ont pas été citées ci-dessus sachent que je ne les oublie pas et que je les remercie chaleureusement.

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION	6
1.1. Importance de la paléontologie.....	6
1.2. Apoidea Apiformes : généralités	8
1.3. Apoidea Apiformes : fossiles.....	15
1.4. Taxonomie des abeilles par l'étude des ailes.....	18
1.4.1. Morphologie générale des ailes d'abeilles	18
1.4.2. Taxonomie basée sur les ailes d'abeilles	20
1.4.3. Méthodes d'analyses de la forme des ailes d'abeilles.....	24
1.5. Objectifs.....	26
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	27
2.1. Description du gisement	27
2.2. Description du fossile	29
2.3. Echantillonnage	31
2.4. Acquisition des données	34
2.5. Analyses statistiques	42
3. RÉSULTATS	45
3.1. Description du fossile	45
3.2. Caractère diagnostique de la forme alaire au niveau taxonomique des familles ...	50
3.3. Affinités taxonomiques de <i>Paleoeglossa biesmeijeri</i> gen. nov. sp. n.....	54
4. DISCUSSION	65
4.1. Caractère diagnostique de la forme des ailes des Apoidea.....	65
4.2. Taxonomie de <i>Paleoeglossa biesmeijeri</i> gen. nov. sp. n.	66
4.3. Evolution et extinctions des Apidae	70
5. CONCLUSION	71
6. PERSPECTIVES	72
7. BIBLIOGRAPHIE	72
8. ANNEXES	80

1. INTRODUCTION

1.1. Importance de la paléontologie

La paléontologie est la science qui étudie les restes fossiles d'organismes ayant vécu durant les ères géologiques passées. L'un des objectifs de cette discipline est de comprendre et de reconstituer l'histoire de l'évolution des organismes vivants.

De nombreuses descriptions d'espèces fossiles sont basées sur la découverte de peu, voire d'un unique spécimen. Les informations disponibles sur ces fossiles sont fragmentaires et il est rare de connaître leur écologie et leur mode de vie. En effet, les seules réelles informations disponibles résident dans la morphologie externe du fossile, bien que les caractères morphologiques sont parfois peu accessibles dans les compressions fossiles. Les fossiles constituent néanmoins la seule source d'informations sur l'histoire évolutive des taxons éteints et sur leur biodiversité (Forey 2001 ; Quental & Larshal 2010 ; Wiley & Lieberman 2011).

Les fossiles constituant la seule source d'informations factuelles sur les taxons éteints et sur leur biodiversité, fournissent une occasion unique de tester l'origine et l'évolution des clades. La paléontologie est donc une discipline cruciale en biologie et le fait d'ignorer le rôle des fossiles compromet la compréhension de l'évolution (Michez *et al.* 2012).

Un des défis majeurs de cette science est l'intégration des fossiles dans la systématique des groupes d'organismes contemporains. Néanmoins, les méthodes statistiques robustes qui le permettent sont encore peu nombreuses. Dans le but d'élargir nos connaissances concernant l'important et non moins fascinant groupe des abeilles (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes), le présent mémoire de fin d'études se focalise sur la description et l'analyse par morphométrie géométrique d'un nouveau fossile d'Apoidea en provenance du schiste de la Green River Valley (Utah, Etats-Unis) (Fig. 1).



Figure 1 : Photographie du fossile d'Apoidea retrouvé dans la Formation de la Green River, vue ventrale (Photographie : N. Vereecken).

1.2. Apoidea Apiformes : généralités

Importance des abeilles

Les abeilles (Apoidea Apiformes) sont des insectes herbivores qui présentent une grande diversité d'un point de vue morphologique et comportemental. Elles dépendent exclusivement des plantes à fleur (Angiospermes, ~352.000 espèces) comme source de protéines, de lipides et de sucres pour leur cycle de vie (Michener 2007 ; Cardinal & Danforth 2013). Une majorité d'espèces de plantes à fleur sont adaptées à la pollinisation par les insectes. Dans la plupart des écosystèmes, agricoles et sauvages, les abeilles constituent d'ailleurs leurs principaux pollinisateurs. Leur impact économique a été estimé à environ 153 milliards d'euros (Gallai *et al.* 2009).

Le déclin des abeilles est de nos jours un phénomène bien connu. Ce dernier représente une grande menace pour les plantes sauvages ainsi que pour l'agriculture (Patiny *et al.* 2009). De par leur grande importance tant dans la recherche appliquée que fondamentale, il est essentiel d'améliorer notre compréhension de la biodiversité, de la phylogénie, de l'évolution et de la diversification des abeilles (Danforth *et al.* 2013).

Systématique des abeilles

Les abeilles sont situées dans la superfamille des Apoidea, dans le groupe des Aculeata, dans le sous-ordre des Apocrites et dans l'ordre des Hyménoptères (Michener 2007). Les Aculeata présentent un ovipositeur s'étant transformé en aiguillon ou dard, utilisé pour la capture des proies et pour la défense face aux prédateurs potentiels. On distingue couramment les Apoidea Apiformes (abeilles) des Apoidea Sphéciformes (sphécides) (Brothers & Carpenter 1993).

Michener (1944) présenta la première classification moderne des abeilles, dans laquelle l'abeille mellifère occupe toujours une place centrale. En effet, cette dernière fut présentée au sommet de l'arbre (Fig. 2). Cette classification phylogénétique se basant sur la forme de la langue (ou glosse) plaçait la famille des Colletidae en position basale. La structure de la glosse des Colletidae fut ici considérée comme plésiomorphe, proche de la structure ancestrale des guêpes fouisseuses, les Sphecidae. La logique de cette classification considérait les abeilles à langue longue comme évoluées, et donc situées en position apicale de l'arbre, et les abeilles à langue courte comme primitives. Les Melittidae *s.l.* y occupaient une place intermédiaire.

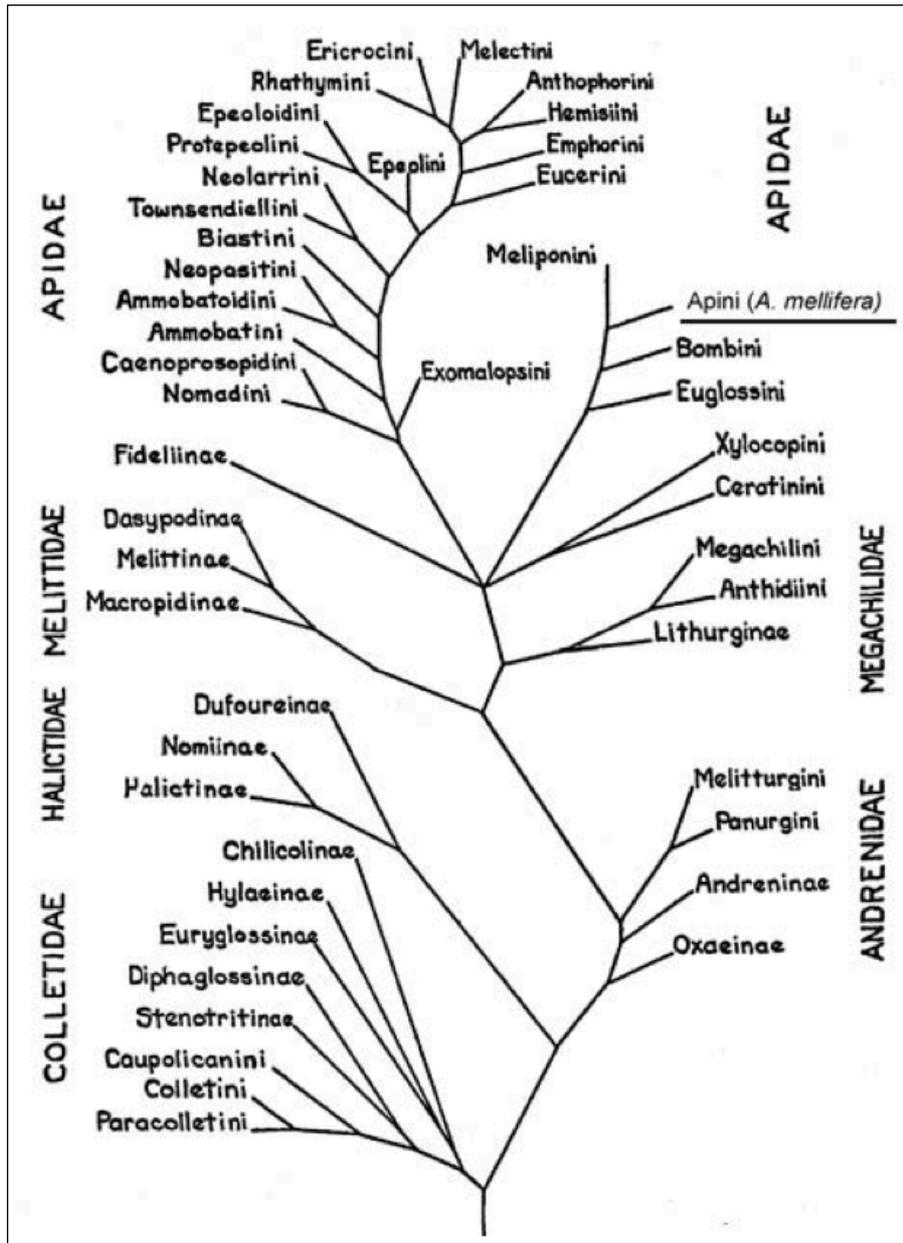


Figure 2 : Phylogénie des Apoidea Apiformes basée sur la morphologie des individus adultes (d'après Michener 1944).

Plusieurs années plus tard, Danforth *et al.* (2006a,b) proposèrent une classification basée sur des caractères moléculaires combinés à des caractères morphologiques (Fig. 3). Cette nouvelle hypothèse considérait que les abeilles à langue courte sont apparues avant les abeilles à langue longue, et que les Melittidae *s.l.* occupent une position basale dans l'arbre phylogénétique. Cette nouvelle classification révolutionna les théories dominantes, la famille des Colletidae étant désormais considérée comme dérivée.

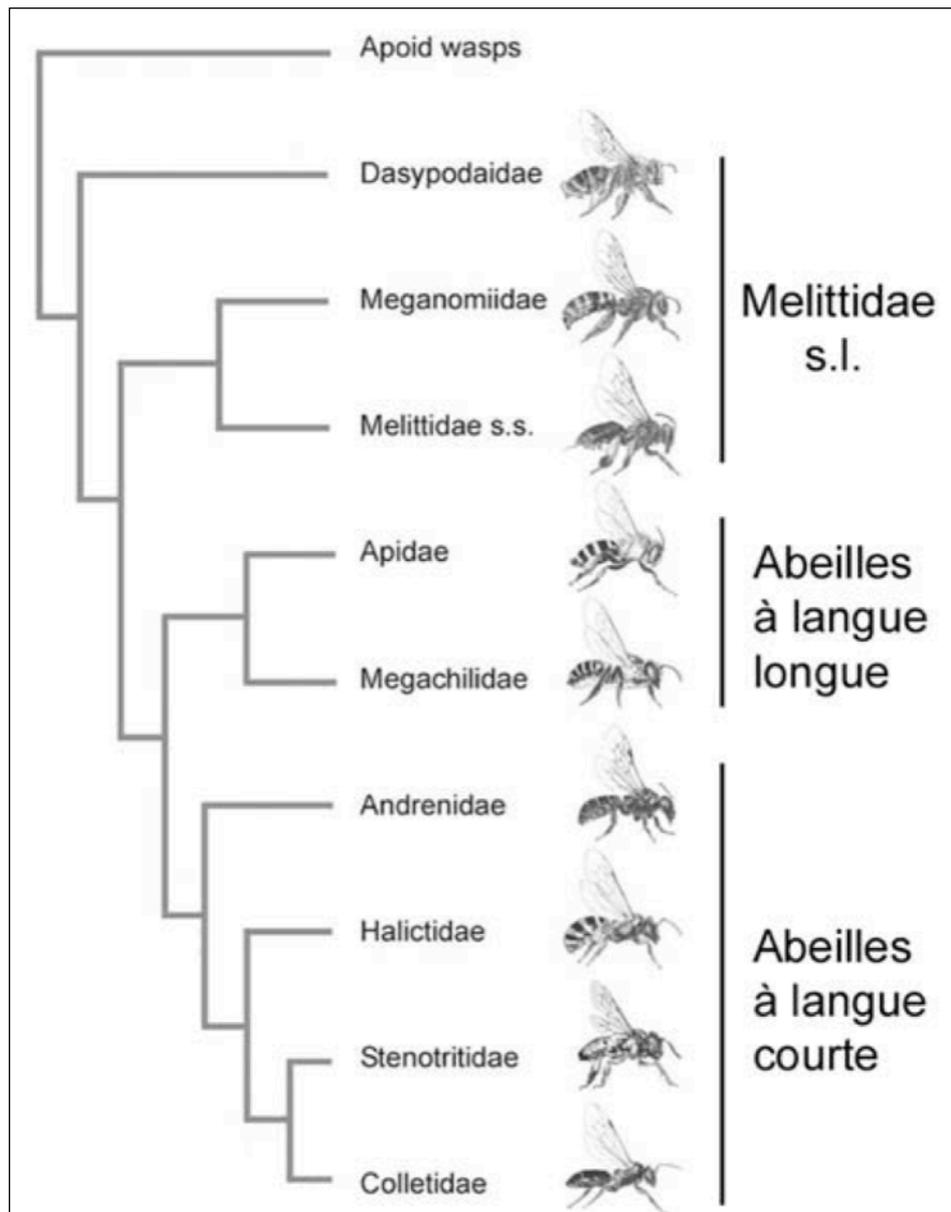


Figure 3 : Phylogénie des Apoidea Apiformes basée sur la morphologie des individus adultes et sur le séquençage de 5 gènes (d’après Danforth *et al.* 2006b).

Les abeilles forment actuellement un groupe comportant environ 1.200 genres et 20.000 espèces (Michener 2007 ; Engel 2005, 2011). Elles regroupent 9 familles contemporaines réparties en deux groupes : les abeilles à langue courte (familles des Megachilidae et des Apidae) et les abeilles à langue longue (familles des Colletidae, des Stenotritidae, des Halictidae, des Andrenidae, des Melittidae *sensu stricto* (*s.s.*), des Meganomiidae et des Dasypodaidae) (Danforth *et al.* 2006a). Les Melittidae *sensu lato* (*s.l.*) regroupent 3 familles : les Melittidae *s.s.*, les Meganomiidae et les Dasypodaidae. Les Melittidae *s.l.* formeraient un groupe paraphylétique se situant à la base du clade des abeilles.

Caractéristiques des abeilles

Plus de la moitié des espèces d'abeilles sont solitaires, les autres sont sociales et vivent en colonies (Michener 2007). Le niveau d'organisation sociale le plus avancé, l'eusocialité, n'est retrouvé que dans un nombre restreint de taxons, par exemple chez le bourdon et chez l'abeille mellifère. Le développement des abeilles est caractérisé par une métamorphose complète passant par les stades suivants : œuf, larve, pupa et adulte. Les nids d'abeilles correspondent au lieu d'élevage des jeunes. Ces nids sont fabriqués par la reine ou encore par les ouvrières en ce qui concerne les abeilles sociales. Les cellules des nids protègent les stades immatures des larves, qui sont délicates et fragiles. De plus, ces cellules comprennent la nourriture nécessaire au développement de ces dernières. En général, ces nids sont présents dans le sol, bien que certains groupes d'abeilles les construisent dans le bois.

Les abeilles (Apoidea Apiformes) divergent d'un groupe de guêpes prédatrices apoïdes : les sphécides (Apoidea Sphéciformes). Les abeilles sont en général plus robustes et plus poilues que les guêpes. Elles sont distinguées des sphécides grâce à un certain nombre de caractères apomorphes dont :

- Une nervation alaire originale ;
- La présence de poils plumeux ;
- La présence de basitarses postérieurs qui sont plus larges que les articles du tarse qui les suivent.
- L'absence de poils dorés ou argentés présents sur la partie inférieure de la tête et scintillants quand ils sont exposés à la lumière, les poils faciaux des abeilles étant plus ternes, souvent dressés et plumeux, ou largement absents (Michener 2007).

Origines du groupe couronne des abeilles

La divergence Apiformes/Sphéciformes aurait eu lieu dans l'hémisphère sud durant le Crétacé moyen, il y a environ 123 millions d'années (MA) (Michener 1944, 1979, 2007 ; Brothers 1975, 1998 ; Alexander 1992 ; Ronquist 1999 ; Engel 2001a, 2004, 2011 ; Danforth *et al.* 2006b ; Grimaldi & Engel 2005 ; Ohl & Engel 2007 ; Cardinal & Danforth 2013). De plus, l'apparition des abeilles coïnciderait avec l'origine, la diversification et l'expansion géographique des Eudicotylédones, ou Dicotylédones vraies (Danforth 2007).

C'est durant le Crétacé inférieur (120-125 MA) que les Sphéciformes se seraient diversifiés (Fig. 4) (Grimaldi & Engel 2005 ; Bennet & Engel 2006). Les Crabronidae sont considérés comme le groupe duquel des abeilles auraient émergé avant la moitié du Crétacé inférieur (Antropov 2000 ; Bennet & Engel 2006).

Les guêpes apoïdes affichent des attributs les rendant aptes à devenir des consommateurs et des collecteurs de pollen (Michez *et al.* 2012), comme la présence des pièces buccales possédant des mandibules, plus adaptées pour la mastication du pollen que celles de type perceuse-suceuse (Crepet 1979), ou encore la présence de soies plumeuses (plumose setae). Ces dernières faisant, dans de nombreux cas, partie intégrante des structures collectrices de pollen, elles pourraient avoir été présentes chez les Sphéciformes avant l'exaptation ultérieure de leur fonction originelle (Heinrich 1996).

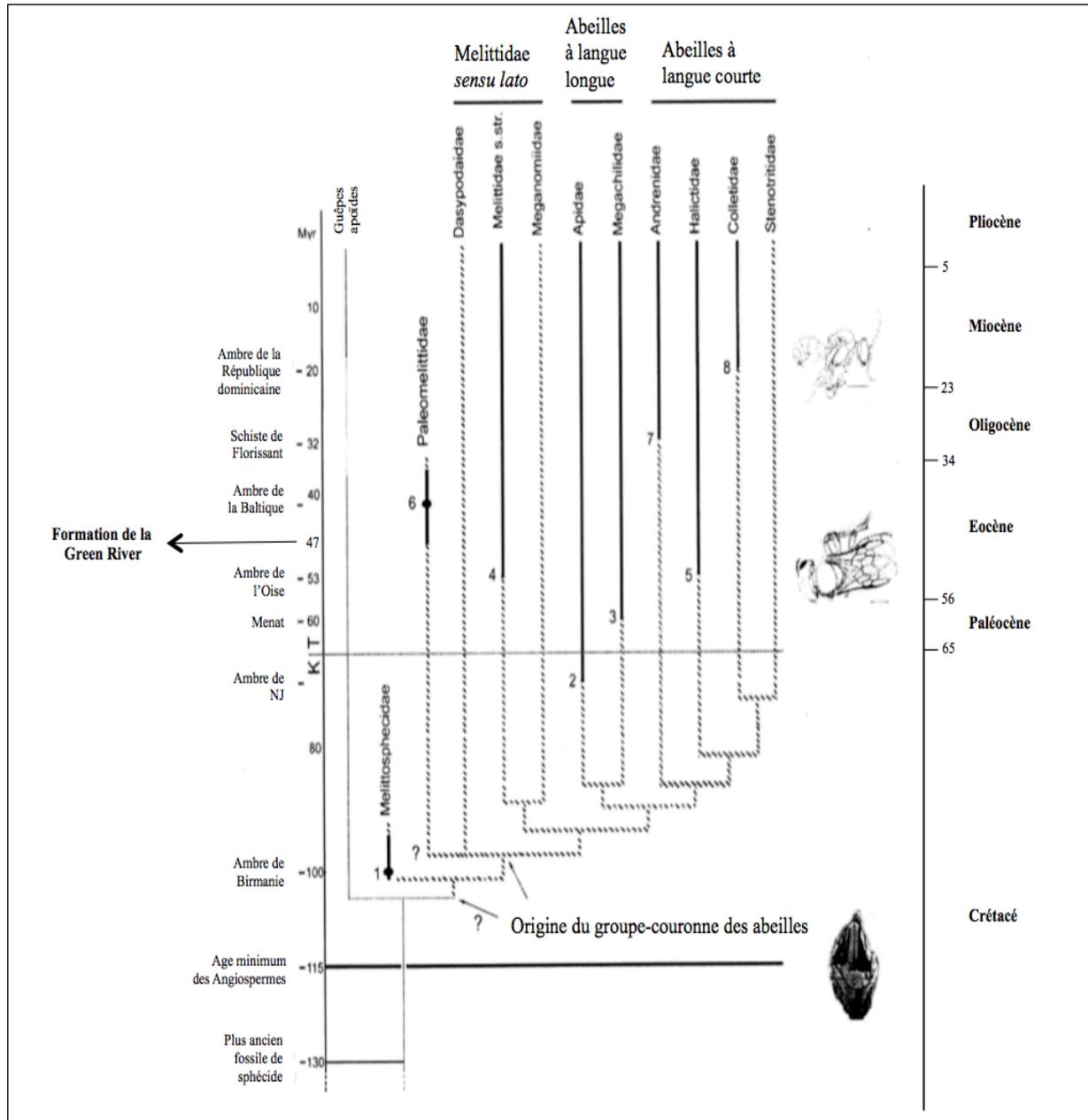


Figure 4 : Hypothèse de l'évolution des abeilles selon Danforth *et al.* (2006b) avec des fossiles d'abeilles présents comme points de repère. Pour une interprétation alternative, se référer à Engel (2004b) et à Ohl & Engel (2007). 1. *Melittosphex burmensis*. 2. *Cretotrigona prisca*. 3. *Probombus hirsutus*. 4. *Paleomacropis eocenicus*. 5. *Halictus ?savenyei*. 6. *Paleomelitta nigripennis*. 7. *Andrena ? clavula*. 8. *Chilicola electrodominica*. Dessins des fossiles de haut en bas : *Proplebeia dominicana* (Camargo *et al.* 2000) ; *Paleomacropis eocenicus* (Michez *et al.* 2007) ; *Divisestylus brevistamineus* (Crepet *et al.* 2004) (d'après Michez *et al.* 2012). La position de la Formation de la Green River est replacée dans l'échelle géologique des temps.

1.3. Apoidea Apiformes : fossiles

De manière générale, les abeilles sont relativement rares dans les gisements de fossiles. Un certain nombre de fossiles d'abeilles a été recensé, en provenance du Crétacé, du Paléocène, de l'Éocène, de l'Oligocène, du Néogène et du Quaternaire (Michez *et al.* 2012).

Actuellement, deux familles fossiles d'abeilles ont été décrites, bien que leur statut taxonomique reste contesté : les Paleomelittidae provenant de l'ambre de la Baltique de l'Éocène moyen, et les Melittosphécidae provenant de l'ambre de Birmanie du Crétacé (Michez *et al.* 2012). L'appartenance de cette dernière famille au groupe des abeilles reste encore discutée. En effet, le spécimen fossile *Melittosphex burmensis*, retrouvé dans l'ambre de Birmanie, serait soit une abeille, soit une guêpe prédatrice apoïde (Poinar & Danforth 2006 ; Ohl & Engel 2007).

Le fossile de *Cretotrigona prisca*, qui provient de l'ambre du Crétacé Supérieur du New Jersey, est le plus vieux fossile d'abeille décrit pouvant être attribué avec certitude au groupe couronne des abeilles (Michener & Grimaldi 1988). Cependant, son âge et sa place dans la phylogénie sont controversés. Ce spécimen est une abeille ne possédant pas de dard, caractéristique partagée avec la tribu des Meliponini (Apidae, Apinae). Ce clade se situe dans les Apinae et n'est donc pas à la base de la phylogénie des abeilles. *Cretotrigona prisca* est probablement originaire de l'âge Maastrichtien (environ 65 MA) (Engel 2000).

Au total, 184 espèces fossiles d'abeilles ont été décrites à l'heure actuelle (Michez *et al.* 2012). La description des fossiles d'abeilles est généralement succincte et leurs affinités taxonomiques sont définies sur base d'un faible nombre de caractères morphologiques, principalement qualitatifs et fragmentaires.

Les plus grands gisements de fossiles d'abeilles

L'ambre représente la plus grande et plus précieuse source de fossiles d'insectes, et cela grâce à sa capacité unique de préservation des plus petits détails (Grimaldi & Engel 2005). Comparativement à l'ambre, les compressions fournissent des spécimens dont les ailes conservées sont plates, ce qui favorise l'analyse de leur forme par la morphométrie géométrique.

Les gisements actuellement connus du Paléocène (-65 à -55 MA) et de l'Eocène (-55 à -38 MA) possédant des fossiles d'abeilles sont les suivants : Menat (France), Oise (France), Quilchena (Canada), Cambay (Inde), Messel/Eckfel (Allemagne), MacBee/Républic (Canada/Etats-Unis), Région Baltique (nord de l'Europe), Rovno (Ukraine), Rio Pichi-Leufù (Argentine) et Puryear/Viola (Etats-Unis). Quatre familles contemporaines d'abeilles (Apidae, Halictidae, Melittidae et Megachilidae) et une famille éteinte (Paleomelittidae) proviennent de ces gisements. La transition Eocène-Oligocène est caractérisée par un refroidissement global et une période d'extinctions en masse. Ce refroidissement est probablement la cause de l'extinction des tribus suivantes de corbiculés : Electrobombini, Electrapini et Melikerini (Michez *et al.* 2012 ; Engel 2001a).

Huit gisements datant de l'Oligocène (-33 à -23 MA) et contenant des fossiles d'abeilles ont été documentés : Florissant (Etats-Unis), Badlands (Oligocène supérieur, Etats-Unis), les gisements français d'Aix-en-Provence, du Bois d'Asson, de Camoins-les-Bains, de Céreste et de Marseille (Oligocène moyen à supérieur, France) et Rott (Oligocène supérieur, Allemagne). Toutes les familles contemporaines sont présentes dans ces faunes, à l'exception de Stenotritidae (Michez *et al.* 2012). Des exemples notables d'espèces fossiles découvertes dans le gisement du Florissant sont *Ceratina disrupta*, dont l'attribution aux genres contemporains reste spéculative, et *Protomelecta brevipennis*, qui serait une espèce cleptoparasite.

Enfin, des fossiles d'abeilles datant des périodes du Néogène et du Quaternaire ont été retrouvés dans les 33 gisements suivants : le bassin de Bes-Lonak (Turquie), l'ambre de la République dominicaine (République dominicaine), l'ambre du Mexique (Mexique), l'ambre de Sicile (Italie), la vallée de Stewart (Etats-Unis), la mine de Bilina (République tchèque), Euboea (Grèce), Izarra (Espagne), Krottensee (République tchèque), Kudia River (Russie), Kundratice (République tchèque), Radoboj (Croatie), Rubielos (Espagne), Iki Island (Japon), Andance (France), Biebrich (Allemagne), la rivière de Botchi (Russie), Böttingen (Allemagne), Latah (Etats-Unis), Lleida (Espagne), Oeningen (Allemagne), Parschlug (Autriche), Puesto Los Sauces (Argentine), Randeck (Allemagne), Rusinga (Kenya), Sainte-Reine (France), Shandong (Chine), Santander (Colombie), Abu Dhabi (Les Emirats arabes unis), Batu (Malaisie), le copal de l'Afrique de l'Est, Hukong (Birmanie) et Lockport (Etats-Unis). Toutes les familles contemporaines sont présentes dans ces faunes, à l'exception de Stenotritidae. L'ambre de la République dominicaine et l'ambre du Mexique représentent les paléofaunes les plus récentes d'abeilles (-20 MA). Le grand nombre de spécimens d'Apinae retrouvé dans ces gisements est principalement lié au grand nombre d'individus retrouvés pour l'espèce suivante : *Proplebeia dominica*. Cette espèce, ainsi que *Euglossa moronei* et *Eufriesea melissiflora*, étaient probablement des abeilles appartenant à la tribu des Euglossini (Apidae, Apinae), les abeilles à orchidées (Michez *et al.* 2012).

Les gisements les plus importants en nombre d'espèces contenant des fossiles d'abeilles datent du Cénozoïque et sont les suivants :

- (i) L'ambre dominicain du Miocène inférieur, datant d'environ 19 MA ;
- (ii) Le schiste de Florissant de l'Oligocène, datant d'environ 34 MA ;
- (iii) L'ambre de la Baltique de l'Éocène moyen (environ 45 MA) (Michez *et al.* 2012). Cet ambre représente la paléofaune et la paléoflore les plus diversifiées décrites dans le monde (Weitsschat & Wichard 2010).

1.4. Taxonomie des abeilles par l'étude des ailes

1.4.1. Morphologie générale des ailes d'abeilles

Les ailes d'abeilles consistent en deux paires d'organes membraneux rattachés au thorax. La paire d'ailes antérieures est rattachée au deuxième segment du thorax, le meso-thorax, tandis que la paire d'ailes postérieures est rattachée au troisième segment du thorax, le meta-thorax. Les ailes d'abeilles présentent en règle générale une nervation réduite par rapport à d'autres groupes d'insectes. Les ailes antérieures sont couplées aux ailes postérieures par une série de crochets (hamuli), portés par les ailes postérieures. Les nervures alaires longitudinales consistent en des restes de zones cavitaires s'étant formées durant le développement de l'individu et dans lesquelles se trouvaient de l'hémolymphe et des trachées. Les nervures latérales ne sont que des renforcements (Michener 2007 ; Engel 2001a).

Les cellules et les veines des ailes d'abeilles sont illustrées dans la Figure 5 (Engel 2001a). Les ailes antérieures des abeilles présentent une nervation plus complexe que celle des ailes postérieures.

Les ailes antérieures sont formées des cellules alaires suivantes : trois cellules submarginales, deux cellules médianes, deux cellules cubitales, une cellule radiale, une cellule costale, une cellule marginale. Les ailes postérieures des abeilles sont formées des cellules alaires suivantes : une cellule radiale, une cellule cubitale (Fig. 5, B). La localisation et la nomenclature des nervures des ailes antérieures et postérieures sont visibles dans la Figure 5, B. La nomenclature utilisée est celle d'Engel (2001a).

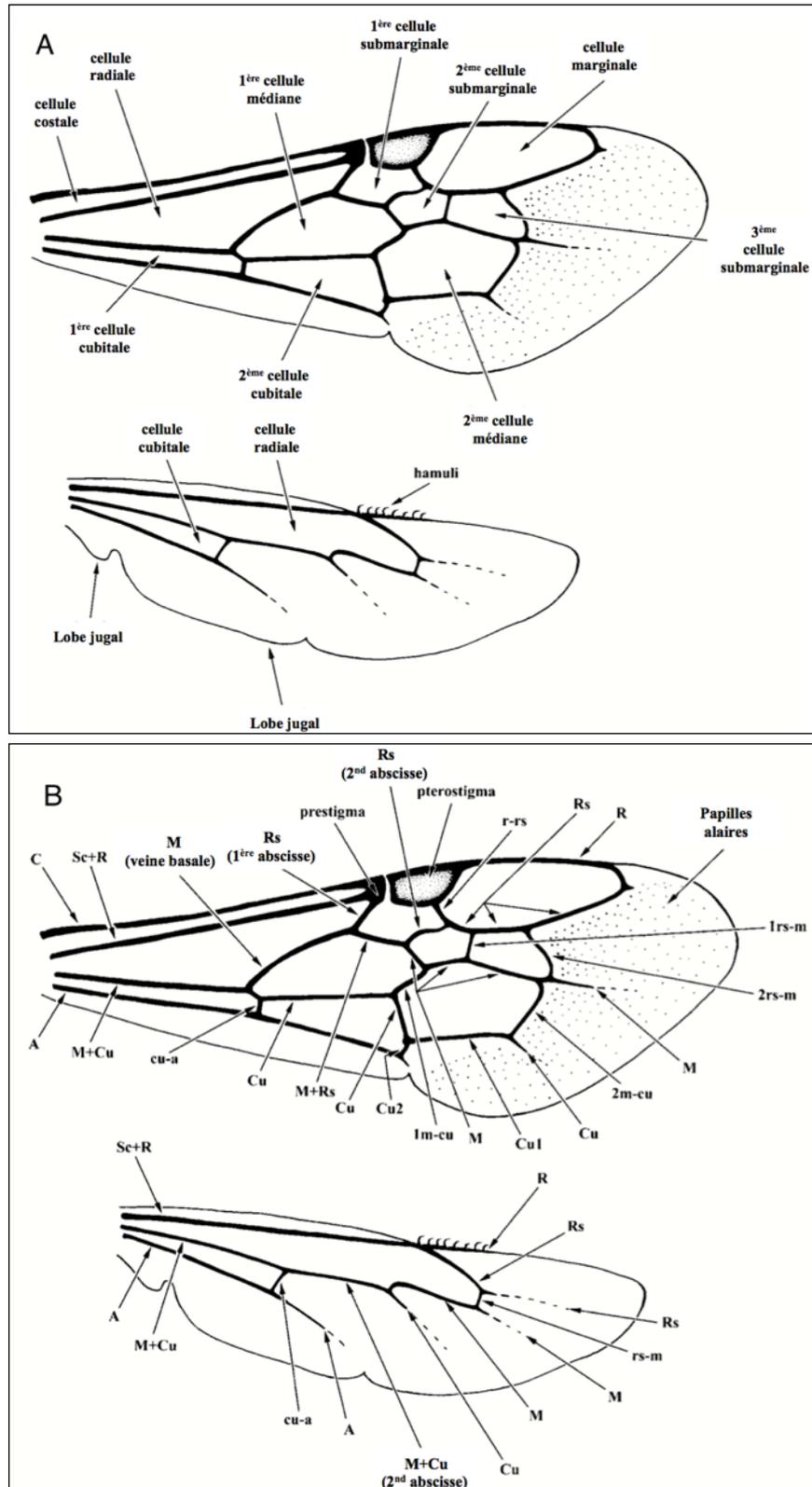


Figure 5 : **A.** Schéma d'une aile antérieure droite et d'une aile postérieure droite d'abeille, avec la légende des cellules alaires (d'après Engel 2001). **B.** Schéma d'une aile antérieure droite et d'une aile postérieure droite d'abeille, avec la légende des nervures alaires (d'après Engel 2001a).

1.4.2. Taxonomie basée sur les ailes d'abeilles

Les ailes d'insectes sont souvent utilisées comme caractère dans les études par morphométrie géométrique. En effet, elles présentent de nombreux avantages :

- Elles sont rigides, plates et donc en 2-dimensions ;
- Elles sont généralement bien conservées dans l'ambre et dans les compressions fossiles ;
- Elles présentent des caractéristiques spécifiques aux spécimens qui les possèdent, comme la forme et le pattern de veines (De Meulemeester 2011 ; Pavlinov 2001) ;
- Elles présentent un grand nombre de *landmarks* homologues qui sont localisés aux intersections des veines ;
- Elles ont jusqu'à présent été considérées comme étant un caractère neutre, c'est-à-dire un caractère ne subissant pas de pression adaptative et évoluant donc indépendamment de l'environnement (De Meulemeester 2011). On ne peut cependant négliger la propriété fonctionnelle de l'aile, mais les parts neutre et fonctionnelle de la forme de l'aile n'ont pas encore été mises en évidence ;
- Elles constituent un caractère diagnostique pour préciser les affinités systématiques entre des taxons contemporains et des taxons fossiles d'organismes.

Pour ces raisons, les ailes des abeilles représentent des caractères facilement numérisables, mesurables, et contiennent une bonne information systématique (De Meulemeester 2011).

De récentes études ont démontré la pertinence de la forme des ailes pour préciser les affinités taxonomiques entre les groupes fossiles et contemporains d'abeilles.

Certaines études ont permis de mettre en avant le caractère diagnostique de la forme des ailes pour différencier les abeilles au niveau taxonomique des tribus et pour préciser les affinités taxonomiques de fossiles avec les taxons contemporains. Par exemple, Michez *et al.* (2009) ont analysé la forme des ailes d'un fossile d'abeille datant du Paléocène, *Paleohabropoda oudardi* (Apidae, Apinae, Anthophorini) (Fig. 6). Cette dernière étude a permis la détermination des affinités morphologiques du spécimen en question. Ce dernier appartient à la tribu des Anthophorini. L'étude de De Meulemeester *et al.* (2012), quant à elle, est basée sur l'analyse des ailes de deux fossiles d'Halictidae dans le but d'étudier leur affinités taxonomiques avec les tribus contemporaines de cette famille : *Electrolictus antiquus* appartiendrait ainsi à la tribu des Thrinchostomini tandis que *Halictus petrefactus* serait plus proche de la tribu des Halictini.



Figure 6 : Photographie du spécimen de *Paleohabropoda oudardi* (Apidae, Apinae, Anthophorini) (vue dorsale) (Michez et al. 2009).

D'autres études ont permis d'étendre le caractère « forme des ailes » au niveau taxonomique des genres. Ainsi, dans l'étude de Aytekin *et al.* (2007), la forme d'aile des bourdons du sous-genre Sibiricobombus *Bombus sulfureus*, *B. niveatus* et *B. vorticosus* a été analysée et comparée à une sélection d'espèces parmi les sous-genres *Melanobombus* et *Mendacibombus*. Cette étude a démontré qu'il n'existe aucune différence de forme d'aile entre *B. niveatus* et *B. vorticosus*, ce qui conforte l'hypothèse selon laquelle elles sont conspécifiques. Un autre exemple est la description du spécimen fossile *Bombus (Bombus) randeckensis* et l'étude de son affinité taxonomique avec les taxons contemporains (Fig. 7). Bien que ce spécimen ne soit représenté que par une aile antérieure droite, cela a amplement suffi pour le classer parmi le genre *Bombus s.s.* (Bombini, Apinae, Apidae) grâce à la morphométrie géométrique (Wappler *et al.* 2012).



Figure 7 : Photographie de l'aile antérieure droite de *Bombus (Bombus) randeckensis* (Apidae, Apinae, Bombini) (Wappler *et al.* 2012).

Tofilski (2008), quant à lui, a démontré que la morphométrie géométrique constitue un meilleur outil que la morphométrie traditionnelle pour distinguer trois sous-espèces d'*Apis mellifera* : *A. m. mellifera*, *A. m. carnica* et *A. m. caucasica* (Fig. 8). Cette étude prouve donc que la forme des ailes est un caractère suffisamment diagnostique pour différencier des sous-espèces.

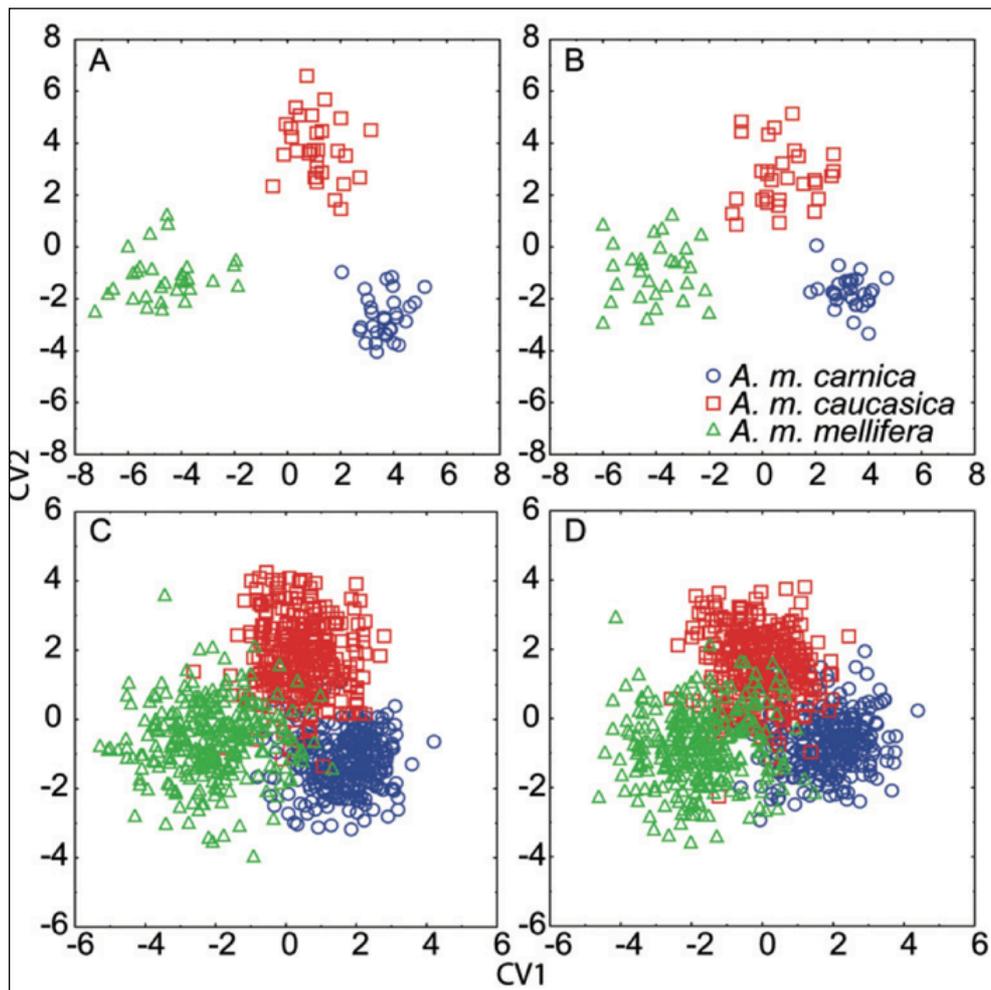


Figure 8 : Discrimination de trois sous-espèces d'*Apis mellifera* (Apidae, Apinae, Apini) sur base de la morphométrie géométrique (A, C) et de la morphométrie traditionnelle (B, D) (Tofilski 2008).

Sur base de nos connaissances actuelles, les ailes d'abeilles constituent donc un caractère possédant un fort signal systématique et une bonne variabilité. L'étude de la forme des ailes du fossile étudié permettrait ainsi d'évaluer la similarité morphologique avec les taxons fossiles et les taxons contemporains.

1.4.3. Méthodes d'analyses de la forme des ailes d'abeilles

Importance de la morphométrie

Les fossiles constituent une source importante et non négligeable d'informations concernant l'histoire évolutive d'un groupe d'organismes. En effet, le premier objectif fondamental des études de fossiles est d'évaluer leur classification parmi les taxons fossiles et contemporains. Cependant, les fossiles peuvent présenter de nombreux inconvénients qui rendent leur identification et leur classification difficile. Voici ci-dessous deux grands exemples de ces inconvénients:

- En général, seuls les caractères morphologiques externes sont analysables pour les fossiles d'insectes et autres arthropodes ;
- L'analyse des structures internes telles que les genitalia (organes génitaux) n'est généralement pas possible pour les fossiles sous forme de compression (Kinchloe Roberts *et al.* 2008).

A ce niveau, l'analyse morphométrique est importante. Elle se base sur des structures en 2-dimensions, telles que les ailes, ou en 3-dimensions, telles que les crânes de vertébrés. Cela justifie l'utilisation d'une telle technique dans le cadre de cette étude, les ailes du fossile fragmentaire étudié étant un des seuls caractères utilisables (De Meulemeester *et al.* 2012). L'analyse morphométrique peut se montrer moins fiable que d'autres techniques pour déterminer des espèces. En effet, cette analyse est dépendante des caractères étudiés, ce qui apporte indéniablement une certaine part de subjectivité. Malgré cela, elle constitue la seule méthode universellement applicable sur tous les taxons décrits, ce qui fait de l'analyse morphométrique un outil en aucun cas négligeable (De Meulemeester 2011).

Emergence de la morphométrie géométrique

Les résultats obtenus par analyse morphologique ont été améliorés avec la mise en place récente de la morphométrie géométrique (Bookstein 1991; Baylac *et al.* 2003; Schlick-Steiner *et al.* 2010). Elle constitue une nouvelle discipline émergente, possédant ses propres descripteurs de la forme (Claude 2008). Par cette technique, la forme des structures étudiées est caractérisée par des coordonnées cartésiennes de points de repères (*landmarks*) ou par les contours de formes (*outlines*) (Adams *et al.* 2004). Selon la définition de Kendall (1977), la forme d'un objet est considérée en morphométrie géométrique comme étant l'information géométrique subsistant après la filtration des effets de rotation, de translation et d'échelle. Le principal avantage de la morphométrie géométrique est qu'elle permet d'extraire de l'analyse toutes les variables qui ne se rapportent pas à la forme. Cette analyse permet notamment une séparation nette entre la composante « taille » et la composante « forme » d'un caractère morphologique, ce qui la rend généralement plus performante que la morphométrie traditionnelle (Fig. 9) (De Meulemeester 2011).

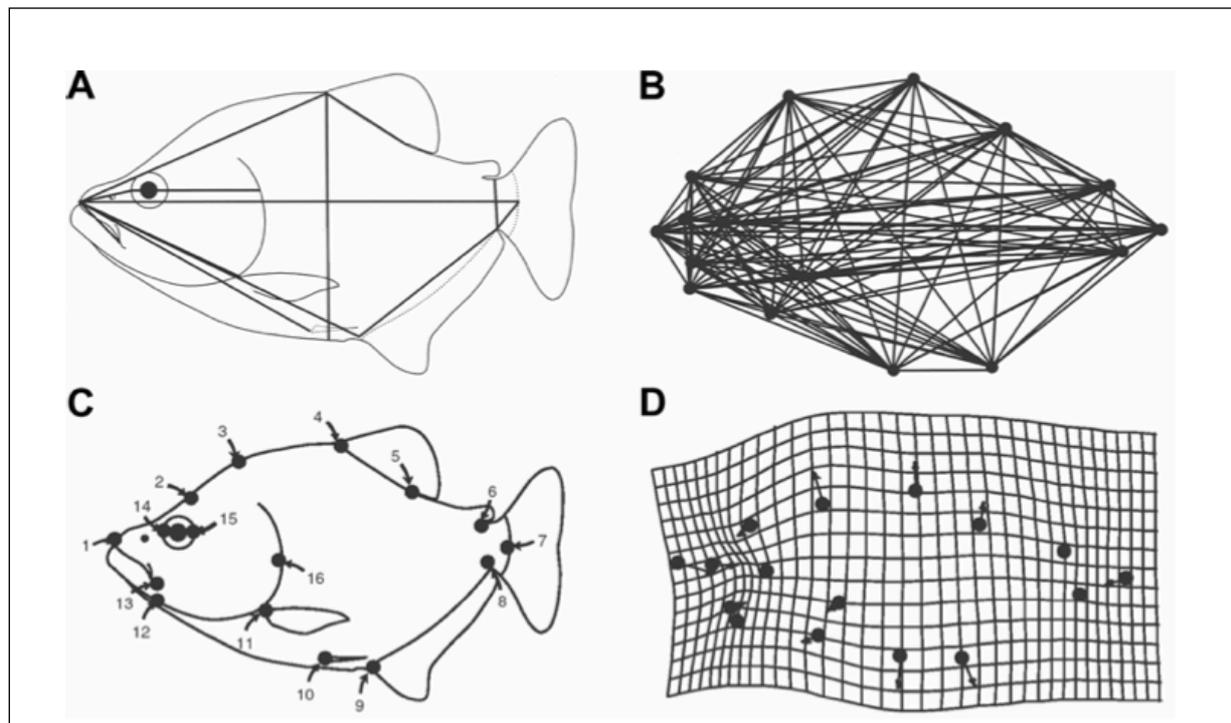


Figure 9 : Analyse de la forme par morphométrie traditionnelle (A-B) et morphométrie géométrique (C-D) (d'après Zelditch *et al.* 2004).

1.5. Objectifs

Durant ces 15 dernières années, nos connaissances sur la phylogénie et sur l'évolution des abeilles se sont nettement améliorées grâce à une meilleure disponibilité des bases de données moléculaires (Huelsenbeck & Crandall 1997 ; Huelsenbeck & Ronquist 2001). De plus, les phylogénies moléculaires, en combinaison avec les données fossiles, peuvent maintenant générer des phylogénies calibrées qui indiquent le rythme de diversification des clades (Drummond & Rambaut 2007). Ces études moléculaires ont permis notamment de reconsidérer nos connaissances sur le groupe frère des abeilles (Ohl & Bleidorn 2006 ; Pilgrim *et al.* 2008), sur les relations entre les différentes familles (Danforth *et al.* 2006b), l'évolution de l'eusociabilité (Brady *et al.* 2006), le parasitisme (Cardinal *et al.* 2010), ou encore l'évolution des relations plantes-abeilles (Renner & Schaefer 2010). De nombreuses phylogénies détaillées existent désormais pour la plupart des familles, des sous-familles, et des tribus et les relations phylogénétiques entre les grands clades sont maintenant bien connues (Danforth *et al.* 2013). Cependant, la compréhension de l'évolution et des dates de divergence des abeilles est fortement limitée par le nombre relativement faible de spécimens fossiles décrits et correctement classés.

Ainsi, la présente étude a pour objectif principal de décrire et d'analyser par morphométrie géométrique un nouveau fossile d'une présumée abeille découvert dans le schiste Eocène de la Formation de la Green River (Utah, Etats-Unis), dans le but de découvrir les affinités taxonomiques de ce fossile avec les taxons contemporains et éteints.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES :

2.1. Description du gisement :

Le fossile d'Apiforme retrouvé par le paléontomologiste Michael S. Engel provient du Bassin de Uinta, plus précisément de Parachute Creek Member, datant d'environ 47 MA. Le Bassin de Uinta est un lac peu profond s'étalant entre l'Utah et le Colorado, niché parmi des montagnes existant depuis environ 20 MA, de la fin du Paléocène à l'Eocène supérieur. La paléoflore étudiée et décrite pour ce bassin, ainsi que certains fossiles de vertébrés comme des crocodiles suggèrent un climat de type tropical à subtropical, dont la saison sèche était bien distincte et dont la température variait entre 15 et 20 °C (Wolfe 1994 ; Wolfe *et al.* 1998 ; Forest *et al.* 1999).

De nombreux fossiles d'insectes ont été retrouvés dans la Formation de la Green River, et ce dans les états du Colorado, de l'Utah et du Wyoming (Fig. 10) (Wilson 1978 ; Grande 1984). Plus de 83 familles d'insectes ont ainsi été décrites (Wilson 1978), dont les plus représentées appartiennent aux ordres des Coleoptera, des Diptera, les Hemiptera - Homoptera et des Hymenoptera. Peu de Lepidoptera auraient été retrouvés (Cockerell 1917, 1921).

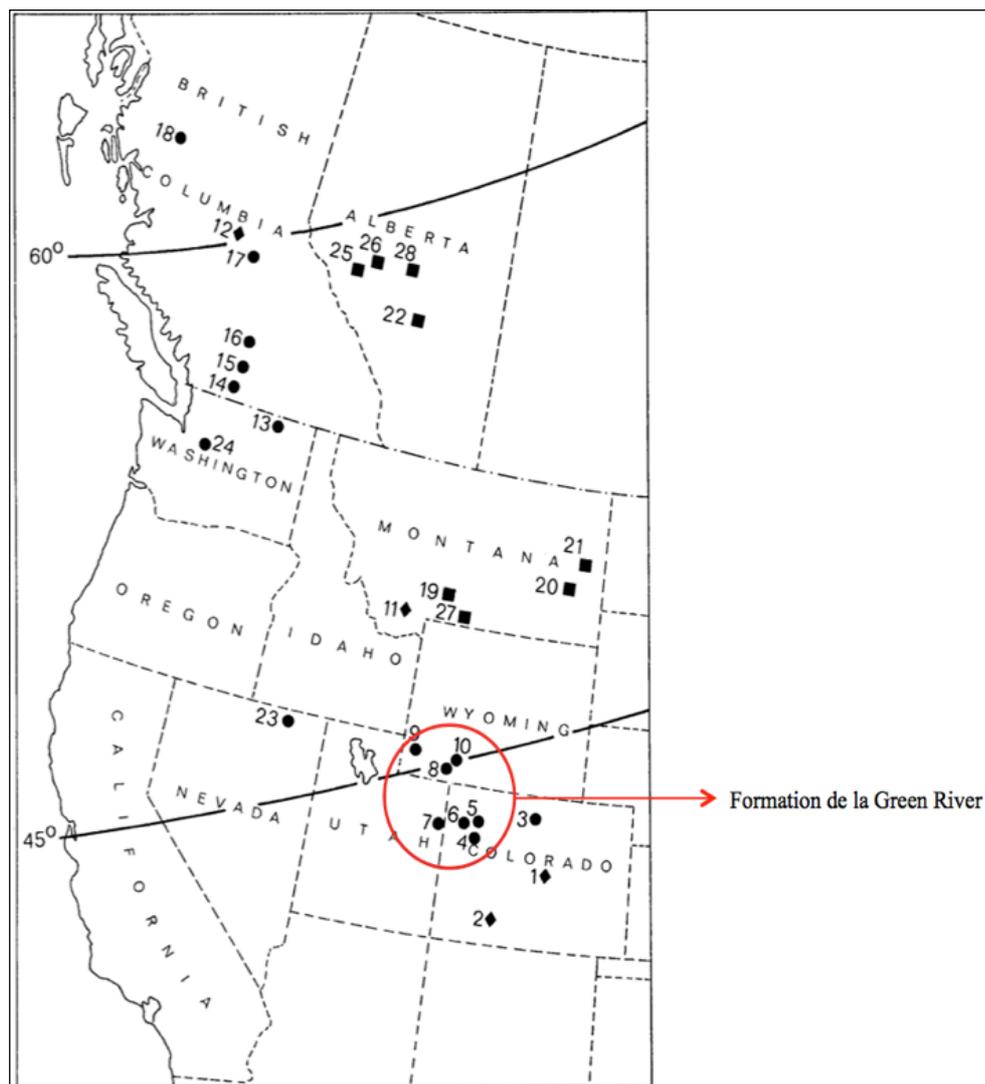


Figure 10 : Distribution des gisements d'insectes du Paléogène dans l'ouest de L'Amérique du Nord. Les carrés représentent les localités du Paléocène, les cercles de l'Eocène, et les losanges de l'Oligocène. Les lignes obliques et épaisses représentent les latitudes reconstituées de l'Eocène (Wilson 1978).

2.2. Description du fossile :

La terminologie morphologique employée pour les ailes et le corps du fossile correspond à celle de Engel (2001a ; Fig. 5, 11 et 12). La description morphologique du fossile a été rédigée en anglais et a été incluse dans un article en vue d'être publié (Annexe 2).

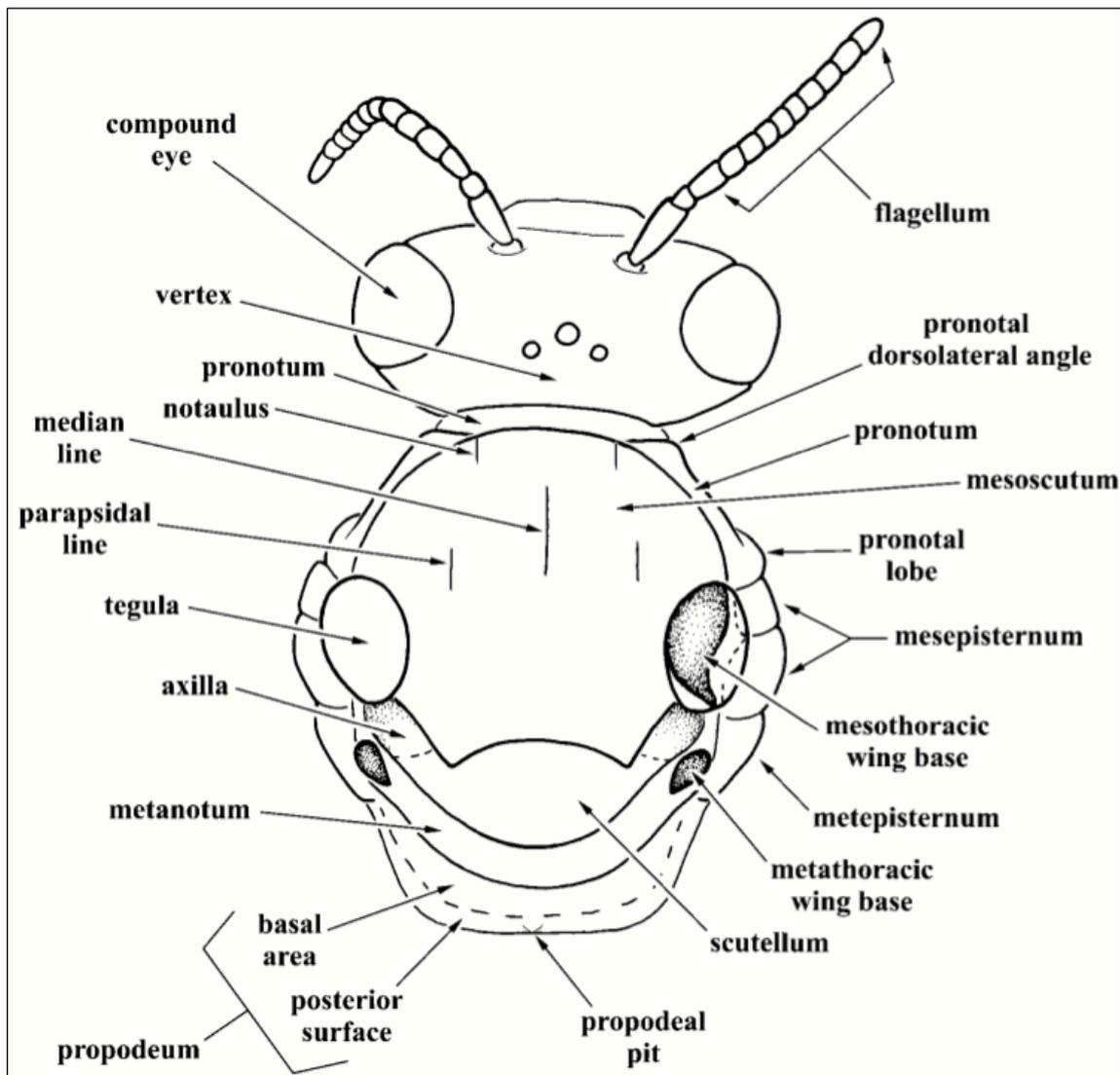


Figure 11 : Représentation de la vue dorsale des prosoma et mesosoma d'une abeille associée à une terminologie morphologique (Engel 2001a).

2.3. Echantillonnage :

Dans le but d'étudier la similarité de la forme de l'aile du fossile d'intérêt, nous avons échantillonné toutes les tribus d'Apoidea possédant trois cellules cubitales sur les ailes antérieures à notre disposition. L'échantillonnage a inclus idéalement 5 spécimens par espèce et 4 espèces par tribu, ce qui correspond à 20 spécimens par tribu. Le spécimen fossile étudié étant une femelle, tous les autres spécimens ayant été échantillonnés sont des femelles. En effet, cela a permis d'éviter un éventuel biais lié au dimorphisme sexuel (Pretorius 2005 ; Rattanawanee *et al.* 2010). De plus, l'aile antérieure gauche du fossile étant plus préservée que la droite, l'échantillonnage n'a concerné que des ailes antérieures gauches.

Au vu de la disponibilité du matériel biologique, ces conditions n'ont pas pu être réunies pour tous les groupes échantillonnés. Au total, 545 spécimens ont été rassemblés. Le nombre de spécimens considérés par tribu est détaillé dans le Tableau 1. Cet échantillonnage couvre 144 espèces, 99 genres, 46 tribus, 20 sous-familles et 9 familles d'Apoidea dont 6 familles d'Apiformes (Andrenidae, Apidae, Colletidae, Halictidae, Megachilidae et Melittidae) et 3 familles de Sphéciformes sur les 4 connues (Ampulicidae, Crabronidae et Sphecidae) (Danforth *et al.* 2013). Ces 3 dernières familles ont servi de groupe de comparaison dans les analyses statistiques. Effectivement, il permettra de vérifier que le fossile étudié fait bien partie du groupe des abeilles (Apoidea Apiformes) et non des guêpes sphécides (Apoidea Sphéciformes). Le terme « outgroup » n'est donc pas d'application ici, ce terme faisant référence à un concept phylogénétique. Ainsi, les guêpes sphécides sont un groupe de comparaison faisant partie intégrante du jeu de données de la présente étude.

Les spécimens contemporains collectés proviennent des collections entomologiques suivantes, visitées au cours de l'année académique 2012-2013 :

- Le Laboratoire de Zoologie de l'Université de Mons (Belgique) ;
- Le Département d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive de l'Université de Liège (Belgique) ;
- Le Musée Royal de l'Afrique Centrale de Tervuren (Belgique) ;
- Le Musée de l'Institut Royal des Sciences Naturelles (IRSNB, Bruxelles, Belgique).
- Le Département d'Entomologie du Natural History Museum (NHM, Londres, Royaume-Uni) ;
- Le Département d'Entomologie du Naturalis Biodiversity Center (NBC, Leiden, Pays-Bas).

Les spécimens fossiles qui ont été considérés dans le jeu de données sont détaillés ci-dessous. Ces espèces (possédant trois cellules submarginales) ont été choisies en raison de la bonne qualité des photos ou des dessins disponibles. De plus, ces espèces nous ont permis de vérifier la concordance de leur attribution taxonomique grâce à leur description morphologique avec leur analyse par morphométrie géométrique.

- *Bombus randeckensis* (Apidae, Apinae, Bombini) (Wappler *et al.* 2012) ;
- *Electrapis meliponoïdes* (Apidae, Apinae, Electrapini) (Engel 2001a) ;
- *Electrapis krishnorum* (Apidae, Apinae, Electrapini) (Engel 2001a) ;
- *Protobombus basilaris* (Apidae, Apinae, Electrapini) (Engel 2001a) ;
- *Protobombus hirsutus* (Apidae, Apinae, Electrapini) (Engel 2001a) ;
- *Thaumastobombus andreniformis* (Apidae, Apinae, Electrapini) (Engel 2001a) ;
- *Electrobombus samlandensis* (Apidae, Apinae, Electrobombini) (Engel 2001a) ;
- *Melikertes stilbonotus* (Apidae, Apinae, Melikertini) (Engel 2001a) ;
- *Melissites trigona* (Apidae, Apinae, Melikertini) (Engel 2001a) ;
- *Succinapis goeleti* (Apidae, Apinae, Melikertini) (Engel 2001a) ;
- *Electrolictus antiquus* (Halictidae, Halictinae, Thrinchostomini) (Engel 2001a ; De Meulemeester *et al.* 2012) ;
- *Halictus petrefactus* (Halictidae, Halictinae, Halictini) (Engel 2001a ; De Meulemeester *et al.* 2012).

Tableau 1 : Echantillonnage des tribus et familles d'Apoidea utilisé pour les analyses. En considérant le fossile d'intérêt, le jeu de données atteint 546 spécimens.

	Famille	Sous-famille	Tribu	N.	
Apiformes	ANDRENIDAE	Andrenidae		5	
		Oxaeinae		4	
		Panurginae	Melitturgini	6	
	Protandrenini		4		
	APIDAE	Apinae	Ancylini	16	
			Anthophorini	20	
			Apini	20	
			Bombini	15 + 1†	
			Centridini	20	
			Electrapini †	6	
			Electrobombini †	1	
			Emphorini	18	
			Ericrocidini	20	
			Eucerini	20	
			Euglossini	20	
			Exomalopsini	4	
			Melectini	19	
			Melikertini †	3	
			Osirini	5	
			Rhathymini	5	
			Tapinotaspidini	5	
			Tetrapedini	5	
			Nomadinae	Epeolini	7
				Nomadini	20
	Xylocopinae	Ceratinini	20		
		Xylocopini	20		
	COLLETIDAE	Colletinae	Colletini	19	
			Paracolletini	5	
		Diphaglossinae	Caupolicanini	14	
			Diphaglossini	3	
	HALICTIDAE	Halictinae	Augochlorini	20	
			Caenohalictini	20	
			Halictini	20 + 1†	
Sphecodini			20		
Thrinchostomini		13 + 1†			
Nomiinae			17		
Nomioidinae			10		
Rophitinae		5			
MEGACHILIDAE	Fideliinae	Fideliini	8		
MELITTIDAE <i>S.L.</i>	Meganomiinae		10		
	Melittinae	Melittini	20		
Sphéciformes	AMPULICIDAE	Ampulicinae	Ampulicini	10	
	CRABRONIDAE	Larrinae		5	
		Philanthinae		5	
	SPHECIDAE	Ammophilinae		5	
Sphecinae			5		
Total = 545					

2.4. Acquisition des données :

Photographie des ailes

Les ailes antérieures gauches des spécimens collectés ont été détachées ou coupées au niveau des tegulae pour être photographiées. Le système de capture des photos est composé de binoculaires Olympus SZH10 associées à un appareil photo Nikon D70. Pour la capture des photographies, les ailes ont été placées entre deux lames de microscopie dont celle du bas a été associée à un papier millimétré dans le but d'obtenir une échelle (Fig. 13). Ces deux lames ont été maintenues l'une contre l'autre grâce à de petites pinces. Cela a permis d'éviter le moindre biais lié à une éventuelle déformation tridimensionnelle de l'aile (torsion, ondulation). Le tout a été placé sur un support en mousse, ce qui a permis la stabilité du montage (Fig. 14). Les photographies ont été réalisées directement sur les individus. Les ailes ont été placées perpendiculairement par rapport aux corps des insectes.

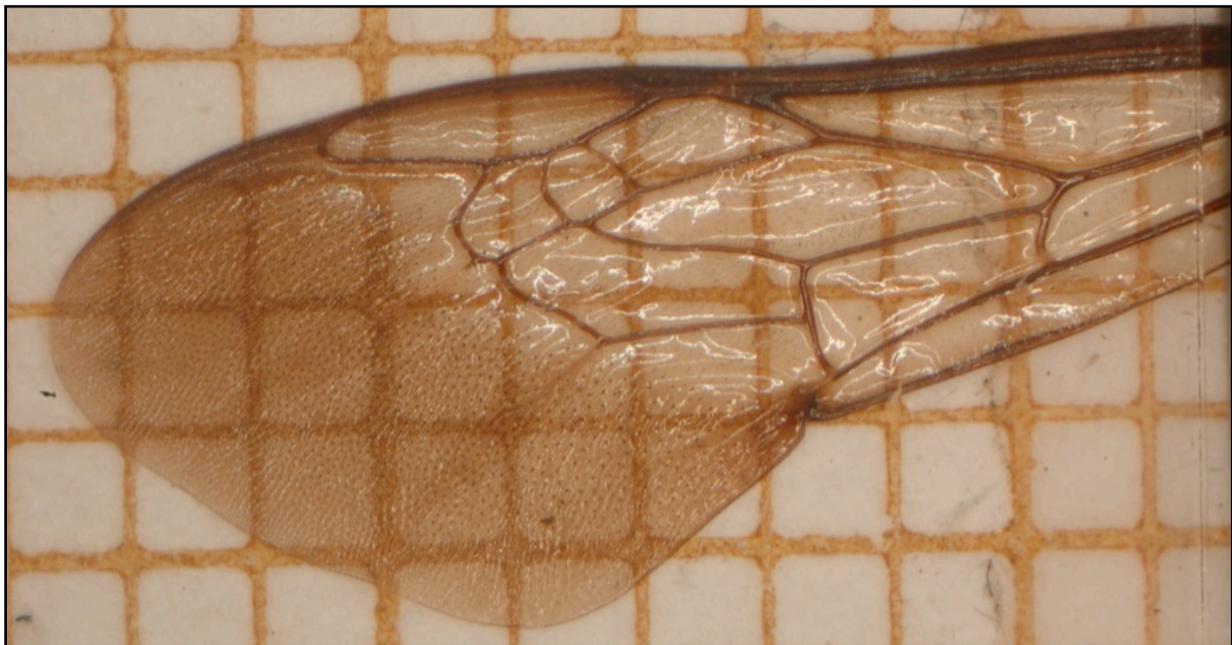


Figure 13 : Photographie de l'aile antérieure gauche d'un individu femelle de *Thalestria smaragdina* (Apidae, Nomadinae, Epeolini) placée entre deux lames de microscope (Photographie : M. Dehon).



Figure 14 : Placement des deux lames sur le support en mousse (Photographie : D. Michez).

Les différentes manipulations ont été réalisées en grande partie par le même expérimentateur, M. Dehon. Une minorité des photographies a été réalisée par D. Michez, T. De Meulemeester et A. Dewulf. Le même appareillage et les mêmes paramètres de photographie ont été utilisés (zoom, luminosité, etc.) par les quatre expérimentateurs, ce qui a permis de réduire les biais et les erreurs de mesures. En ce qui concerne les grands spécimens, un zoom inférieur a été utilisé. Dans la même logique, un zoom supérieur a été utilisé dans le cas des petits spécimens.

Digitalisation et positionnement des landmarks :

Les photos réalisées dans le point précédent ont été compilées dans un fichier TPS (« thin-plate splines ») grâce au logiciel tpsUtil (Rohlf 2010).

La technique basée sur les *landmarks* est celle ayant été utilisée dans la présente étude. Un *landmark* est un point repère pour lequel la position est homologue entre objets de même nature. Pour les objets biologiques, des points correspondant à des positions anatomiques comparables entre objets sont des *landmarks* anatomiques. Ceux-ci sont homologues si l'origine anatomique, embryologique ou historique est similaire.

De façon idéale, les *landmarks* sont définis comme étant : (1) des loci anatomiques homologues dont (2) les positions relatives sont cohérentes, (3) qui expriment de manière adéquate la morphologie d'une structure, (4) dont les positions relatives sont répétées pour des objets de même nature et (5) qui se situent dans le même plan (Zelditch *et al.* 2004).

D'après la typologie de Bookstein (1991), il existe trois catégories de *landmarks* (Fig. 15) :

- Type 1 : *landmarks* correspondant à une juxtaposition discrète de tissus, ou de structures suffisamment petites pour être définies comme étant un seul point. Ils constituent les *landmarks* les plus faciles à localiser et les plus fiables, et sont les seuls *landmarks* ayant une véritable origine homologue ;
- Type 2 : *landmarks* correspondant à un maximum de courbures. Ils sont définis par le sommet d'une évagination ou par la base d'une invagination. Ils possèdent moins de signification d'un point de vue homologie par rapport à la première catégorie ;
- Type 3 : *landmarks* correspondant à des points extrêmes. Cette catégorie est moins utilisée que les deux autres.

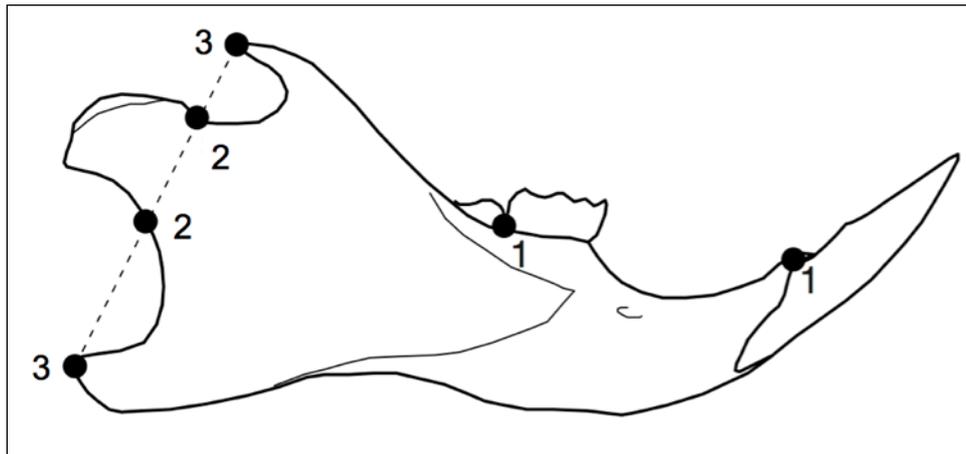


Figure 15 : les trois catégories de *landmarks* illustrés sur une mâchoire de souris (d'après Claude 2008).

Visualiser des différences de forme est plus facile à interpréter en examinant directement les positions relatives des *landmarks* plutôt que d'examiner une combinaison de mesures linéaires de distances, d'angles, et de ratios. En effet, les coordonnées des *landmarks* contiennent la plus riche information géométrique disponible dans tout objet. Une configuration est définie comme étant une collection de coordonnées de *landmarks* dans tout objet. L'importance de cette technique ne réside pas dans le nombre de *landmarks* utilisés mais dans la forme que ces derniers expriment, capturent (Claude 2008).

Voici ci-dessous un exemple d'application de la méthode des *landmarks* dans le cadre d'une analyse par morphométrie géométrique appliquée à la famille des Halictidae :

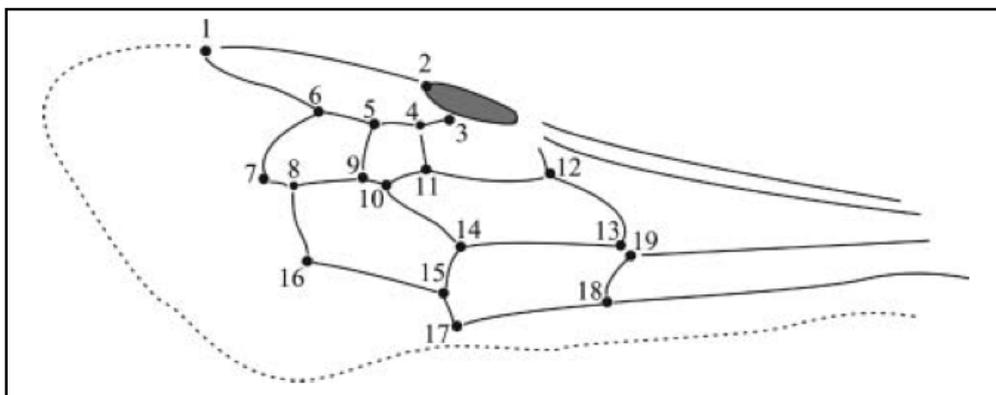


Figure 16 : aile antérieure gauche d'un individu femelle d'Halictinae, avec le positionnement de 19 *landmarks* (De Meulemeester *et al.* 2012).

Dans la présente étude, l'analyse par morphométrie géométrique est ainsi basée sur les coordonnées cartésiennes bidimensionnelles de 18 *landmarks* dont les positions relatives sont représentées dans la Figure 17. Les *landmarks* sont positionnés aux intersections ou aux extrémités des veines alaires car ces structures sont rigides et situées dans un même plan, ce qui facilite l'analyse (Ross 1936). La position et la typologie de chaque *landmark* est définie dans le Tableau 2. La numérisation des coordonnées cartésiennes en deux dimensions des *landmarks* a été réalisée par le même expérimentateur (M. Dehon) grâce au programme tpsDig (Rohlf 2006).

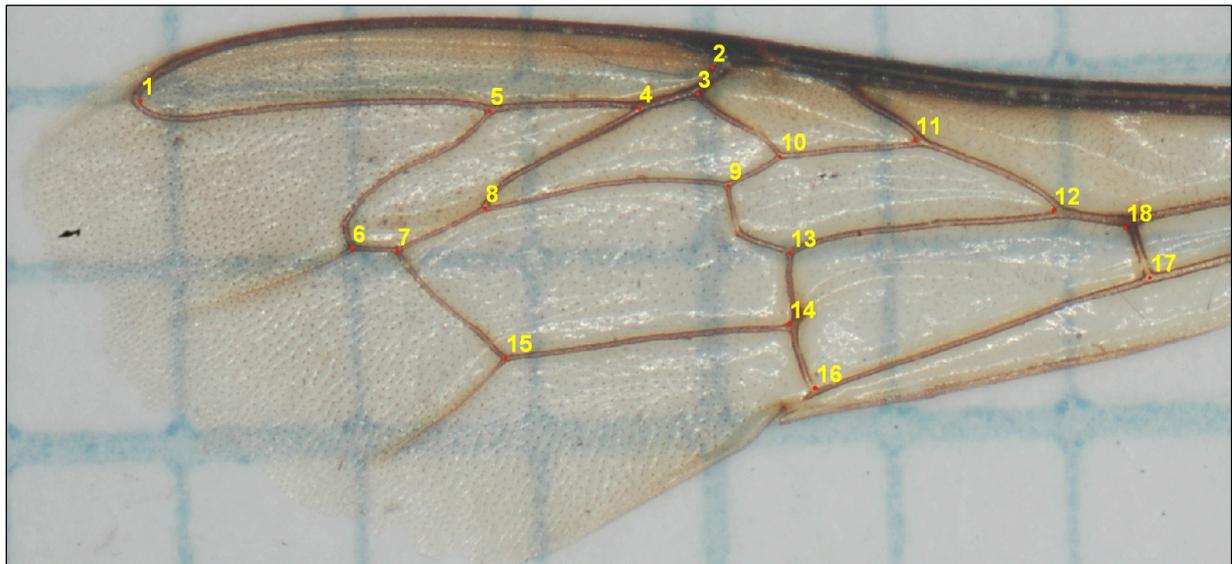


Figure 17 : Positions relatives des 18 *landmarks* sur l'aile antérieure gauche de *Apis mellifera* (Apidae, Apinae, Apini) (Photographie : M. Dehon).

Tableau 2 : positionnement et typologie des 18 *landmarks* de l'aile antérieure gauche définie par Owen (2012).

Landmark	Définition	Type
1	Point interne positionné le plus à gauche de la cellule marginale	II
2	Point interne positionné le plus à droite de la cellule marginale	II
3	Point positionné à l'intersection de la nervure Rs avec la 2 ^{ème} abscisse de la nervure Rs	I
4	Point positionné à l'intersection de la nervure Rs avec la nervure 1rs-m	I
5	Point positionné à l'intersection de la nervure Rs avec la nervure 2rs-m	I
6	Point positionné à l'intersection de la nervure M avec la nervure 2rs-m	I
7	Point positionné à l'intersection de la nervure M avec la nervure 2m-cu	I
8	Point positionné à l'intersection de la nervure 1rs-m avec la nervure M	I
9	Point positionné à l'intersection de la nervure 1m-cu avec la nervure M	I
10	Point positionné à l'intersection de la 2 ^{ème} abscisse de la nervure Rs avec la nervure M+Rs	I
11	Point interne positionné le plus en bas à droite de la 1 ^{ère} cellule submarginale	II
12	Point interne positionné le plus en bas à droite de la 1 ^{ère} cellule médiale	II
13	Point positionné à l'intersection de la nervure Cu avec la nervure 1m-cu	I
14	Point interne positionné le plus en bas à droite de la 2 ^{ème} cellule médiale	II
15	Point positionné à l'intersection de la nervure Cu avec la nervure Cu1	I
16	Point interne positionné le plus en bas à gauche de la 2 ^{ème} cellule cubitale	II
17	Point positionné à l'intersection de la nervure A avec la nervure cu-a	I
18	Point interne positionné le plus en haut à droite de la 2 ^{ème} cellule cubitale	II

Superimposition des coordonnées cartésiennes

L'étape suivante de l'acquisition des données consiste en une superimposition des coordonnées bidimensionnelles cartésiennes des *landmarks* digitalisés. Une superimposition correspond à la superposition des configurations des *landmarks* des différentes photos digitalisées les unes sur les autres grâce à des méthodes mathématiques qui n'altèrent en aucun cas la forme des objets considérés. La superimposition élimine l'effet de translation, de rotation et de taille pour chaque objet considéré, afin de correspondre à la définition de la forme selon Kendall (1977). Différentes méthodes de superimposition existent. Celle utilisée dans la présente analyse est la méthode Procruste GLS (Generalized Least Squares) (Bookstein 1991).

La méthode GLS minimise les différences entre les configurations de *landmarks* homologues en utilisant comme critère la distance Procruste (dP). La dP correspond à la somme des distances au carré entre les *landmarks* correspondants :

$$d_{xy} = \sqrt{\sum_{i,j}^{k,p} (X_{ij} - Y_{ij})^2}$$

Figure 18 : formule de la distance Procruste (Dp).

En résumé, la GLS consiste dans un premier temps en (1) un calcul du centroïde de chaque configuration de *landmarks*, (2) une superposition au niveau des centroïdes des différentes configurations de *landmarks* et (3) une minimalisation des dP entre les *landmarks* homologues (Fig. 19) (Zelditch *et al.* 2004).

La superimposition a été réalisée grâce au logiciel IMP CoordGen6 (Sheets 2003).

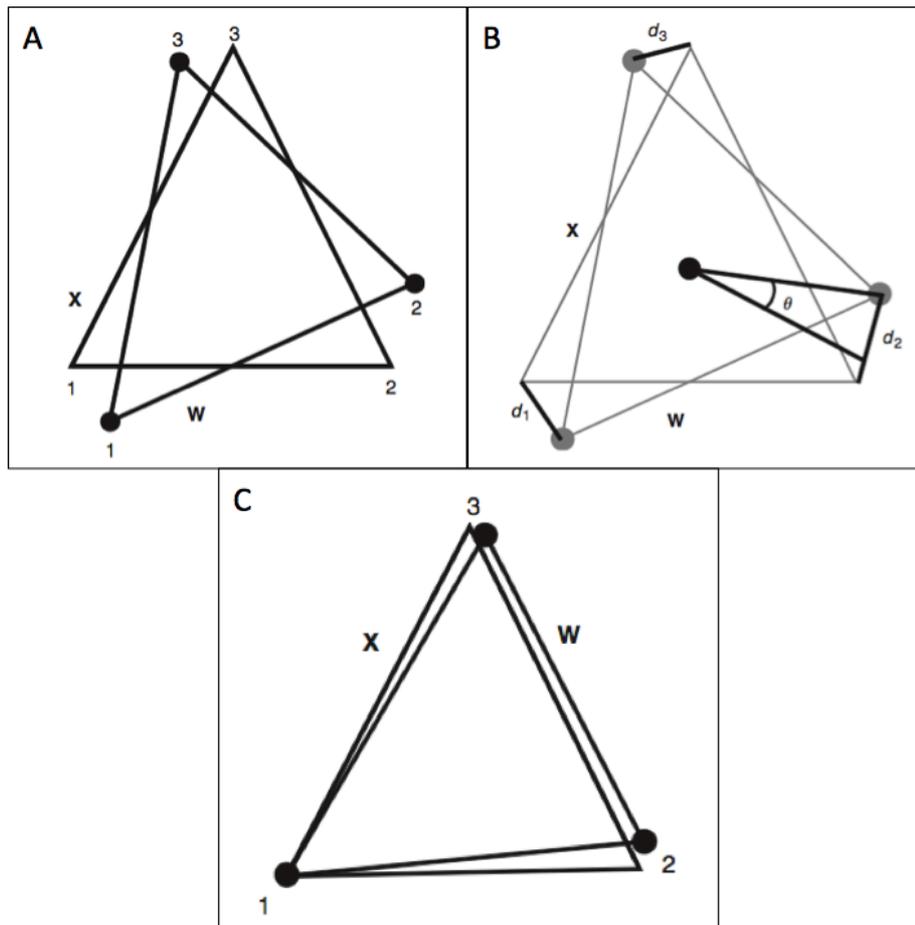


Figure 19 : les trois principales étapes de la GLS illustrées avec l'exemple de deux triangles. (1) Superposition des configurations de *landmarks* selon les centroïdes ; (2) Calcul des D_p minimales entre les *landmarks* homologues ; (3) Superimposition terminée (Zelditch *et al.* 2004).

2.5. Analyses statistiques :

« *Relative warps analysis* » (RWA)

Les différents *landmarks* d'une structure sont liés entre eux, et cette relation définit la forme d'une structure. Si la position d'un seul *landmark* d'un objet change, cela affecte la position des autres *landmarks*. Afin de visualiser ces changements d'un point de vue global, les coordonnées cartésiennes de tous les *landmarks* sont placées sur un quadrillage (« thin-plate splines »). Les variations de position entraînent une déformation de cette grille. La représentation en quadrillage est souvent utilisée en morphométrie. La RWA est une variante particulière de l'analyse en composante principale (ACP) qui prend en compte l'inter-relation entre les landmarks. Les composantes principales d'une ACP sont définies à partir des variables indépendantes. Les vecteurs de ces variables sont affichables en un graphique, ce qui permet de visualiser l'influence des variables sur les axes des composantes principales. Les « relative warps » quant à elles ne représentent pas les variations des coordonnées des *landmarks*. Elles représentent un changement global de la forme. Les « relative warps » ne sont donc pas caractérisées par les vecteurs des variables, mais par la déformation du quadrillage sur lequel sont positionnées les *landmarks*. Lors d'une RWA, les variables sont pondérées par la matrice d'énergie de déformation (« bending energy matrix ») qui représente le niveau de déformation par rapport à la grille consensuelle. L'énergie est moindre lorsqu'un ensemble de *landmarks* effectue un déplacement commun que lorsqu'un seul *landmark* effectue un long déplacement alors que ceux qui l'entourent ne se déplacent presque pas (Zelditch *et al.* 2004). Ainsi, dans les analyses basées sur la morphométrie géométrique de la forme des ailes, les distances relatives entre les individus représentent la similarité de la forme des ailes et non la proximité phylogénétique. En effet, les analyses réalisées dans le présent mémoire sont des analyses phénétiques, basées sur la similarité du caractère étudié et non sur les liens de parentés (analyses phylogénétiques).

Dans le cadre du présent mémoire, la RWA a été utilisée dans le but de visualiser la variabilité de l'entièreté du jeu de données. En effet, la RWA a permis de mettre en évidence les différences entre les individus.

La RWA a été réalisée avec le logiciel IMP PCAGen6p (Sheets 2005).

Analyse Canonique de la Variance (ACV)

L'ACV est une méthode statistique d'ordination qui permet également de décrire la variabilité des formes d'un échantillonnage. Comparativement à l'Analyse en Composantes Principales (ACP), qui est un outil permettant de simplifier la description de la variation entre individus, l'ACV consiste en un outil simplifiant les descriptions des différences entre groupes d'individus. Un groupe est défini comme étant un ensemble d'individus qui partagent un état particulier d'une caractéristique discontinue (Zelditch *et al.* 2004). Cette analyse génère de nouvelles variables qui sont des combinaisons des variables originales. Comme l'ACP, elle produit des résultats individuels qui sont affichables sous forme d'un graphique et qui permettent ainsi d'observer visuellement des patterns. Le nouveau système de coordonnées généré est appelé « variables canoniques » (VCs). Les positions des individus le long des axes (= coordonnées des individus dans le système d'axes) sont créés sur ses axes pour tous les individus de l'analyse. Par définition, l'ACV permet de mettre en évidence des différences inter-groupes. Ainsi, l'ACV permettra de vérifier le caractère diagnostique de la forme des ailes. L'ACV est une méthode forçant la séparation visuelle de groupes différents, à condition que le caractère utilisé soit suffisamment diagnostique. En d'autres termes, cette méthode nous permet de vérifier la viabilité du caractère utilisé.

Dans le cadre du présent mémoire, l'ACV a été utilisée dans le but de discriminer les différents groupes d'Apoidea ainsi que pour attribuer le spécimen fossile d'intérêt à un groupe contemporain.

L'ACV a été réalisée avec le logiciel IMP CVA Gen60 (Sheets 2005).

Table d'assignement

Conjointement à cette analyse discriminante (ACV), une approche basée sur les distances de Mahalanobis par rapport à la centroïde (moyenne) des groupes déterminés « a priori » dans l'ACV, permet de déterminer à quel groupe des spécimens considérés comme inconnus appartiennent. Cette méthode consiste en un tableau d'assignement dans lequel les spécimens inconnus sont attribués au groupe considéré comme le plus proche sur base des distances de Mahalanobis. Une p-value est attribué à chaque assignement. Celle-ci exprime la probabilité de l'assignement d'un spécimen inconnu à un groupe. Si la valeur de la p-value est supérieure à 5%, l'assignement est statistiquement fiable, tandis que si la valeur de la p-value est inférieure à 1%, l'assignement à ce groupe est statistiquement non fiable.

La table d'attribution a été réalisée avec le logiciel IMP CVA Gen60 (Sheets 2005).

Méthodes de groupement

Les méthodes de groupement (clustering) permettent d'inférer des structures de groupement entre des observations dans un jeu de données morphométriques. Les arbres obtenus sont appelés phénétiques. En effet, ces derniers se basent sur des similarités et non sur des liens de parentés (arbres phylogénétiques).

Les groupements entre groupes d'individus (familles, sous-familles et tribus) ont ici été réalisés par la méthode du neighbour joining (NJ) sur base des distances de Mahalanobis. Les clusters ont été réalisés grâce au logiciel R-2.15.1. (R Development Core Team, Vienne, Autriche).

3. RÉSULTATS

3.1. Description du fossile

La description du fossile d'intérêt fait l'objet d'une publication scientifique rédigée en anglais en vue d'être soumise dans une revue internationale avec comité de lecture. Voici ci-dessous la description morphologique du spécimen traduite en français. L'article en question est disponible dans l'Annexe 2 du présent mémoire.

Paléontologie systématique

- Famille : Apidae Latreille 1802 ;
- Sous-famille : Apinae Latreille 1802 ;
- Tribu : *Incertae sedis*. Groupe couronne des tribus contemporaines de corbiculés (Apini, Bombini, Euglossini et Meliponini).

Genre *Paleoeglossa* Dehon gen. nov.

- Espèce type : *Paleoeglossa biesmeijeri* ;
- Étymologie : du grec ancien « palaiós », « ancien » en français.

Diagnose générique

- Femelle : Possède un petit ptérostigma. Possède également trois cellules submarginales, dont la première est plus longue que la deuxième.
- Mâle : Inconnu.

Paleoeglossa biesmeijeri De Meulemeester & Michez sp. nov.

- Holotype : Département d'Entomologie (Paléontologie), Musée d'histoire naturelle, Département d'Ecologie et de Biologie Evolutive, 1501 Crestline Drive – Suite 140, Université du Kansas, Lawrence, Etats-Unis ;
- Étymologie : Nommé d'après le Dr. Jacobus C. Biesmeijer, directeur scientifique au Naturalis Biodiversity Center (NBC; Leiden, NL), Département de Zoologie Terrestre.
- Localité et strate : Eocène, gisement de schiste, Parachute creek Member, formation de la Green River, Bassin d'Uinta, Utah, Etats-Unis ;
- Diagnose de l'espèce : se référer à la diagnose du genre.

Description du spécimen

Individu femelle : vue dorsale.

Prosoma :

Non disponible.

Mesosoma :

Longueur de 4,00 mm, largeur de 2,00 mm (mesurée entre les tegulae). Tegulae visibles. La moitié du mesoscutum est visible, sa longueur étant de 1,66 mm. Le scutellum est visible, sa longueur est de 0,09 mm. Le metanotum est visible, sa longueur est de 0,32 mm. Le propodeum est visible, sa longueur est de 1,56 mm. Le propodeal pit est également visible. Le mesosoma possède une pilosité courte et éparse, présente uniquement sur le mesoscutum et le scutellum, sur toute leur surface.

Pattes :

Pattes antérieures non visibles. Patte moyenne gauche visible (incomplète) : mesofemur long de 2,49 mm ; mesotibia long de 1,75 mm (incomplet). Patte moyenne droite visible (incomplète) : mesofemur long de 2,57 mm, mesotibia long de 2,14 mm, metatarsus long de 2,53 mm, mesobasitarsus long de 1,91 mm et large de 0,26 mm, première partie du

mesomediotarsus longue de 0,68 mm et large de 0,13 mm. Le mesobasitarsus est plus court que le mesotibia. Patte postérieure gauche visible (incomplète) : metacoxa long de 0,32 mm (incomplet), metatrochanter long de 0,46 mm (incomplet), fémur long de 1,30 mm (incomplet), tibia long de 4,23 mm (incomplet). Metatibia modifié en une corbicula (=corbeille). Patte postérieure droite visible (incomplète) : metacoxa long de 0,31 mm (incomplet), metatrochanter long de 0,39 mm (incomplet).

Pilosité : présente sur les metatrochanters, les mesofemurs, les mesotibiae, le metafemur et le metatibia. Ponctuation noire à la base des poils. La même ponctuation noire est présente sur les metatrochanters.

Ailes antérieures :

Ailes antérieures présentes, 8 mm de longueur. Trois cellules submarginales présentes : la première cellule submarginale possède une longueur de 1.23 mm (mesurée à partir de l'origine de la veine M + Rs jusqu'à la jonction entre les veines r-rs et Rs) et une largeur de 0,47 mm (mesurée à partir de la veine M + Rs jusqu'au pterostigma) ; la deuxième cellule submarginale possède une longueur de 0,99 mm (mesurée à partir de la jonction entre les veines M + Rs et M jusqu'à la jonction entre les veines Rs et 1rs-m) et une largeur de 0,43 mm (mesurée à partir du point central de la partie de la veine M délimitée entre les veines 1m-cu et 1rs-m jusqu'à la jonction entre les cellules r-rs et Rs) ; la troisième cellule submarginale possède une longueur de 0,84 mm (mesurée à partir de la jonction entre les veines 1rs-m et M jusqu'à la jonction entre les veines M et 2rs-m) et une largeur de 0,41 mm (mesurée à partir de la jonction entre les veines M et 2m-cu jusqu'à la jonction entre les veines 2rs-m et Rs).

La première cellule médiane possède une longueur de 2,47 mm (mesurée à partir de la jonction entre les veines M+Cu et la jonction entre les veines 1m-cu et M) et une largeur de 0,68 mm (mesurée à partir de la jonction entre M et M + Rs jusqu'au point central de la partie de la veine Cu délimitée entre les veines M + Cu et 1m-cu). Le pterostigma est petit, sa taille est de 0,2 mm. La cellule marginale possède une longueur de 2,04 mm et son apex pointe. La veine 2 m-cu n'est pas entièrement visible. La veine 1m-cu rejoint la deuxième cellule submarginale au niveau de l'apex de cette dernière. La première abscisse de la veine alaire Rs est droite et possède une longueur de 1,39 mm. Les tegulae sont aussi longs que larges.

Ailes postérieures :

Non disponibles.

Metasoma :

Longueur de 5,43 mm, largeur de 4,67 mm. Incomplet, d'apparence glabre.

Individu mâle : inconnu.

Position de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. au sein des Apoidea

Paleoeglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. est vraisemblablement un Anthophila (abeille) car elle possède des poils branchés et un large mesobasitarsus.

Position de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. au sein des Anthophila

Paleoeglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. possède trois cellules submarginales, suggérant que cette espèce n'est probablement pas un Xeromelissinae, un Hylaeinae, un Euryglossinae (Colletidae), un Dasypodainae (Melittidae), un Megachilinae (Megachilidae) ou un certain nombre d'autres groupes dans la famille des Apidae : Allodapini (Xylocopinae), Ammobatoidini, Biastini, Townsendiellini, Neolarrini, Ammobatini, Caenoprosopidini (Nomadinae), Ctenoplectrini (Apinae).

Paleoeglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. possède des poils et des structures de récolte du pollen, suggérant que cette espèce n'est probablement pas cleptoparasite comme les groupes suivants : la famille des Halictidae, sous-famille des Halictinae (tribu des Halictini (genres *Echtralictus*, *Eupetersia*, *Sphecodes*, *Halictus* (*Paraseladonia*), *Lasioglossum*, *Dialictus*, *Paradialictus*, *Microsphecodes*, *Parathrincostruma*, *Ptilocleptis*)); la famille des Apidae, l'ensemble de la sous-famille des Nomadinae, sous-famille des Apinae (tribus des Rhatymini, des Ericrocidini, des Melectini, des Isepeolini, des Protepeolini, des Osirini, des Tetrapediini (genus *Coelioxoides*), et la tribu des Euglossini (pour les genres *Exaerete* and *Aglae*)).

Paleoeglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. possède un petit pterostigma et un mesobasitarsus plus court que le mesotibia, suggérant qu'il ne s'agit pas d'un Xylocopinae (Apidae).

Paleoeglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. présente une morphologie corporelle rappelant celle des abeilles Anthophoriformes, en d'autres termes une abeille possédant un corps robuste possédant des poils sur le prosoma, le mesosoma et le metasoma.

Paleoeglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. possède un metatibia modifié en une corbicula (corbeille), un organe de récolte du pollen en forme de panier caractérisé par des poils situés sur les bords internes du metatibia et délimitant un espace où le pollen sera récolté. Cet organe est caractéristique du groupe des corbiculés composés de quatre tribus contemporaines (Apini, Bombini, Euglossini et Meliponini) et de trois tribus éteintes (Electrapini, Electrobombini et Melikertini) d'Apinae (Apidae) (Engel 2001a).

***Position de Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. au sein des Apidae, Corbiculés**

Comme dit précédemment, *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. est probablement une espèce éteinte appartenant au groupe des corbiculés. L'espèce d'intérêt présentant une nervation développée sur ses ailes antérieures, elle n'appartient probablement pas à la tribu des Meliponini qui est caractérisée par des individus possédant une nervation réduite voire absente sur les ailes antérieures. La tribu des Apini, quant à elle, est constituée d'individus possédant des cellules submarginales presque quatre fois plus longues que la distance entre l'apex de ladite cellule et le bout de l'aile antérieure, suggérant que le spécimen d'intérêt n'appartiendrait pas à cette tribu.

3.2. Caractère diagnostique de la forme alaire au niveau taxonomique des familles

Cette première partie des analyses a pour objectif de déterminer le caractère diagnostique de la forme des ailes antérieures au niveau taxonomique des familles ainsi que de tester la robustesse du jeu de données grâce à l'attribution de 12 espèces fossiles connues (Engel 2001a ; Wappler *et al.* 2012). Ces analyses sont effectuées sur 532 individus appartenant aux espèces contemporaines échantillonnées, ainsi que sur les 13 spécimens fossiles connus.

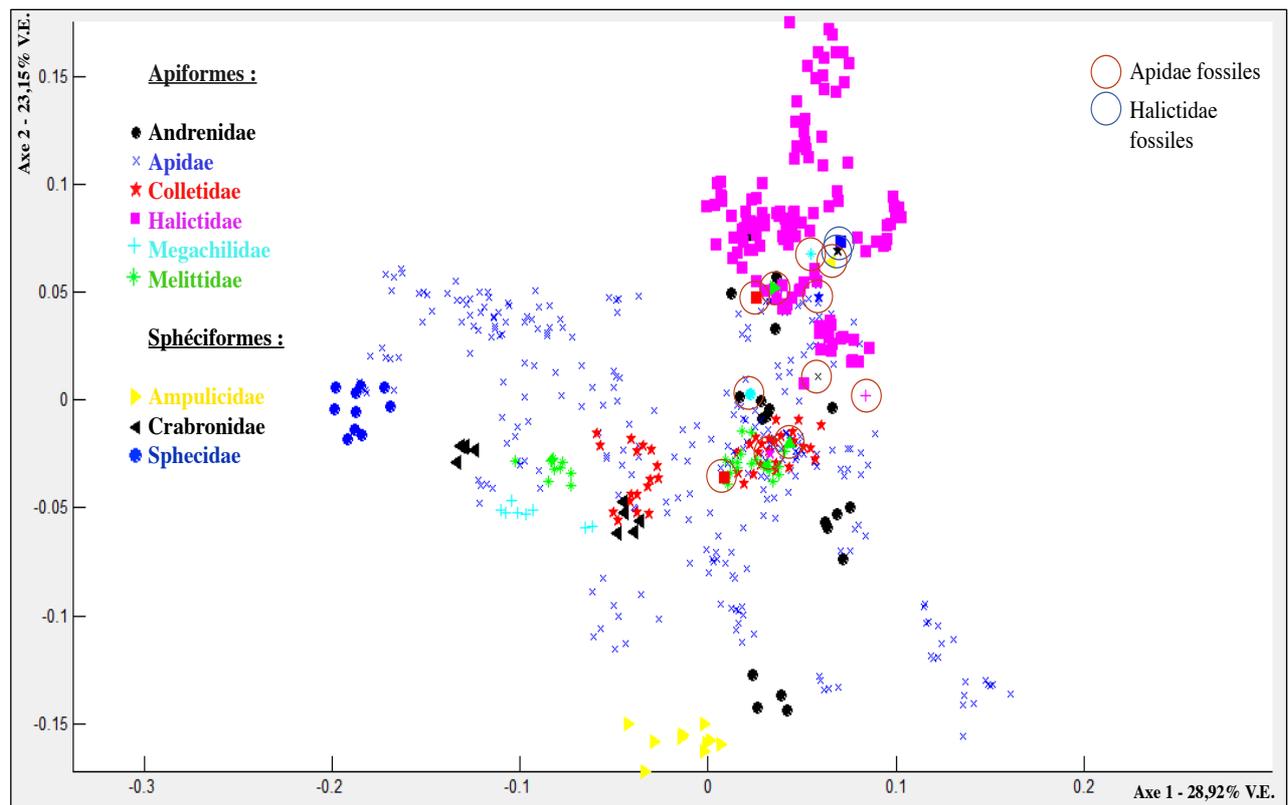


Figure 20 : Représentation des deux premiers axes de la « relative warps analysis ».

Dans les deux premiers axes de la « relative warps analysis » (RWA) calculée sur les 532 individus contemporains d'Apoidea et les 13 spécimens fossiles, les individus appartenant à la même famille sont, dans la plupart des cas, regroupés (Fig. 20). La famille des Apidae affiche une grande diversité de formes alaires, le nuage de points étant plus fortement étendu et étant composé de plusieurs sous-groupes. C'est également le cas pour la famille des Andrenidae. Les familles des Colletidae et des Melittidae sont quant à elles toutes deux divisées en deux groupes. Les fossiles semblent proches des familles des Apidae, des Colletidae, des Melittidae et des Halictidae. L'axe 1 représente 28,92 % de la variance expliquée tandis que l'axe 2 représente 23,15 % de la variance expliquée. 52,08% de la variance totale du jeu de données est

ainsi expliquée par les deux premiers axes, ce qui illustre de façon claire la grande diversité du jeu de données rassemblé.

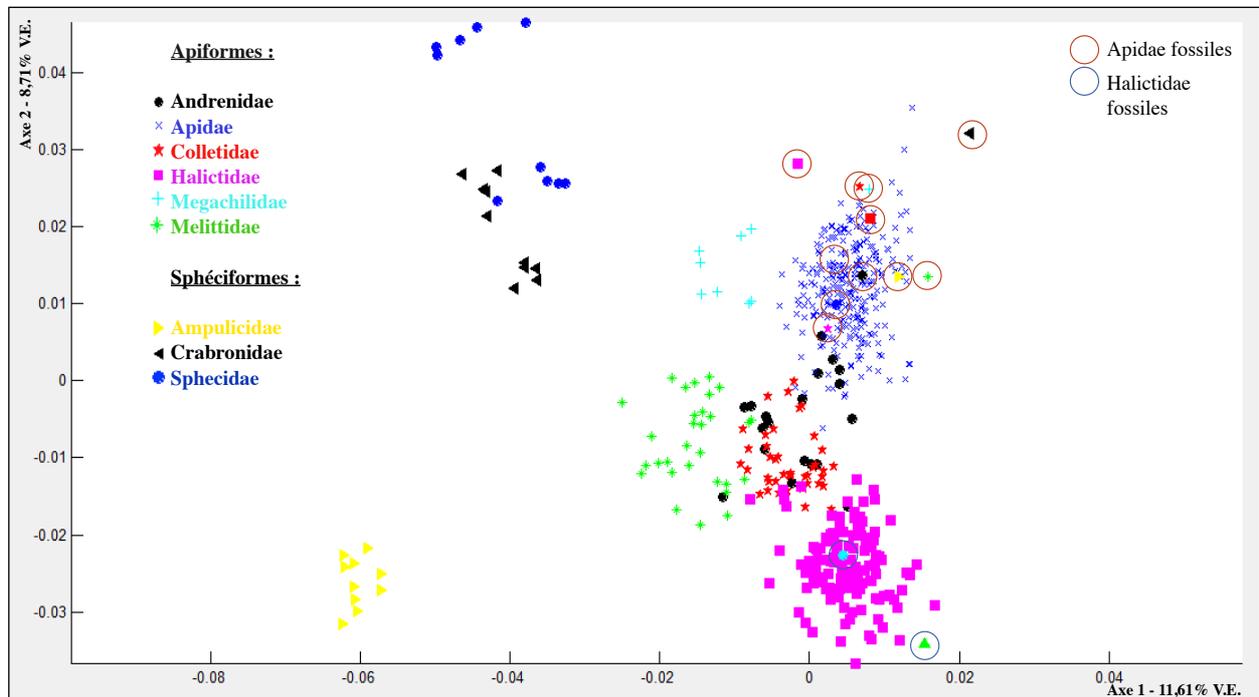


Figure 21 : Représentation des deux premiers axes de l'analyse canonique de la variance.

L'assignement des fossiles et le discrimination entre les 9 familles d'Apidae n'étant pas claire (Fig. 20), une ACV a été réalisée. L'axe 1 représente 11,61 % de la variance expliquée tandis que l'axe 2 représente 8,71 % de la variance expliquée. 20,32% de la variance totale du jeu de données est expliquée par les deux premiers axes, ce qui illustre à nouveau la grande diversité du jeu de données rassemblé. Dans cette ACV, les Apoidea Sphéciformes sont clairement séparés des Apoidea Apiformes (Fig. 21). Les individus appartenant à la même famille sont quant à eux regroupés. Les individus fossiles d'Halictidae et d'Apinae sont proches des spécimens contemporains de ces dernières familles

3.3. Affinités taxonomiques de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n.

*Affinités taxonomiques de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. au sein d'Apoidea*

Dans cette partie des analyses, les 545 individus contemporains et éteints ont été considérés, ainsi que le fossile d'intérêt, *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n.

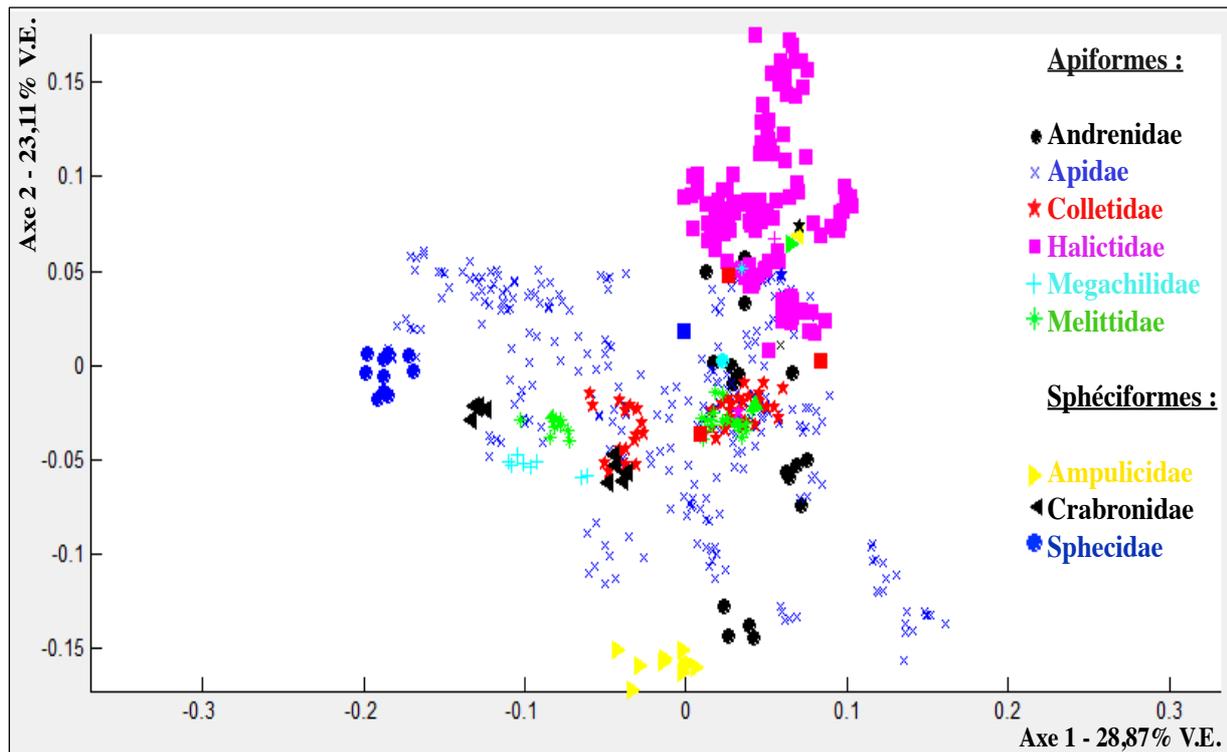


Figure 22 : Représentation des deux premiers axes de la « relative warps analysis ».

Dans cette nouvelle analyse « relative warps analysis », les individus faisant partie de la même famille sont plus ou moins regroupés (Fig. 22). *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. semble être le plus proche de la famille des Apidae (Fig. 22, 23). L'axe 1 représente 28,87 % de la variance expliquée tandis que l'axe 2 représente 23,11 % de la variance expliquée.

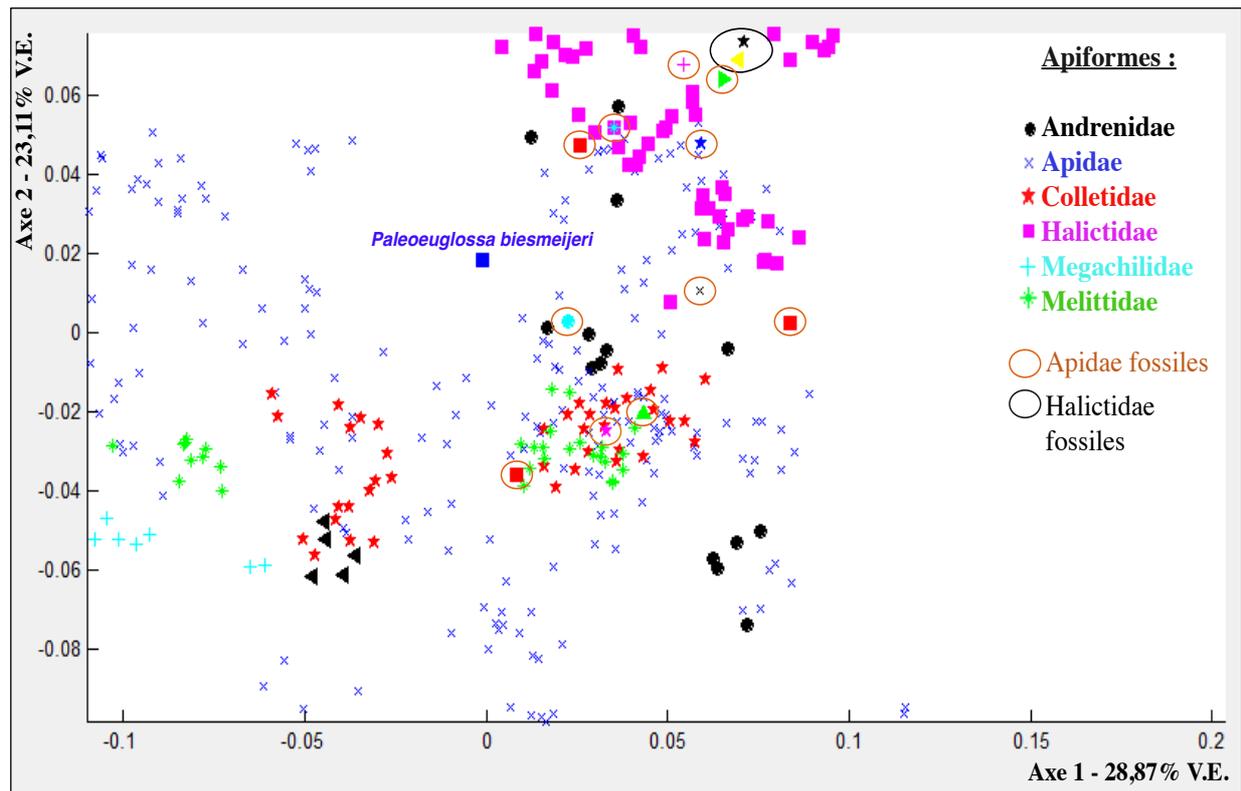


Figure 23 : Zoom sur la représentation des deux premiers axes de la « relative warps analysis » dans le but de mieux visualiser la position des espèces fossiles.

Dans la Figure 23, les individus fossiles d'Halictidae et d'Apinae sont proches des spécimens contemporains de ces dernières familles, tandis que le fossile d'intérêt est présent dans la famille des Apidae. L'axe 1 représente 28,87 % de la variance expliquée tandis que l'axe 2 représente 23,11 % de la variance expliquée.

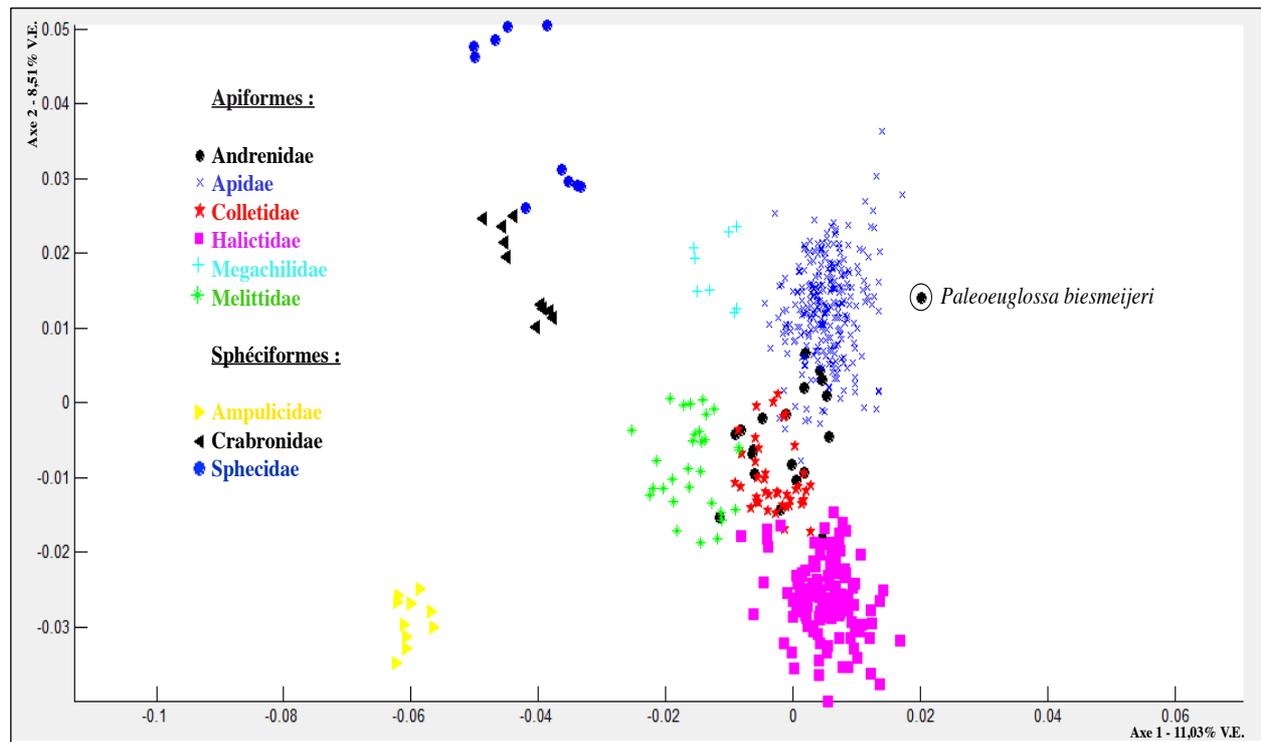


Figure 24 : Représentation des axes 1 et 2 de l'analyse canonique de la variance.

La RWA ne permettant pas de clairement séparer les trois sous-familles d'Apidae (Fig. 22, 23), une ACV dans laquelle les autres spécimens fossiles ont été placés a priori dans leurs familles respectives (Apidae et Halictidae) a été réalisée. Cela permet ainsi de tenir compte de l'espace des formes disparues avec ces espèces. Dans cette ACV, les individus Apiformes et Sphéciformes sont clairement séparés, tandis que les individus appartenant à la même famille sont, pour la plupart, regroupés (Fig. 24). L'axe 1 représente 11,03 % de la variance expliquée tandis que l'axe 2 représente 8,51 % de la variance expliquée. La famille la plus proche de la position de *Paleoeuglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. est celle des Apidae. Le spécimen fossile a été inclus a posteriori dans l'espace discriminant.

Tableau 6 : Distance de Mahalanobis (D.M.) entre : les individus de 9 familles d'Apoidea et le centroïde de leur famille ; l'individu fossile *P. biesmeijeri* et le centroïde des 9 familles d'Apoidea. p-value des attributions du fossile. **Apoidea Apiformes** ; **Apoidea Sphéciformes**.

	D.M. Individus - Centroïde			D.M. Fossile - Famille	p-value
	Min.	Med.	Max.		
Andrenidae	2,83	3,38	5,12	9,59	<0,001
Apidae	0,81	2,70	7,54	6,77	<0,001
Colletidae	1,43	2,25	4,80	10,79	<0,001
Halictidae	1,09	2,39	5,48	9,74	<0,001
Megachilidae	1,28	1,73	2,61	16,50	<0,001
Melittidae	1,24	2,16	3,36	11,63	<0,001
Ampulicidae	1,74	2,68	3,46	24,00	<0,001
Crabronidae	3,33	3,68	4,23	18,18	<0,001
Sphécidae	2,40	2,83	3,53	19,68	<0,001

La table d'assignement de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. au sein d'Apoidea considère celui-ci comme appartenant à la famille des Apidae (Tableau 6). En effet, la D.M. de ce fossile par rapport à la centroïde de la famille des Apidae est la plus petite (D.M. = 6,77). La D.M. du fossile par rapport à la centroïdes des Apidae (D.M. = 6,77) est inférieure à la D.M. du specimen d'Apidae le plus éloigné de la centroïde (D.M. = 7,54). Cela permet d'être confiant quant à l'appartenance du fossile d'intérêt à la famille des Apidae. Toutes les p-values sont inférieures à 1%, ce qui signifie que l'assignement n'est statistiquement pas fiable.

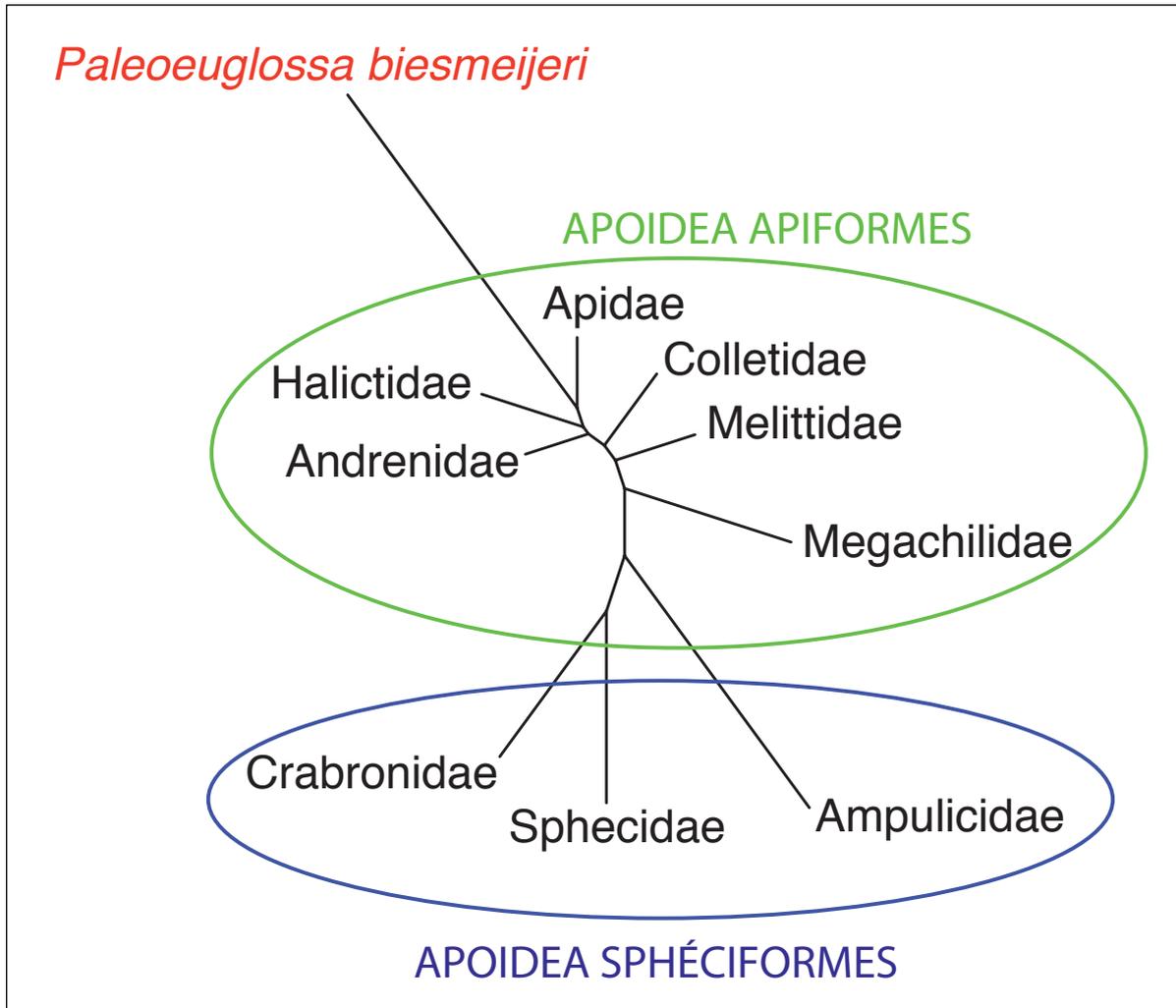


Figure 25 : Dendrogramme obtenu par la méthode de regroupement neighbour joining (NJ) non-enraciné sur base des distances de Mahalanobis.

Le dendrogramme de la Figure 25 présente les 9 familles échantillonnées ainsi que le fossile d'intérêt. La séparation entre les Apiformes et les Sphéciformes est nette. De plus, *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. est placé près de la famille des Apidae.

Affinités taxonomiques de Paleoeuglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. au sein d'Apidae

Dans cette partie des analyses, les 292 individus contemporains et éteints d'Apidae ont été considérés, ainsi que le fossile d'intérêt, *Paleoeuglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n.

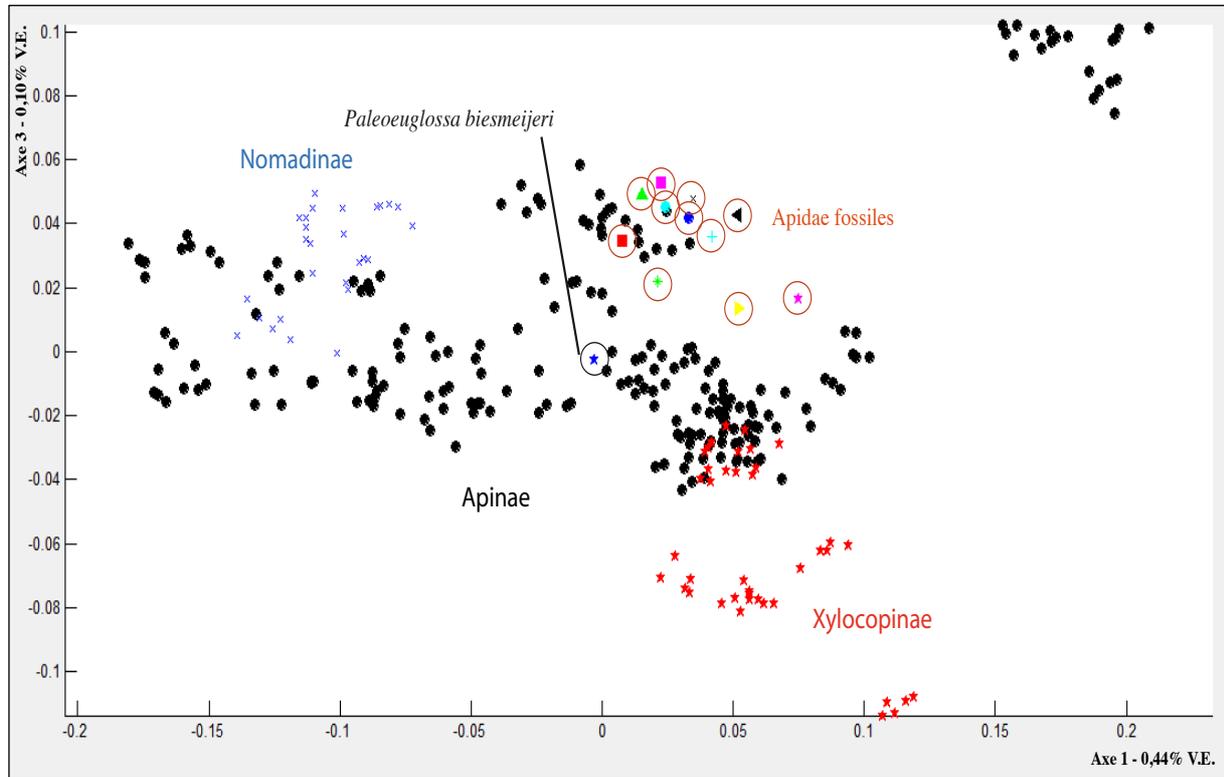


Figure 26 : Représentation des axes 1 et 3 de la « relative warps analysis ».

Dans la « relative warps analysis », les trois sous-familles ne sont pas clairement séparées (Figure 26). La sous-famille la plus proche de la position de *Paleoeuglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. semble être celle des Apinae. En ce qui concerne les spécimens fossiles décrits par Engel (2001) et Wappler *et al.* (2012), ils semblent proches de la sous-famille des Apinae. L'axe 1 représente 0,44 % de la variance expliquée tandis que l'axe 3 représente 0,10 % de la variance expliquée.

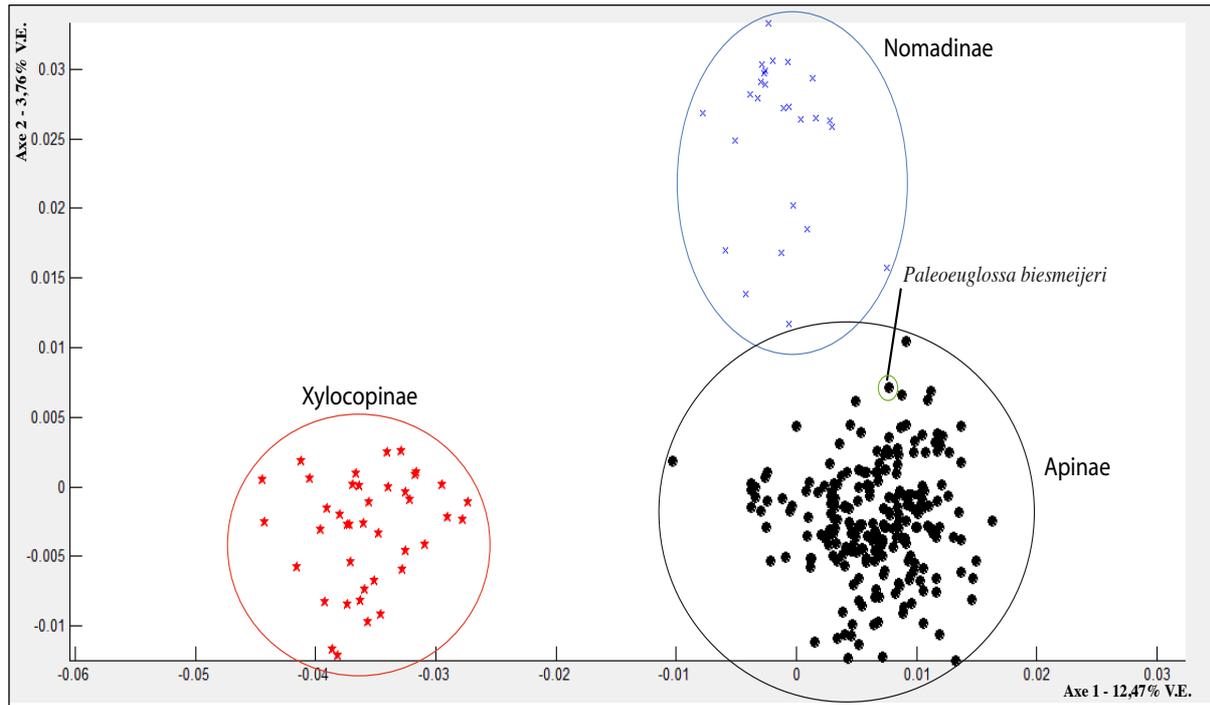


Figure 27 : Représentation des axes 1 et 2 de l'analyse canonique de la variance.

La RWA ne permettant pas de clairement séparer les trois sous-familles d'Apidae (Fig. 26), une ACV, dans laquelle les autres spécimens fossiles d'Apidae ont été placés a priori dans la sous-famille des Apinae, a été réalisée. L'axe 1 représente 12,47 % de la variance expliquée tandis que l'axe 2 représente 3,76 % de la variance expliquée. Dans cette ACV, les trois sous-familles sont clairement séparées (Fig. 27). La sous-famille la plus proche de la position de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. est celle des Apinae. Le spécimen fossile a été inclus a posteriori dans l'espace discriminant.

Tableau 7 : Distance de Mahalanobis (D.M.) entre : les individus de 3 sous-familles d'Apidae et le centroïde de leur famille ; l'individu fossile *P. biesmeijeri* et le centroïde des 9 familles d'Apoidea. p-value des attributions du fossile.

	D.M. Individus - Centroïde			D.M. fossile - ss-famille	p-value
	Min.	Med.	Max.		
Apinae	0,06	1,04	4,22	1,71	>0,05
Nomadinae	0,48	1,17	3,24	5,56	<0,001
Xylocopinae	0,15	1,18	2,31	10,96	<0,001

La table d'assignement de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. au sein d'Apoidea considère celui-ci comme appartenant à la sous-famille des Apinae (Tableau 7). En effet, la D.M. de ce fossile par rapport à la centroïde de la sous-famille des Apinae est la plus petite (D.M. = 1,71). La D.M. du fossile par rapport à la centroïdes des Apinae (D.M. = 1,71) est inférieure à la D.M. du specimen d'Apinae le plus éloigné de la centroïde (D.M. = 4,22). Cela permet d'être confiant quant à l'appartenance du fossile d'intérêt à la famille des Apidae. De plus, la p-value de l'attribution du fossile dans la sous-famille est supérieure à 5%, ce qui signifie que l'assignement du fossile à la sous-famille des Apinae est statistiquement fiable.

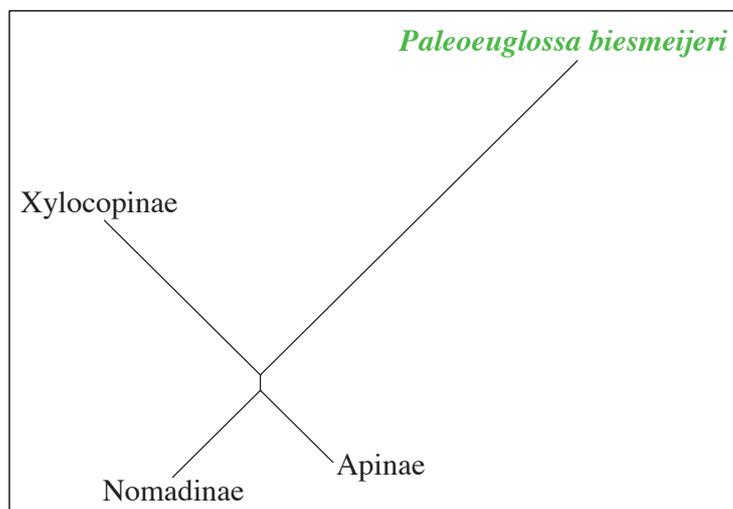


Figure 28 : Dendrogramme obtenu par la méthode de regroupement neighbour joining (NJ) non-enraciné sur base des distances de Mahalanobis.

Le dendrogramme de la Figure 28 présente les 3 sous-familles d'Apidae échantillonnées ainsi que le fossile d'intérêt. *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. est placé près des sous-famille des Apinae et des Xylocopinae.

Affinités taxonomiques de Paleoeuglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. au sein d'Apinae

Dans cette partie des analyses, les 225 individus contemporains et éteints d'Apinae ont été considérés, ainsi que le fossile d'intérêt, *Paleoeuglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n.*

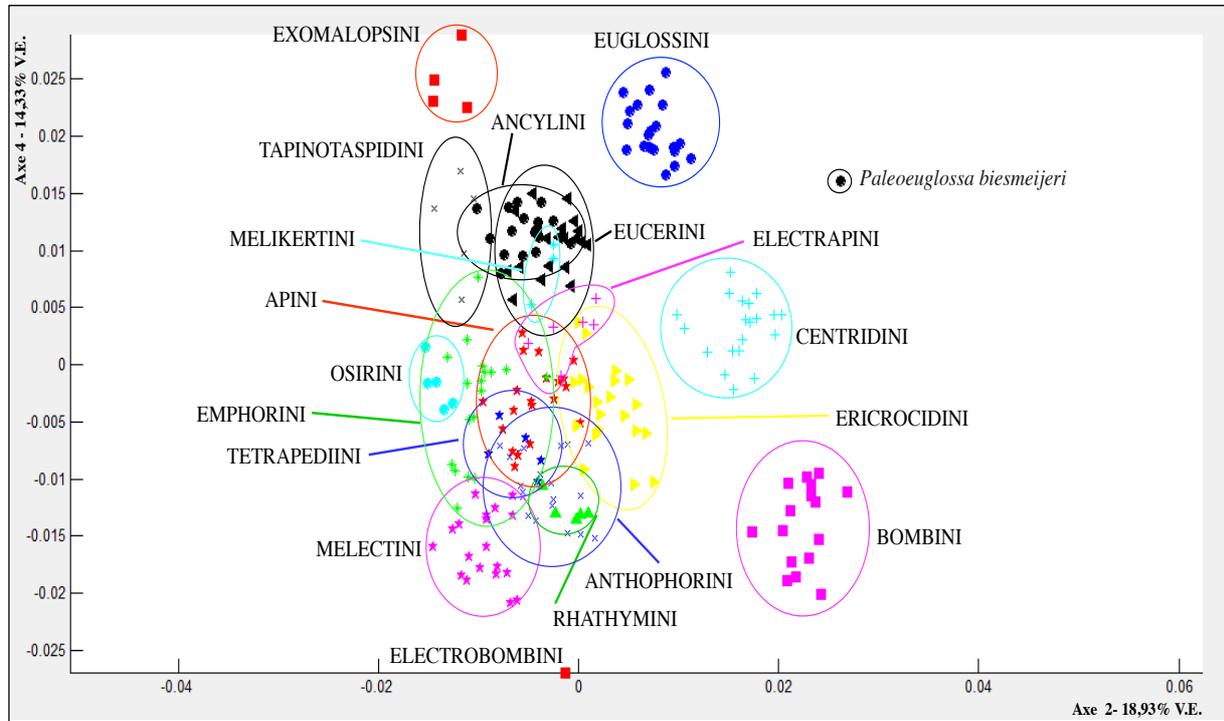


Figure 29 : Représentation des axes 2 et 4 de l'analyse canonique de la variance.

Une RWA ne permettant pas de discriminer les différentes tribus d'Apinae les unes des autres, une ACV a été réalisée. L'axe 2 représente 18,93 % de la variance expliquée tandis que l'axe 4 représente 14,33 % de la variance expliquée. Dans cette ACV, la plupart des tribus ne sont pas clairement séparées (Fig. 29). Les tribus des Exomalopsini, des Euglossini, des Centridini, des Electrobombini et des Bombini sont séparées des autres tribus. Les tribus les plus proches de la position de *Paleoeuglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n.* le long de l'axe 2 sont celles des Bombini, des Centridini et des Euglossini. Le spécimen fossile a été inclus a posteriori dans l'espace discriminant.

Tableau 8 : Distance de Mahalanobis (D.M.) entre : les individus des 18 tribus d'Apinae et le centroïde de leur tribu ; l'individu fossile *P. biesmeijeri* et le centroïde des 18 tribus d'Apinae. p-value des attributions du fossile.

	D.M. Individus - Centroïde			D.M. fossile - tribu	p-value
	Min.	Med.	Max.		
Ancylini	3,03	4,12	5,42	25,4	<0,001
Anthophorini	3,03	3,92	5,00	27,08	<0,001
Apini	2,92	3,80	5,30	39,41	<0,001
Bombini	2,08	2,74	4,64	23,97	<0,001
Centridini	2,32	3,35	7,19	21,63	<0,001
Electrapini	5,67	6,87	7,16	22,35	<0,001
Electrobombini	0,00	0,00	0,00	30,34	<0,001
Emphorini	3,26	4,10	6,64	26,4	<0,001
Ericrocidini	2,65	3,91	8,09	24,26	<0,001
Eucerini	2,47	3,77	5,59	26,05	<0,001
Euglossini	2,55	3,52	4,32	21,10	<0,001
Exomalopsini	1,95	2,22	2,80	26,59	<0,001
Melectini	3,25	4,15	5,25	27,46	<0,001
Melikertini	4,02	5,30	5,74	23,24	<0,001
Osirini	2,47	2,52	2,65	28,39	<0,001
Rhathymini	2,45	3,38	4,11	22,11	<0,001
Tapinotaspidini	1,81	2,35	2,85	26,12	<0,001
Tetrapediini	2,16	2,52	3,03	29,41	<0,001

La table d'assignement de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. au sein d'Apinea considère celui-ci comme appartenant à la tribu des Euglossini (Tableau 7). En effet, la D.M. de ce fossile par rapport à la centroïde de la tribu des Euglossini est la plus petite (D.M. = 21,10). Cependant, d'autres tribus sont aussi proches du fossile, comme les Centridini (D.M. = 21,63), les Electrapini (D.M. = 22,35), les Melikertini (D.M. = 23,24) et les Rhathymini (D.M. = 22,11). La D.M. de 0 observée pour la tribu des Electrobombini est expliquée par le fait qu'un seul individu a été échantillonné pour cette tribu. La D.M. du fossile par rapport à la centroïdes des Euglossini (D.M. = 21,10) est supérieure à la D.M. du spécimen d'Euglossini le plus éloigné de la centroïde (D.M. = 7,54). Cela permet de douter quant à l'appartenance du fossile d'intérêt à la tribu des Euglossini. Toutes les p-values sont inférieures à 1%, ce qui signifie que l'assignement n'est statistiquement pas fiable.

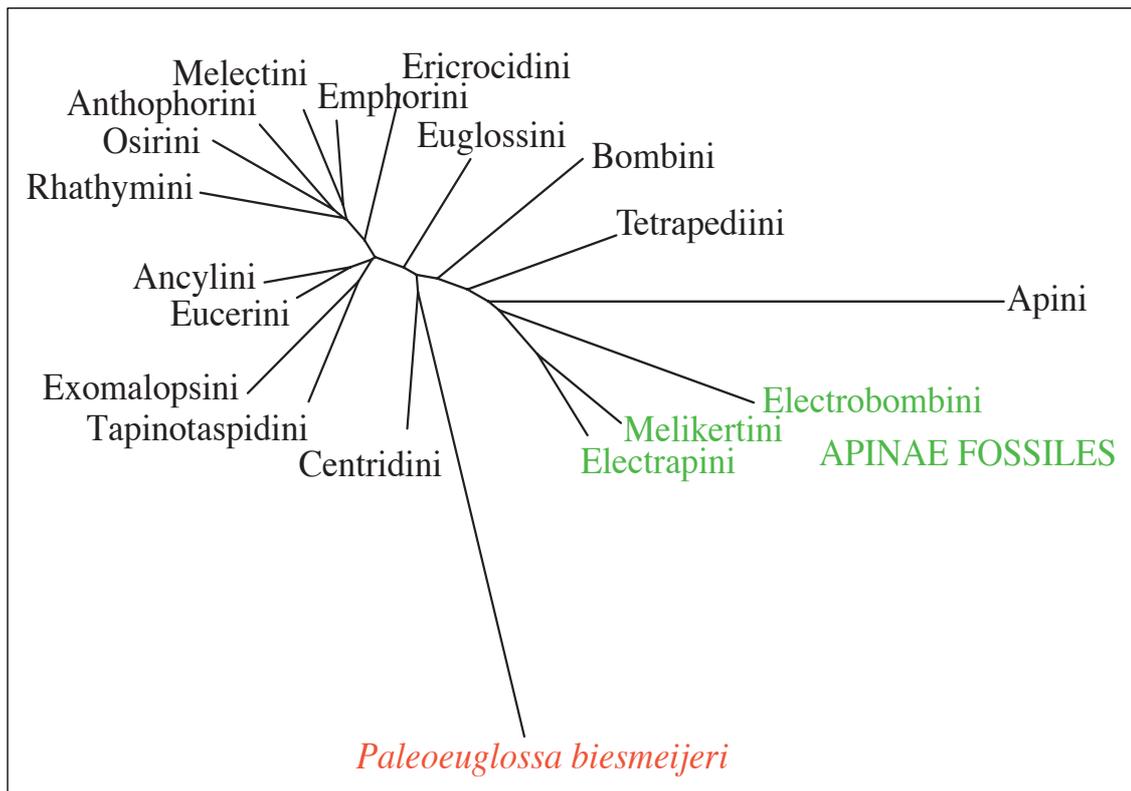


Figure 30 : Dendrogramme obtenu par la méthode de regroupement neighbour joining (NJ) non-enraciné sur base des distances de Mahalanobis.

Dans le dendrogramme ci-dessus, les groupes représentés sont les 18 tribus contemporaines et éteintes d'Apinae échantillonnées, ainsi que le fossile d'intérêt (Fig. 30). Le fossile d'intérêt se retrouve placé près des tribus suivantes : Bombini et Euglossini, faisant partie du groupe des corbiculés, Centridini et Tetrapediini. Les tribus éteintes des Electrapini, des Electrobombini et des Melikertini sont proches les unes des autres, et proches des Apini, des Bombini et des Tetrapediini.

4. DISCUSSION

4.1. Caractère diagnostique de la forme des ailes des Apoidea

Le présent mémoire de fin d'études nous a permis de rassembler un jeu de données d'une grande diversité taxonomique et de grande dimension. En effet, ce jeu de données, rassemblant 545 spécimens, est constitué de 144 espèces, 99 genres, 46 tribus, 20 sous-familles et 9 familles d'Apoidea.

Aytekin *et al.* (2007), Tofilski (2008), Michez *et al.* (2009), Wappler *et al.* (2012) et De Meulemeester *et al.* (2012) ont démontré le caractère diagnostique de la forme des ailes pour les niveaux taxonomiques des tribus, des genres, des espèces et même des sous-espèces. Les analyses morphométriques générées grâce à notre jeu de données nous ont permis d'étendre le pouvoir discriminant de la forme des ailes des abeilles entre elles. Ainsi, la présente étude a prouvé que la forme des ailes permet de distinguer non seulement les Apoidea Apiformes des Apoidea Sphéciformes, mais aussi de différencier les différentes familles d'abeilles.

Un individu inconnu peut désormais être attribué à une famille de façon précise en utilisant uniquement la forme de ses ailes comme caractère. La morphométrie géométrique démontre, une fois de plus, qu'elle constitue un outil majeur en matière de taxonomie des spécimens contemporains et des fossiles d'Apoidea.

4.2. Taxonomie de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. nov.

Les 12 espèces fossiles choisies et utilisées dans les présentes analyses ont été placées avec succès dans les familles auparavant attribuées à ces espèces (Apidae et Halictinae) (Engel 2001a; De Meulemeester *et al.* 2012 ; Wappler *et al.* 2012). Cela nous a permis de démontrer le caractère diagnostique de la forme des ailes antérieures et son utilité pour assigner les spécimens fossiles à un taxon.

Toutes les analyses réalisées (RWA, ACV et analyse supervisée d'identification) présentent les mêmes résultats d'attribution de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. aux niveaux taxonomiques de la famille et de la sous-famille. En effet, *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. appartiendrait à la famille des Apidae, plus précisément à la sous-famille des Apinae.

Cependant, l'attribution du fossile à une tribu semble moins précise. En effet, l'analyse d'assignement désigne Euglossini comme la tribu la plus proche du fossile, cependant la D.M. du fossile par rapport à la centroïde des Euglossini (D.M. = 21,10) est supérieure à la D.M. du spécimen d'Euglossini le plus éloigné de la centroïde (D.M. = 7,54). Cela signifie que Euglossini est la tribu la plus proche du fossile, mais que le fossile n'est pas inclus dans l'espace de forme de cette Tribu. Ces résultats peuvent être expliqués par la taphonomie du spécimen fossile, c'est-à-dire la déformation du spécimen liée aux nombreux processus menant à sa fossilisation. Ainsi, certains *landmarks* ont été plus difficiles à préciser que d'autres.

Toutefois, la plupart des tribus considérées comme similaires à *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. appartiennent au groupe des corbiculés contemporains (Apini, Bombini, Euglossini et Meliponini). *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. appartiendrait ainsi à une tribu éteinte de corbiculés. Cette hypothèse est clairement appuyée par la description morphologique du spécimen. En effet, le fossile possède vraisemblablement un metatibia modifié en une corbicula, un organe de récolte propre aux tribus contemporaines et éteintes de corbiculés (Fig. 31). L'analyse d'identification du fossile désignant la tribu des Euglossini comme la plus proche au niveau de la morphologie des ailes laisse ainsi penser que *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. appartiendrait à un groupe couronné de la tribu des Euglossini.

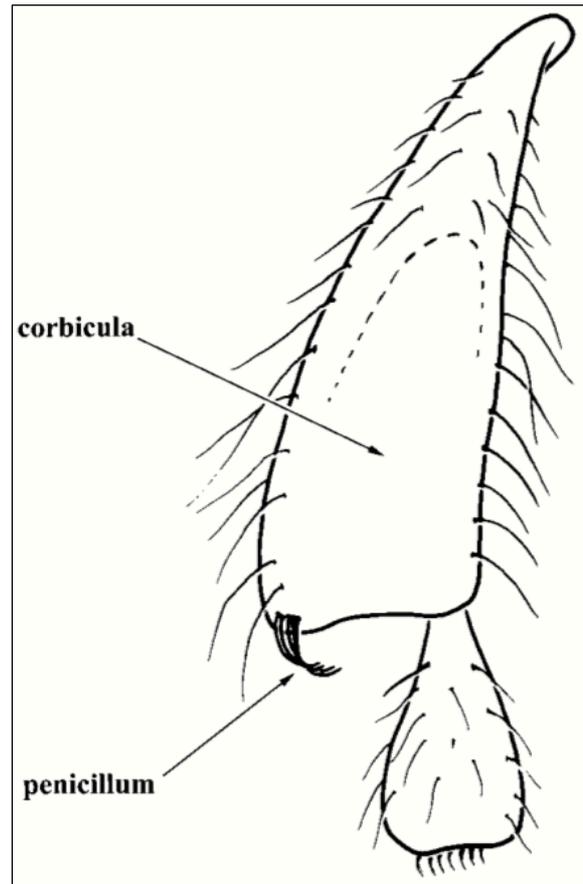


Figure 31 : Représentation d'un metatibia gauche modifié en corbicula (Engel 2011).

La similarité morphologique de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. avec la tribu des Euglossini est cohérente avec les origines géographique et écologique de cette tribu et du fossile (Ramírez *et al.* 2010). En effet, la formation de la Green River, dans laquelle a été retrouvé le fossile, est une formation géologique datant de l'Eocène, une période s'étalant de -55 à -33 MA. Elle est le résultat de dépôts sédimentaires composés de couches relativement fines, est située dans l'ouest des Etats-Unis et est constituée de nombreux et divers bassins sédimentaires (du nord-est de l'Utah, du sud-est du Wyoming et du nord-ouest du Colorado). A cette époque, l'Amérique du Nord était connectée à l'Amérique du Sud, zone géographique où les Euglossini sont endémiques. Par ailleurs, le climat qui régnait à cette époque était tropical.

De nombreux vertébrés, de nombreux invertébrés ainsi que des plantes ont été retrouvés dans la formation de la Green River et y sont endémiques (Clyde *et al.* 1995) : les poissons fossiles *Priscacara liops* et *Priscacara serrata* (Perciformes, Priscacaridae) ou encore *Knightia* (Clupéiformes, Clupeidae) (Grande 1984) ; le plus ancien fossile de chauve-souris ayant été découvert, *Icaronycteris index* (Jepsen 1966) ; le mammifère *Branchianodon westorum*, un

Metacheiromyid (Mammalia, Palaeanodonta) (Gunnell & Gingerich 1993). Des traces de reptiles Crocodyliens ont aussi été retrouvés, et fournissent une preuve supplémentaire du paléoclimat tropical à subtropical de cette formation (Bartels 1993).

Le paléoclimat subtropical voire tropical de la formation de la Green River correspond à l'environnement tropical dans lequel sont présents les taxons contemporains d'Euglossini. De plus, les Euglossini seraient originaires d'Amérique Centrale et seraient apparus il y a environ 27 à 42 MA (Fig. 32) (Ramírez *et al.* 2010). *Paleoeuglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n., ayant été retrouvé dans le sud des Etats-Unis dans un gisement tropical datant d'environ 47 MA, semble être un bon candidat pour appartenir à un groupe éteint de corbiculés qui serait à l'origine de la tribu des Euglossini. Cela confirmerait l'hypothèse selon laquelle les Euglossini trouvent leurs origines dans le sud de l'Amérique du Nord. Par ailleurs, le fait que l'origine de la tribu contemporaine des Euglossini a été datée après l'apparition de *Paleoeuglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. pourrait être considéré comme un argument supplémentaire pour classer ce fossile dans un groupe couronne et pas à l'intérieur des Euglossini. Selon cette hypothèse, le fossile d'intérêt ferait alors partie d'une nouvelle tribu, que l'on pourrait nommer Paleoeuglossini. Une autre hypothèse serait que ce fossile fasse partie intégrante de la tribu des Euglossini, ce qui élargirait la définition de cette tribu et avancerait leur date d'apparition à environ 47 MA. Cependant, le tableau d'assignement au niveau des tribus considère le fossile comme proche des Euglossini mais n'en faisant pas partie intégrante. Effectivement, la D.M. séparant le fossile de la centroïde des Euglossini est plus grande que la D.M. séparant l'individu Euglossini le plus éloigné par rapport à la centroïde de cette tribu. Ainsi, l'hypothèse d'une nouvelle tribu fossile de corbiculés, Paleoeuglossini, serait la plus probable.

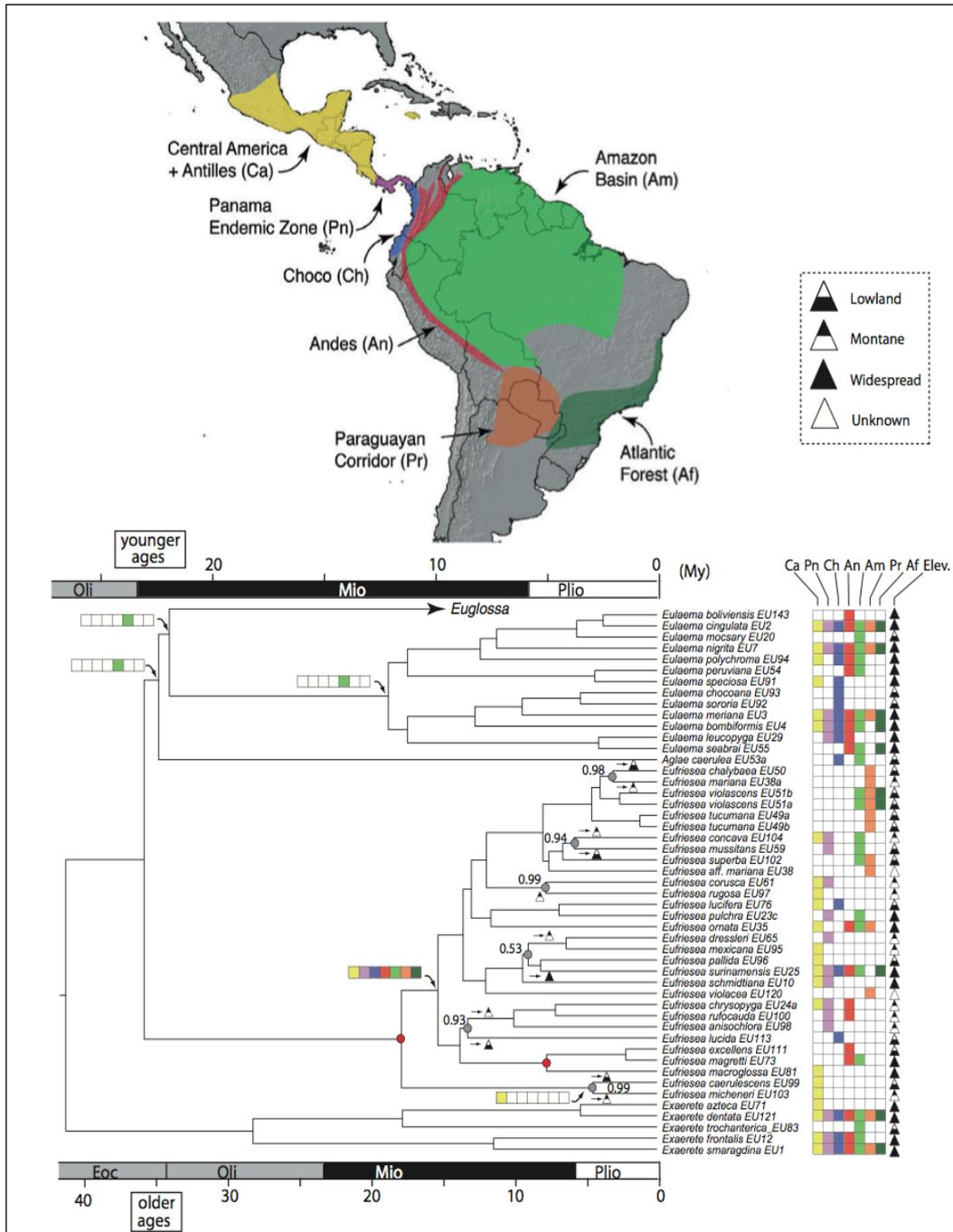


Figure 32 : Chronogramme daté des Euglossini associé avec une carte de distribution géographique et en altitude (Ramírez *et al.* 2010).

4.3. Evolution et extinctions des Apidae

Les résultats obtenus nous ont permis de vérifier les affinités taxonomiques des spécimens fossiles choisis et de spécifier celles de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. Une observation supplémentaire peut être réalisée. En effet, même si l'appartenance des fossiles d'Apidae et du fossile d'intérêt à la sous-famille des Apinae est évidente, la position de ces derniers spécimens suggère qu'ils possèdent une morphologie des ailes proche des Apinae mais qui n'est plus représentée dans les taxons contemporains. Il y aurait donc eu perte d'une partie de la diversité de la forme alaire des Apinae avec la disparition des tribus Melikertini, Electrobombini et Electrapini, ainsi que de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n.

Une telle perte de la diversité morphologique alaire chez les Apinae semble coïncider avec le refroidissement global s'étant déroulé durant la fin de l'Éocène (transition Éocène / Oligocène, -34 MA). Cette période correspond en effet avec la disparition de nombreuses lignées de corbiculés, dont la plupart sont connues et décrites en provenance de l'ambre de la Baltique et de l'ambre de Cambay (Engel 2001a ; Michez et al. 2011). Les tribus concernées sont entre autres celles des Melikertini, Electrobombini et Electrapini. Cette perte de diversité coïncide d'ailleurs avec le fait que les taxons de corbiculés datant de l'Oligocène ou d'une période plus proche (retrouvés dans l'ambre ou dans des compressions) présentent des affinités non seulement au sein des quatre tribus de corbiculés contemporaines, mais également au sein de genres contemporains pour certains (Engel 2001b).

5. CONCLUSION

La présente étude a, dans un premier temps, permis de démontrer le caractère diagnostique de la forme des ailes d'Apoidea au niveau taxonomique des familles possédant trois cellules submarginales, ce qui est inédit en ce qui concerne les études de morphométrie géométrique sur les abeilles. Ainsi, la forme de l'aile antérieure seule, capturée grâce à la méthode des landmarks, permet de déterminer à quelle famille appartient un individu.

Dans un deuxième temps, nos analyses ont permis de confirmer l'affinité taxonomique des 12 espèces décrites par Engel (2001), appartenant aux familles des Apidae et Halictidae, et de déterminer les affinités taxonomiques d'un nouveau fossile d'abeille, *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. D'après les analyses par morphométrie géométrique utilisant la méthode des *landmarks*, ce fossile posséderait des affinités taxonomiques avec la tribu des Euglossini (Apidae, Apinae), aussi connues sous le nom d'abeilles à orchidées. La description morphologique démontre que le spécimen fossile possède un corbicula, organe de récolte du pollen propre au groupe des corbiculés (dont les Euglossini font partie). Ceci appuie les résultats de morphométrie géométrique. En considérant les origines géographiques et écologiques de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n., celui-ci ferait toutefois plus probablement partie d'un groupe couronné des corbiculés contemporains.

6. PERSPECTIVES

Nos connaissances sur les taxons éteints d'abeilles étant particulièrement fragmentaire, une révision taxonomique de tous les fossiles d'abeilles (184 espèces décrites) utilisant le jeu de données rassemblé est tout à fait envisageable. Pour cela, il faudrait dans un premier temps compléter ce jeu de données avec les tribus d'Apoidea possédant deux cellules submarginales et augmenter la dimension du jeu de données des tribus possédant trois cellules submarginales pour comprendre l'ensemble des tribus d'Apoidea.

Le jeu de données rassemblé pourrait aussi permettre le développement de nouvelles méthodes de calibration des phylogénies moléculaires des abeilles en reconsidérant le placement de taxons éteints le long des branches des clades. Ces nouvelles méthodes permettront ainsi de recalibrer plusieurs phylogénies moléculaires de groupes cibles, pouvant d'ailleurs être appliquées sur la plupart des taxons contemporains ou fossiles autres que les abeilles.

7. BIBLIOGRAPHIE

- Adams D.C., Rohlf F.J., Slice D.E. 2004.** Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, **71** : 5-16.
- Alexander B.A. 1992.** An exploratory analysis of cladistic relationships within the superfamily Apoidea, with special reference to sphecid wasps (Hymenoptera). *Journal of Hymenoptera Research*, **1** : 25-61.
- Antropov A.V. 2000.** Digger wasps (Hymenoptera, Sphecidae) in Burmese amber. *Bulletin of the Natural History Museum, Geology Series*, **56** : 59-77.
- Aytekin A.M., Terzo M., Rasmont P., Cagatay N. 2007.** Landmark based geometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille). *Annales de la Société Entomologique de France (n. s.)*, **43** : 95-102.
- Bartels W.S. 1993.** "Niche separation of Fluvial and Lacustrine reptile from the Eocene Green River and Bridger formations of Wyoming." *Journal of Vertebrate Paleontology*, **13(3)** : 25a.
- Baylac M., Villemant C., Simbolotti G. 2003.** Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. *Biological Journal of the Linnean Society*, **80** : 89-98.
- Bennett D.J., Engel M.S. 2006.** A new moustache wasp in Dominican Amber, with an account of apoid wasp evolution emphasizing Crabonidae (Hymenoptera : Crabonidae). *American Museum Novitates*, **3529** : 1-10.
- Brady S.G., Danforth B.N. 2004.** Recent intron gain in elongation factor 1- α of colletid bees (Hymenoptera: Colletidae). *Molecular Biology and Evolution*, **21** : 691-96.
- Brady S.G., Sipes S., Pearson A., Danforth B.N. 2006.** Recent and simultaneous origins of eusociality in halictid bees. *Proceedings of the Royal Society B*, **273** : 1643-49.
- Brady S.G., Litman J.R., Danforth B.N. 2011.** Rooting phylogenies using gene duplications: an empirical example from the bees (Apoidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **60** : 295-304.
- Brothers D.J. 1975.** Phylogeny and classification of the aculeate Hymenoptera, with special reference to Mutillidae. *University of Kansas Science Bulletin*, **50** : 483-648.
- Brothers D.J. 1998.** Phylogeny and evolution of wasps, ants and bees (Hymenoptera, Chrysidoidea, Vespoidea and Apoidea). *Zoologica Scripta*, **28** : 233-49.
- Brothers D.J., Carpenter J.M. 1993.** Phylogeny of Aculeata: Chrysidoidea and Vespoidea. *Journal of Hymenoptera Research*, **2** : 227-301.

- Camargo J.M.F.D., Grimaldi D.A., Pedro S.R.M. 2000.** The extinct fauna of stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) in Dominican amber: two new species and redescription of the male of *Problebeia dominicana* (Wille and Chandler). *American Museum Novitates*, **3293** : 1-24.
- Cardinal S., Straka J., Danforth B.N. 2010.** Comprehensive phylogeny of apid bees reveals the evolutionary origins and antiquity of cleptoparasitism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107** : 16207-11.
- Cardinal S., Danforth B. N. 2013.** Bees diversified in the age of eudicots. *Proceedings of the Royal Society B*, **280** : 1471-2954.
- Claude J. 2008.** Morphometrics with R. *Springer*. 330 pp.
- Clyde W.C. 1995.** Timing of the Wasatchian-Bridgerian faunal transition in the Green River Basin, Wyoming. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **15(3)** : 24a.
- Cockerell T.D.A. 1917.** Fossil insects. *Annals of the Entomological Society of America*, **10** : 1-18.
- Cockerell T.D.A. 1921.** Eocene insects from the Rocky Mountains. *Proceedings of the United States National Museum*, **57** : 233-260.
- Crepet W.L. 1979.** Insect pollination : a paleontological perspective. *BioScience*, **29** : 102-8.
- Crepet W.L., Nixon K.C., Gandolfo M.A. 2004.** Fossil evidence and phylogeny : The age of major angiosperm clades based on mesofossil and macrofossil evidence from cretaceous deposits. *American Journal of Botany*, **91** : 1666-82.
- Danforth B.N. 2007.** Bees. *Current Biology*, **17**: R156-R161.
- Danforth B.N., Fang J., Sipes S.D. 2006a.** Analysis of family level relationships in bees (Hymenoptera: Apiformes) using 28S and two previously unexplored nuclear genes: CAD and RNA polymerase II. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **39** : 358-372.
- Danforth B.N., Sipes S.D., Fang J., Brady S.G. 2006b.** The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103** : 15118-15123.
- Danforth B.N., Cardinal S., Praz C., Almeida E. a B., & Michez D. 2013.** The impact of molecular data on our understanding of bee phylogeny and evolution. *Annual review of entomology* : **58**, 5-78.
- De Meulemeester T. 2007.** Systématique des bourdons du sous-genre *Mendacibombus* Skorikov (Hymenoptera, Apidae, Bombini) en région ouest-paléarctique. *Université de Mons-Hainaut, Mons*. 114 pages, 1 planche.

- De Meulemeester T. 2011.** Approche intégrative dans la systématique de taxons complexes: les bourdons et les abeilles fossiles. Thèse soumise pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences. *UMONS*. 316pp.
- De Meulemeester T., Michez D., Aytekin A.M., Danforth B.N. 2012.** Taxonomic affinity of halictid bee fossils (Hymenoptera: Anthophila) based on geometric morphometrics analyses of wing shape. *Journal of Systematic Palaeontology*, iFirst 2012: 1-10.
- Drummond A.J., Rambaut A. 2007.** BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7 : 214.
- Engel M.S. 2000.** A new interpretation of the oldest fossil bee (Hymenoptera: Apidae). *American Museum Novitates*, 3296 : 1-11.
- Engel M.S. 2001a.** A monograph of the Baltic Amber bees and evolution of the Apoidea (Hymenoptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 259: 1-192.
- Engel M.S. 2001b.** Monophyly and Extensive Extinction of Advanced Eusocial Bees : Insights from an Unexpected Eocene Diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of America*, 98 : 1661-1664.
- Engel M.S. 2004.** Geological history of the bees (Hymenoptera : Apoidea). *Revista de Tecnologia e Ambiente*, 10 : 9-33.
- Engel M.S. 2005.** Family-group names for bees (Hymenoptera : Apoidea). *American Museum Novitates*, 3476 : 1-33.
- Engel M.S. 2011.** Systematic melittology : where to from here ? *Systematic Entomology*, 36 : 2-15.
- Forest C.E., Wolfe J.A., Molnar P., Emanuel K.A. 1999.** Paleoaltimetry incorporating atmospheric physics and botanical estimates of paleoclimate: *Geological Society of America Bulletin*, 111 : 497-511.
- Forey P.L. 2001.** Systematics and Paleontology. In: Williams DM and Forey PL, eds. *Milestones in Systematics*. Boca Raton, Florida: CRC Press. 149-180.
- Francoy T.M., Wittmann D., Drauschke M., Müller S., Steinhage V., Bezerra Laure M.A.F., De Jong D., and Gonçalves L.S. 2008.** Identification of 72 Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39 : 488-494.
- Francoy T.M., Silva R.A.O., Nunes-Silva P., Menezes C., Imperatriz-Fonseca V.L. 2009.** Gender identification of five genera of stingless bees (Apidae, Meliponini) based on wing morphology. *Genetics and molecular research*, 8 : 207-214.

- Gallai, N., J. M. Salles, J. Settele, & B. Vaissière, 2009.** Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, **68** : 810.
- Grande L. 1984.** Paleontology of the Green River Formation, with a review of the fish fauna. *Geological Survey of Wyoming Bulletin*, **63** : 1-333.
- Grimaldi D., Engel M.S. 2005.** Evolution of the Insects. *Cambridge, Cambridge University Press*.
- Gunnell G.F., P.D. Gingerich 1993.** Skeleton of *Brachianodon westorum*, a new middle Eocene metacheiromyid (Mammalia, Palaeanodonta) from the early Bridgerian (Bridger A) of the southern Green River Basin, Wyoming. *Contributions from the Museum of Paleontology, University of Michigan*, **28** : 365-392.
- Heinrich B. 1996.** The Thermal Warriors : Strategies of Insect Survival. *Cambridge, MA : Harvard University Press*.
- Huelsenbeck J.P., Crandall K.A. 1997.** Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **28** : 437-66.
- Huelsenbeck J.P., Ronquist F. 2001.** MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, **17** : 754-55.
- Jepsen G.L. 1966.** Early Eocene bat from Wyoming. *Science*, **154(3754)** : 1333-8.
- Kendall, D.G., 1977.** The diffusion of shape, *Advances in Applied Probability*, **9** : 428-430.
- Kinchloe Roberts A., Smith D.M., Guralnick R.P., Cushing P.E., Krieger J. 2008.** An outline morphometric approach to identifying fossil spiders: A preliminary examination from the Florissant formation. *Paleontology of the Upper Eocene Florissant Formation, Colorado. Geological Society of America Special Paper*, **435** : 105-116.
- MacGinitie H.D. 1969.** The Eocene Green River flora of northwestern Colorado and northeastern Utah. *University of California Publications in Geological Sciences*, **83** : 1-140.
- Michener C.D. 1944.** Comparative external morphology, phylogeny, and classification of the bees (Hymenoptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **82** : 1-326.
- Michener C.D. 1979.** Biogeography of the bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **66** : 277-342.
- Michener C.D. 2000.** The bees of the world. *The Johns Hopkins University Press, Baltimore*, 913 p.
- Michener C.D. 2007.** The bees of the world, second edition. *The Johns Hopkins University Press, Baltimore*, 913 pp.

- Michener C.D., Grimaldi D.A. 1988.** A Trigona from late Cretaceous amber of New Jersey (Hymenoptera : Apidae : Meliponinae). *American Museum Novitates*, 2917 : 1-10.
- Michez D. 2007.** La nouvelle classification des abeilles ou la chute de l'abeille mellifère (*Apis mellifera* L.) de son piédestal. *Osmia*, 1 : 23-26.
- Michez D., De Meulemeester T., Nel A., Rasmont P., Patiny S. 2009.** New fossil evidence of the early diversification of bees: *Paleohabropoda oudardi* from the French Paleocene (Hymenoptera, Apidae, Anthophorini). *Zoologica Scripta*, 38 : 171–181.
- Michez D., Vanderplanck M., Engel M.S. 2012.** Fossil bees and their plant associates. In: Patiny S, ed. *Evolution of Plant-Pollinator Relationships*: Cambridge University Press.
- Ohl M., Bleidorn C. 2006.** The phylogenetic position of the enigmatic wasp family Heterogynaidae based on molecular data, with description of a new, nocturnal species (Hymenoptera: Apoidea). *Systematic Entomology*, 31 : 321–37.
- Ohl M., Engel M.S. 2007.** Die Fossilgeschichte der Bienen und ihrer nächsten Verwandten (Hymenoptera : Apoidea). *Denisia*, 20 : 687-700.
- Owen 2012.** "Applications of Morphometrics to the Hymenoptera, Particularly Bumble Bees (*Bombus*, Apidae)."
- Patiny S., Rasmont P., Michez D. 2009.** A survey and review of the status of wild bees in the West-Palaeartic region. *Apidologie*, 40 : 313-331.
- Pavlinov I.Y. 2001.** Geometric Morphometrics, a New Analytical Approach to Comparison of Digitized Images. *Saint Petersburg: Information Technology in Biodiversity Research*, 41–90.
- Pilgrim E.M., von Dohlen C.D., Pitts J.P. 2008.** Molecular phylogenetics of Vespoidea indicate paraphyly of the superfamily and novel relationships of its component families and subfamilies. *Zoologica Scripta*, 37 : 539–60.
- Poinar G. J., Danforth B.N. 2006.** A fossil bee from early Cretaceous Burmese amber. *Science*, 314 : 614.
- Pretorius E. 2005.** Using geometric morphometrics to investigate wing dimorphism in males and females of Hymenoptera - a case study based on the genus *Tachysphex* Kohl (Hymenoptera: Sphecidae: Larrinae). *Australian Journal of Entomology*, 44 : 113-121.
- Quental T.B., Marshall C.R. 2010.** Diversity dynamics: molecular phylogenies need the fossil record. *Trends in Ecology & Evolution*, 25 : 434-441.
- R Core Team 2012.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

- Rattanawanee A., Chanchao C. & Wongsiri S. 2010.** Gender and species identification of four native honey bees (Apidae: Apis) in Thailand based on wing morphometric analysis. *Annals of the Entomological Society of America*, **103** : 965–970.
- Ramírez, S. R., Roubik, D. W., Skov, C., & Pierce, N. E. 2010.** Phylogeny, diversification patterns and historical biogeography of euglossine orchid bees (Hymenoptera: Apidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **100(3)** : 552–572.
- Renner S.S., Schaefer H. 2010.** The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **365** : 423–35.
- Ronquist F. 1999.** Phylogeny of the Hymenoptera (Insecta) : the state of the art. *Zoologica Scripta*, **28** : 3-11.
- Rohlf, J. F., 2006.** tpsDIG Version 2.05, Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New-York.
- Rohlf, J. F., 2010.** tpsUTIL Version 1.46, Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New-York.
- Ross H.H. 1936.** The ancestry and wing venation of the Hymenoptera. *Annals of the Entomological Society of America*, **29** : 99-111.
- Schlick-Steiner B.C., Steiner F.M., Seifert B., Stauffer C., Christian E., Crozier R.H. 2010.** Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual Review of Entomology*, **55** : 421-438.
- Sheets H.D. 2003.** CVAGen6f, New York: Canisius College, Buffalo, <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm>.
- Sheets H.D. 2005.** PCAGen6p, New York: Canisius College, Buffalo, <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm>.
- Tofilski A. 2008.** Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. *Apidologie*, **39** : 558-563.
- Wappler, T., De Meulemeester, T., Murat Aytakin, a., Michez, D., & Engel, M. S. 2012.** Geometric morphometric analysis of a new Miocene bumble bee from the Randeck Maar of southwestern Germany (Hymenoptera: Apidae). *Systematic Entomology*, **37(4)** : 784-792.
- Weitschatt W., Wichard W. 2010.** Baltic amber. In: *Penney D (Ed) Biodiversity of Fossils in Amber from the Major World Deposits. Siri Scientific Press, Manchester*, 80–115.
- Wiley E.O., B.S. Lieberman 2011.** Phylogenetics: Theory and Practice of Phylogenetic Systematics. *Hoboken, NJ, Wiley-Blackwell*.

- Wilson M.V.H. 1978.** Paleogene insect faunas of western North America. *Quaestiones Entomologicae*, **14** : 13-34.
- Wolfe J.A. 1994.** Tertiary climatic changes at middle latitudes of western North America. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **108** : 195–205.
- Wolfe J.A., Forest C.E., Molnar P. 1998.** Paleobotanical evidence of Eocene and Oligocene paleoaltitudes in midlatitude western North America. *Geological Society of America Bulletin*, **110** : 664-678.
- Zelditch M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D., Fink W.L. 2004.** Geometric Morphometrics for biologists: a primer. *Elsevier Academic Press, London*, **17** : 31.
- Zeuner F.E., Manning F.J. 1976.** A monograph on fossil bees (Apoidea). *Bulletin of the British Museum (Natural History), Geology*, **27**: 149-268.

8. ANNEXES

ANNEXE 1 : Liste des espèces d'Apoidea échantillonnées dans le but de rassembler le jeu de données.

Famille	Sous-famille	Tribu	Genre	Espèce	N
Andrenidae	Andreninae		<i>Andrena</i>	<i>boyerella</i>	5
Andrenidae	Oxaeinae		<i>Oxaea</i>	<i>fuscescens</i>	1
Andrenidae	Oxaeinae		<i>Oxaea</i>	<i>flavescens</i>	1
Andrenidae	Oxaeinae		<i>Oxaea</i>	sp	1
Andrenidae	Oxaeinae		<i>Protoxaea</i>	<i>gloriosa</i>	1
Andrenidae	Panurginae	Melitturgini	<i>Melitturga</i>	<i>taurica</i>	5
Andrenidae	Panurginae	Melitturgini	<i>Borgatomelissa</i>	<i>brevipennis</i>	1
Andrenidae	Panurginae	Protandrenini	<i>Anthrenoides</i>	sp	2
Andrenidae	Panurginae	Protandrenini	<i>Parapsaenythia</i>	<i>puncticutis</i>	2
Apidae	Apinae	Ancylini	<i>Ancyla</i>	<i>holtzi</i>	5
Apidae	Apinae	Ancylini	<i>Ancyla</i>	<i>asiatica</i>	1
Apidae	Apinae	Ancylini	<i>Tarsalia</i>	<i>hirtipes</i>	5
Apidae	Apinae	Ancylini	<i>Tarsalia</i>	<i>ruficornis</i>	5
Apidae	Apinae	Anthophorini	<i>Amegilla</i>	<i>albigena</i>	3
Apidae	Apinae	Anthophorini	<i>Amegilla</i>	<i>quadrifasciata</i>	2
Apidae	Apinae	Anthophorini	<i>Anthophora</i>	<i>plumipes</i>	5
Apidae	Apinae	Anthophorini	<i>Habropoda</i>	<i>tarsata</i>	3
Apidae	Apinae	Anthophorini	<i>Habropoda</i>	<i>zonatula</i>	2
Apidae	Apinae	Anthophorini	<i>Pachymelus</i>	<i>radovae</i>	2
Apidae	Apinae	Anthophorini	<i>Pachymelus</i>	<i>unicolor</i>	3
Apidae	Apinae	Apini	<i>Apis</i>	<i>cerana</i>	4
Apidae	Apinae	Apini	<i>Apis</i>	<i>mellifera</i>	6
Apidae	Apinae	Apini	<i>Apis</i>	<i>dorsata</i>	5
Apidae	Apinae	Apini	<i>Megapis</i>	<i>florea</i>	5
Apidae	Apinae	Bombini	<i>Bombus</i>	<i>terrestris</i>	5
Apidae	Apinae	Bombini	<i>Bombus</i>	<i>lapidarius</i>	5
Apidae	Apinae	Bombini	<i>Bombus</i>	<i>mendax</i>	5
Apidae	Apinae	Bombini	<i>Bombus</i>	<i>randeckensis</i>	1
Apidae	Apinae	Centridini	<i>Centris</i>	sp	3
Apidae	Apinae	Centridini	<i>Centris</i>	<i>brethesi</i>	2
Apidae	Apinae	Centridini	<i>Centris</i>	<i>muralis</i>	5
Apidae	Apinae	Centridini	<i>Epicharis</i>	sp	5
Apidae	Apinae	Centridini	<i>Epicharis</i>	<i>umbraculata</i>	5
Apidae	Apinae	Electrapini†	<i>Electrapis</i>	<i>meliponoides</i>	1
Apidae	Apinae	Electrapini†	<i>Electrapis</i>	<i>krishnorum</i>	1
Apidae	Apinae	Electrapini†	<i>Protobombus</i>	<i>basilaris</i>	1
Apidae	Apinae	Electrapini†	<i>Protobombus</i>	<i>hirsutus</i>	1
Apidae	Apinae	Electrapini†	<i>Thaumastobombus</i>	<i>andreniformis</i>	2
Apidae	Apinae	Electrobombini†	<i>Electrobombus</i>	<i>samlandensis</i>	1
Apidae	Apinae	Emphorini	<i>Ancyloscelis</i>	<i>apiformis</i>	5

Apidae	Apinae	Emphorini	<i>Diadasia</i>	<i>australis</i>	1
Apidae	Apinae	Emphorini	<i>Diadasia</i>	<i>olivacea</i>	1
Apidae	Apinae	Emphorini	<i>Melitoma</i>	<i>segmentaria</i>	5
Apidae	Apinae	Emphorini	<i>Ptilothrix</i>	<i>plumata</i>	1
Apidae	Apinae	Emphorini	<i>Thyreus</i>	<i>abdominalis</i>	5
Apidae	Apinae	Ericrocidini	<i>Mesocheira</i>	<i>bicolor</i>	4
Apidae	Apinae	Ericrocidini	<i>Mesonychium</i>	<i>asteria</i>	5
Apidae	Apinae	Ericrocidini	<i>Mesoplia</i>	<i>azurea</i>	5
Apidae	Apinae	Ericrocidini	<i>Hopliphora</i>	<i>superba</i>	1
Apidae	Apinae	Ericrocidini	<i>Acanthopus</i>	<i>splendidus</i>	1
Apidae	Apinae	Ericrocidini	<i>Ctenioschelus</i>	<i>goryi</i>	5
Apidae	Apinae	Eucerini	<i>Florigelus</i>	sp	5
Apidae	Apinae	Eucerini	<i>Tetralonia</i>	<i>alternous</i>	5
Apidae	Apinae	Eucerini	<i>Melissodes</i>	<i>confusa</i>	5
Apidae	Apinae	Eucerini	<i>Tetraloniella</i>	<i>madecassa</i>	5
Apidae	Apinae	Euglossini	<i>Eulaema</i>	<i>cingulata</i>	5
Apidae	Apinae	Euglossini	<i>Exaerete</i>	<i>dentata</i>	6
Apidae	Apinae	Euglossini	<i>Aglae</i>	<i>caerula</i>	5
Apidae	Apinae	Euglossini	<i>Euglossa</i>	<i>intersecta</i>	4
Apidae	Apinae	Exomalopsini	<i>Exomalopsis</i>	sp	4
Apidae	Apinae	Melectini	<i>Melecta</i>	<i>punctata</i>	5
Apidae	Apinae	Melectini	<i>Xeromelecta</i>	<i>californica</i>	4
Apidae	Apinae	Melectini	<i>Thyreus</i>	<i>niditulus</i>	5
Apidae	Apinae	Melectini	<i>Tetralonioidelia</i>	<i>himalayana</i>	5
Apidae	Apinae	Melectini			
Apidae	Apinae	Melikertini	<i>Melikertes</i>	<i>stilbonotus</i>	1
Apidae	Apinae	Melikertini	<i>Melissites</i>	<i>trigona</i>	1
Apidae	Apinae	Melikertini	<i>Succinapis</i>	<i>goeleti</i>	1
Apidae	Apinae	Osirini	<i>Epeoloides</i>	<i>coecutiens</i>	1
Apidae	Apinae	Rhathymini	<i>Rhathymus</i>	<i>bicolor</i>	5
Apidae	Apinae	Tapinotaspidini	<i>Paratetrapedia</i>	<i>testacea</i>	5
Apidae	Apinae	Tetrapediini	<i>Tetrapedia</i>	<i>diversipes</i>	5
Apidae	Nomadinae	Epeolini	<i>Thalestria</i>	<i>smaragdina</i>	1
Apidae	Nomadinae	Epeolini	<i>Triepeolus</i>	<i>tristis</i>	1
Apidae	Nomadinae	Epeolini	<i>Epeolus</i>	<i>cruciger</i>	5
Apidae	Nomadinae	Nomadini	<i>Nomada</i>	<i>fabriciana</i>	5
Apidae	Nomadinae	Nomadini	<i>Nomada</i>	<i>flava</i>	5
Apidae	Nomadinae	Nomadini	<i>Nomada</i>	<i>fucata</i>	5
Apidae	Nomadinae	Nomadini	<i>Nomada</i>	<i>goodeniana</i>	5
Apidae	Xylocopinae	Ceratinini	<i>Ceratina</i>	<i>dallatorreana</i>	5
Apidae	Xylocopinae	Ceratinini	<i>Ceratina</i>	<i>cucurbitina</i>	5
Apidae	Xylocopinae	Ceratinini	<i>Ceratina</i>	<i>chloris</i>	5
Apidae	Xylocopinae	Ceratinini	<i>Ceratina</i>	<i>sculpturata</i>	5
Apidae	Xylocopinae	Xylocopini	<i>Xylocopa</i>	<i>iris iris</i>	5
Apidae	Xylocopinae	Xylocopini	<i>Xylocopa</i>	<i>olivieri</i>	5
Apidae	Xylocopinae	Xylocopini	<i>Xylocopa</i>	<i>pubescens</i>	5
Apidae	Xylocopinae	Xylocopini	<i>Xylocopa</i>	<i>violacea</i>	5

Colletidae	Colletinae	Colletini	<i>Colletes</i>	<i>cunicularius</i>	5
Colletidae	Colletinae	Colletini	<i>Colletes</i>	<i>daviesanus</i>	5
Colletidae	Colletinae	Colletini	<i>Colletes</i>	<i>pumilus</i>	5
Colletidae	Colletinae	Colletini	<i>Colletes</i>	<i>succinctus</i>	4
Colletidae	Colletinae	Paracolletini	<i>Leioproctus</i>	sp	5
Colletidae	Diphaglossinae	Caupolicanini	<i>Ptiloglossa</i>	<i>pretiosa</i>	4
Colletidae	Diphaglossinae	Caupolicanini	<i>Caupolicana</i>	<i>yarrowi</i>	3
Colletidae	Diphaglossinae	Caupolicanini	<i>Caupolicana</i>	<i>gayi</i>	5
Colletidae	Diphaglossinae	Caupolicanini	<i>Crawfordapis</i>	<i>luctuosa</i>	2
Colletidae	Diphaglossinae	Diphaglossini	<i>Diphaglossa</i>	<i>gayi</i>	3
Halictidae	Halictinae	Augochlorini	<i>Augochlorella</i>	<i>striata</i>	5
Halictidae	Halictinae	Augochlorini	<i>Augochloropsis</i>	<i>metallica</i>	5
Halictidae	Halictinae	Augochlorini	<i>Pseudaugochlora</i>	<i>graminea</i>	5
Halictidae	Halictinae	Augochlorini	<i>Temnosoma</i>	<i>smaragdina</i>	5
Halictidae	Halictinae	Caenohalictini	<i>Caenohalictus</i>	sp	5
Halictidae	Halictinae	Caenohalictini	<i>Habralictus</i>	sp	5
Halictidae	Halictinae	Caenohalictini	<i>Paragapostemon</i>	<i>coelestinus</i>	2
Halictidae	Halictinae	Caenohalictini	<i>Ruizantheda</i>	<i>nigrocaerulea</i>	5
Halictidae	Halictinae	Caenohalictini	<i>Ruizantheda</i>	<i>proxima</i>	3
Halictidae	Halictinae	Halictini	<i>Halictus</i>	<i>ligatus</i>	5
Halictidae	Halictinae	Halictini	<i>Lasioglossum</i>	<i>lanarium</i>	5
Halictidae	Halictinae	Halictini	<i>Mexalictus</i>	<i>arizonensis</i>	2
Halictidae	Halictinae	Halictini	<i>Patellapis</i>	<i>micropastina</i>	5
Halictidae	Halictinae	Halictini	<i>Patellapis</i>	<i>levisculpta</i>	3
Halictidae	Halictinae	Sphecodini	<i>Sphecodes</i>	<i>confertus</i>	5
Halictidae	Halictinae	Sphecodini	<i>Sphecodes</i>	<i>davisii</i>	3
Halictidae	Halictinae	Sphecodini	<i>Sphecodes</i>	<i>dichrous</i>	2
Halictidae	Halictinae	Sphecodini	<i>Sphecodes</i>	<i>heraclei</i>	5
Halictidae	Halictinae	Sphecodini	<i>Sphecodes</i>	<i>ranunculi</i>	5
Halictidae	Halictinae	Thrinchostomini	<i>Thrinchostoma</i>	<i>kandti</i>	5
Halictidae	Halictinae	Thrinchostomini	<i>Thrinchostoma</i>	<i>telekii</i>	5
Halictidae	Halictinae	Thrinchostomini	<i>Thrinchostoma</i>	sp	3
Halictidae	Nomiinae		<i>Lipotriches</i>	<i>modesta</i>	5
Halictidae	Nomiinae		<i>Nomia</i>	<i>diversipes</i>	5
Halictidae	Nomiinae		<i>Pseudapis</i>	<i>diversipes</i>	5
Halictidae	Nomiinae		<i>Halictonomia</i>	<i>decemmaculata</i>	2
Halictidae	Nomioidinae		<i>Ceylalictus</i>	<i>variegatus</i>	5
Halictidae	Nomioidinae		<i>Nomioides</i>	<i>facilis</i>	5
Halictidae	Rhophitinae		<i>Systropha</i>	<i>planidens</i>	5
Megachilidae	Fideliinae	Fideliini	<i>Fidelia</i>	<i>villosa</i>	1
Megachilidae	Fideliinae	Fideliini	<i>Fidelia</i>	<i>kobrowi</i>	5
Megachilidae	Fideliinae	Fideliini	<i>Fidelia</i>	<i>major</i>	2
Melittidae	Meganomiinae		<i>Meganomia</i>	<i>binghami</i>	8
Melittidae	Meganomiinae		<i>Meganomia</i>	<i>andersoni</i>	2
Melittidae	Melittinae	Melittini	<i>Melitta</i>	<i>leporina</i>	5
Melittidae	Melittinae	Melittini	<i>Rediviva</i>	sp	3
Melittidae	Melittinae	Melittini	<i>Redivivoïdes</i>	<i>simulans</i>	2

Melittidae	Melittinae	Melittini	<i>Melitta</i>	<i>melittoides</i>	1
Melittidae	Melittinae	Melittini	<i>Melitta</i>	<i>japonica</i>	4
Melittidae	Melittinae	Melittini	<i>Melitta</i>	<i>nigricans</i>	5
Ampulicidae	Ampulicinae	Ampulicini	<i>Ampulex</i>	<i>compressiventris</i>	5
Ampulicidae	Ampulicinae	Ampulicini	<i>Ampulex</i>	<i>nigrocoerulea</i>	5
Crabronidae	Larrinae		<i>Tachysphex</i>	<i>brullii</i>	5
Crabronidae	Philanthinae		<i>Philanthus</i>	<i>triangulum</i>	5
Sphecidae	Ammophilinae		<i>Ammophila</i>	<i>heydeni</i>	5
Sphecidae	Sphecinae		<i>Podalonia</i>	<i>hirsuta hirsuta</i>	5

ANNEXE 2 : Article dxe la description et de l'analyse par morphométrie géométrique de *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n rédigé en anglais en vue d'être publié.

New bee fossil (Hymenoptera, Apoidea, Anthophila) from the Eocene shale of the Green River Valley (Utah, USA).

Manuel Dehon¹, Denis Michez¹, Michael S. Engel² & Thibaut De Meulemeester^{1,3}

¹Université de Mons, Laboratoire de Zoologie, Mons, Belgium, ²Division of Entomology (Paleoentomology), Natural History Museum, and Department of Ecology and Evolutionary Biology, 1501 Crestline Drive – Suite 140, University of Kansas, Lawrence, KS, U.S.A. ³Naturalis Biodiversity Center, Leiden, the Netherlands.

Abstract. Bees (Apoidea, Anthophila) are the most important group of angiosperm-pollinating insects on Earth. They are important in both basic and applied research, thus it is essential that we have a clear understanding of bee phylogeny, evolution and diversification. The next step in the study of bees evolution will consist in estimating the age of divergence of the nodes within the inferred topologies. In the present study, we describe a new bee fossil, *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. nov. (Apidae, Apinae), from the Eocene shale of the Green River Formation (Utah, USA ; ~47 Myr). Geometric morphometric analysis of the wing shape was used to assess its morphological affinities. Our results indicate that *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. nov. belongs to the tribe Euglossini.

Keywords : bees ; wing shape ; geometric morphometrics ; paleontology ; taxonomy ; evolution.

Introduction

Bees (Apoidea, Anthophila) constitute a monophyletic group of pollinating herbivores that rely exclusively on flowers for their life cycle (Engel 2001a ; Patiny *et al.* 2009). They arise from within the carnivorous apoids wasps (formerly 'Sphecidae'), more precisely from within Crabronidae (Danforth *et al.* 2013), approximately 123 Myr, during mid-Cretaceous, concurrently with the rise in abundance and geographical expansion of eudicots (Cardinal & Danforth 2013). The extant bees are currently classified into 7 widely acknowledge families : Andrenidae, Apidae, Colletidae, Halictidae, Stenotritidae, Melittidae *sensu lato* (*s.l.*) and Megachilidae ; including 25 subfamilies ; ~1,200 genera and ~20,000 species (Michener 2007 ; Cardinal & Danforth 2013). Two fossil families are described: Paleomelittidae from Eocene Baltic amber and Melittosphecidae from Cretaceous Burmese amber, even though the classification of Melittosphecidae within bees is still in debate (Engel 2001a ; Poinar & Danforth 2006 ; Ohl & Engel 2007 ; Michez *et al.* 2012).

The four main deposits with bee fossils are known from the Cenozoic : Dominican amber from the Early Miocene (~19 Myr), Florissant shale from the Oligocene (~34 Myr), Eckfeld/Messel shales and Baltic amber from the middle Eocene (~ 45 Myr) (Michez *et al.* 2012). These deposits have produced sizeable bee paleofaunas showing unexpected taxonomic Paleocene bee diversity (Zeuner & Manning 1976 ; Poinar 1999 ; Engel 2001a,b ; Wappler & Engel 2003). Because bee fossils are relatively rare, with c.a. 250 bee fossils mainly discovered from Cretaceous and Paleocene periods, additional records are of significant interest to evaluate the origin of the major groups and the rates of their diversification and extinction.

Herein we provide the description and analysis of a newly recognized bee fossil from the Eocene shale of the Green River Formation (Utah, USA). In order to assess the taxonomic affinity of the fossil species to extant and extinct bee taxa, we used geometric morphometric analysis of wing shape.

Material and methods

Description and systematics

The unique specimen was collected by Prof. Michael S. Engel in the Green River Formation (Fig. 1) The morphological terminology follows Engel (2001a) for the wing and the body description.



Figure 1. Ventral view of *Paleoeuglossa biesmeijeri* gen. nov sp. nov. (N. J. Vereecken).

Geological setting

The Green River Formation is exposed in various sedimentary basins in northeastern Utah, southern Wyoming and northwestern Colorado. The Uinta Basin is spanning between Utah and Colorado. It represented a shallow lake nestled among mountains that persisted for ~20 Myr (latest Paleocene to Late Eocene). The Parachute Creek Member (~47 Myr) of the formation in this basin, from where comes the bee fossil analysed in this paper, mainly formed during the middle Eocene (Franczyl *et al.* 1992 ; Hail & Smith 1997). It contains many insect compressions in oil shale. The flora found in this section of the basin suggests a tropical to subtropical climate with a distinct dry season (MacGinitie 1969). It grewed at a paleoelevation of ~1500-2900 m (Forest *et al.* 1999).

Morphometric analysis

Geometric morphometrics is a recent core of procedure which aim at quantifying and analysing the overall shape of a structure (Bookstein 1991 ; Rohlf & Marcus 1993). Even though taxonomic affinities assessed from shape analysis should not be mistaken with phylogenetic affinities, geometric morphometrics can provide a powerful tool in paleontology for discriminating taxa at different levels, and for discussing the taxonomic affinities between extinct and extant taxa (Roberts et al. 2008 ; Michez *et al.* 2009 ; De Meulemeester *et al.* 2012). However, it is important to understand that taxonomic affinities calculated based on the shape analysis of a structure should not be mistaken with phylogenetic affinities.

We performed a shape analysis of the shape of the new fossil. This method allows us to evaluate the similarity of the fossil wing shape with contemporary wings of extant and extinct taxa. Compared with other organs, wings show many methodological advantages, such as 2D structure, rigidity, species specificity and good conservation in fossil specimens (Pavlinov 2001). Moreover, wings veins and their intersections are unambiguously homologous among bees (Ross 1936).

We sampled tribal diversities among bees and apoid wasps. When possible, we sampled 5 specimens per species and 4 species per tribe. We assembled a dataset of 545 specimens representing 144 species, 100 genera, 47 tribes, 20 sub-families and 9 families of Apoidea (Table 1). Twelve of these species are extinct : *Bombus randeckensis* (Apidae, Apinae, Bombini), *Electrapis meliponoïdes*, *Electrapis krishnorum*, *Protobombus basilaris*, *Protobombus hirsutus* and *Thaumastobombus andreniformis* (Apidae, Apinae, Electrapini), *Electrobombus samlandensis* (Apidae, Apinae, Electrobombini), *Melikertes stilbonotus*, *Melissites trigona* and *Succinapis goeleti* (Apidae, Apinae, Melikertini), *Halictus petrefactus* (Halictidae, Halictinae, Halictini) and *Electrolictus antiquus* (Halictidae, Halictinae, Thrinchostomini). The new fossil being a female, all extant and extinct sampled specimens were female to avoid the likely effect of sexual dimorphism (Pretorius 2005 ; Rattanawanee *et al.* 2010).

Wings were photographed using an Olympus SZH10 microscope coupled with a Nikon D200 camera. Photographs were input to tps-UTILS 1.38 (Rohlf 2006a) and Cartesian coordinates of landmarks were digitized with tps-DIG 2.05 (Rohlf 2006b). The left forewing shape of the 545 specimens and of the new fossil was captured from photographs by digitizing 2D Cartesian coordinates of 18 *landmarks* placed on the wing veins (Fig. 1). Two-dimensional Cartesian coordinates of the *landmarks* were digitized on the wing photographs with tps-DIG v2.16 (Rohlf 2010). The landmark configurations were scaled, translated and rotated against the consensus configuration using the GLS Procrustes superimposition method to remove all the nonshape variables / differences and to separate the size and shape components of the form (Rohlf & Slice 1990 ; Adams *et al.* 2004). The superimposition was performed with IMP CoordGen6 (Sheets 2003). The aligned *landmark* configurations were projected into the Euclidean space tangent to the curved Kendall's shape space to aid further statistical analyses. The closeness of the tangent space to the curved shape space was tested by calculating the least-squares regression slope and the correlation coefficient between the Procrustes distances in the shape space with the Euclidean distances in the tangent space (Rohlf, 1999). This variation amplitude of our dataset was calculated with tps-SMALL v1.20 (Rohlf, 2003).

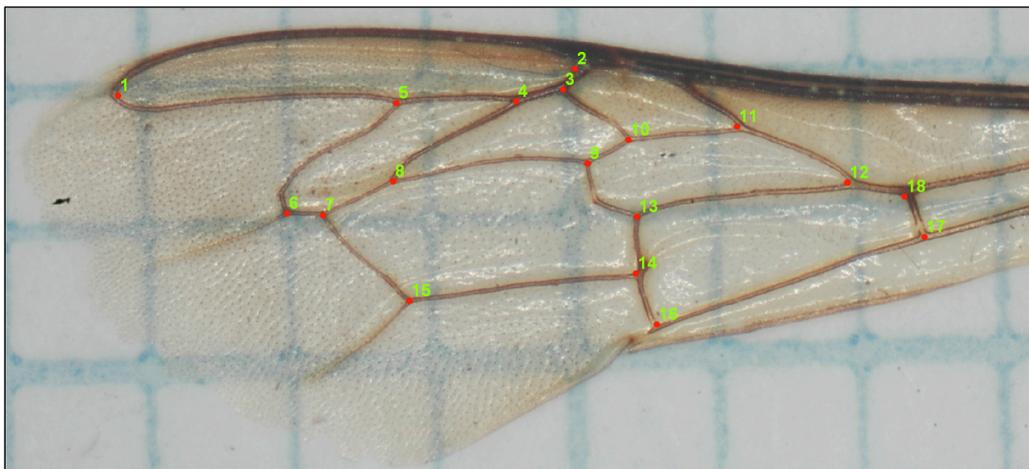


Fig. 1. Left forewing of *Apis mellifera* depicting the 18 *landmarks* used in the analysis (M. Dehon).

Statistical analysis

Shape variation was assessed by RWA based on the superimposed landmark coordinates. The RWA was calculated with IMP PCAGen6p. Shape discrimination within the dataset was also assessed by CVA performed with IMP CVAGen6o (Sheets, 2005). Specimens were grouped *a priori* by tribe and genus by tribe. Lastly we assessed a neighbour-joining clustering based on Mahalanobis distances between tribe means and fossil specimens.

Table 1. Data set for the geometric morphometric analysis including 545 specimens from 144 species and 47 tribes.

	Family	Subfamily	Tribe	N.	
ANTHOPHILA	ANDRENIDAE	Andreninae		5	
		Oxaeinae		4	
		Panurginae	Melitturgini	6	
	Protandrenini		4		
	APIDAE	Apinae	Ancylini	16	
			Anthophorini	20	
			Apini	20	
			Bombini	15 + 1†	
			Centridini	20	
			Electrapini †	6	
			Electrobombini †	1	
			Emphorini	18	
			Ericrocidini	20	
			Eucerini	20	
			Euglossini	20	
			Exomalopsini	4	
			Melectini	19	
			Melikertini †	3	
			Osirini	5	
			Rhathymini	5	
			Tapinotaspidini	5	
			Tetrapedini	5	
			Nomadinae	Epeolini	7
				Nomadini	20
	Xylocopinae	Ceratinini	20		
		Xylocopini	20		
	COLLETIDAE	Colletinae	Colletini	19	
			Paracolletini	5	
		Diphaglossinae	Caupolicanini	14	
	HALICTIDAE	Halictinae	Diphaglossini	3	
			Augochlorini	20	
			Caenohalictini	20	
			Halictini	20 + 1†	
Sphecodini			20		
Thrinchostomini			13 + 1†		
Nomiinae			17		
Nomioidinae			10		
Rophitinae			5		
MEGACHILIDAE			Fideliinae	Fideliini	8
MELITTIDAE <i>S.L.</i>	Meganomiinae		10		
	Melittinae	Melittini	20		
APOID WASPS	AMPULICIDAE	Ampulicinae	Ampulicini	10	
	CRABRONIDAE	Larrinae		5	
		Philanthinae		5	
	SPHECIDAE	Ammophilinae		5	
Sphecinae			5		
				Total = 545	

Results

Systematic paleontology

Family : Apidae Latreille 1802

Subfamily : Apinae Latreille 1802

Tribe : *Incertae sedis*, crown group of contemporary Corbiculate.

Genus *Paleoeglossa* Dehon gen. nov.

Type species. *Paleoeglossa biesmeijeri*

Etymology. From the Greek *Paleo*, which means « old, ancient », and Biesmeijer

Generic diagnosis

Female. Pterostigma small, not tapetrising beyond vein r-s. Three submarginal cell, the first longer than the second.

Male. Unknown.

***Paleoeglossa biesmeijeri* De Meulemeester & Michez sp. nov.**

Holotype. Female. Division of Entomology (Paleoentomology), Natural History Museum, and Department of Ecology and Evolutionary Biology, 1501 Crestline Drive - Suite 140, University of Kansas, Lawrence, KS, U.S.A.

Etymology. Named after Prof. Jacobus Biesmeijer, scientific director of the Naturalis Biodiversity Center. Prof. Biesmeijer is acknowledged for his career as a leading scientist who stimulates bee research...

Type strata and locality. Eocene, oil shale deposit, Parachute Creek Member of the Green River Formation, Uinta Basin, Utah, U.S.A.

Specific diagnosis : see diagnosis of the genus.

Description

Female. Dorsal face visible.

Head : Not visible.

Mesosoma : 4.00 mm long, 2.00 mm wide (between tegulae). Tegulae visible. Half of the mesoscutum visible, 1.66 mm long ; scutellum visible, 0.09 mm long ; metanotum visible, 0.32 mm long ; propodeum visible, 1.56 mm long ; propodeal pit visible. Pilosity : sparse, short. Only on the mesoscutum and the scutellum, all over the surface.

Legs : Prothoracic legs not visible. Left mesothoracic leg visible : femur 2.49 mm long ; tibia 1.75 mm long (incomplete). Right mesothoracic leg visible : femur 2.57 mm long ; tibia 2.14 mm long ; metatarsus 2.53 mm long ; claw 0.11 mm long. Left metathoracic leg visible : femur 1.30 mm long (incomplete) ; tibia 4.23 mm long (incomplete). Modification of the metatibia into a corbicula. Right metacoxa visible (incomplete), 0.31 mm long, right metatrochanter visible, 0.39 mm long (incomplete) ; left metacoxa visible (incomplete), 0.32 mm long, and left metatrochanter visible (incomplete), 0.46 mm long. Right mesobasitarsus visible, 1.91 mm long and 0.26 mm wide, and first part of the right mesomediotarsus visible, 0.68 mm long and 0.13 mm wide. The right mesobasitarsus is shorter than the right mesotibia. Pilosity : black punctation at the basis of hairs : on the metatrochanters, on mesofemurs and mesotibiae, metafemurs and metatibiae. Same punctation on the metatrochanters than on the other segments of the legs.

Forewings : left forewing 8 mm long, right forewing 8 mm long. Three submarginal cells : first 1.23 mm long (as measured from origin of M + Rs to juncture of r-rs and Rs), 0.47 mm height (as measured from M + Rs to pterostigma) ; second 0.99 mm long (as measured from juncture of M + Rs and M to juncture of Rs and 1rs-m), 0.43 mm height (as measured from midpoint on M between 1m-cu and 1rs-m to juncture of r-rs and Rs) ; third 0.84 mm long (as measured from juncture of 1rs-m and M to juncture of M and 2rs-m), 0.41 mm height (as measured from juncture of M and 2m-cu to juncture of 2rs-m and Rs). First medial cell 2.47 mm long (measured from juncture of M+Cu and Cu to juncture of 1m-cu and M) and 0.68 mm height (measured from juncture of M and M + Rs to midpoint on Cu between M + Cu and 1m-cu). Pterostigma small, 0.2 mm. Marginal cell 2.04 mm long, apex pointed. 2m-cu crossvein not entirely visible. Vein 1m-cu joining the second submarginal cell near its apex. First abscissa of Rs straight, 1.39 mm long. Tegulae are nearly as long as wide.

Hindwings : not visible.

Metasoma : 5.43 mm long, 4.67 mm wide. Incomplete. Hairless like.

Male. Unknown.

Position of Paleoeglossa biesmeijeri gen. nov. sp. n. in Apoidea

Paleoeglossa biesmeijeri belongs to Anthophila because it has branched hairs and large mesobasitarsus.

Position of Paleoeglossa biesmeijeri gen. nov. sp. nov. in Anthophila

Gloss : not visible.

Antenna : not visible.

Paleoeglossa biesmeijeri sp. n. has three submarginal cells, suggesting that the species was probably not a Xeromelissinae, a Hylaeinae nor a Euryglossinae (Colletidae), a Dasypodainae (Melittidae), a Megachilinae (Megachilidae) and a number of other groups in Apidae : Allodapini (Xylocopinae), Ammobatoidini, Biastini, Townsendiellini, Neolarrini, Ammobatini, Caenoprosopidini (Nomadinae), Ctenoplectrini (Apinae).

Paleoeglossa biesmeijeri sp. n. shows hairs and structures to collect pollen, suggesting that the species was probably not cleptoparasitic like : family Halictidae, subfamily Halictinae (tribe Halictini (genera *Echtralictus*, *Eupetersia*, *Sphecodes*, *Halictus* (*Paraseladonia*), *Lasioglossum*, *Dialictus*, *Paradialictus*, *Microsphecodes*, *Parathrincostruma*, *Ptilocleptis*)) ; family Apidae, subfamily Nomadinae, subfamily Apinae (tribe Rhatymini, Ericrocidini, Melectini, Isepeolini, Protepeolini, Osirini, Tetrapediini (genus *Coelioxoides*), tribe Euglossini (genera *Exaerete* and *Aglae*)).

Paleoeglossa biesmeijeri sp. n. has small pterostigmae and a mesobasitarsus shorter than the mesotibia, suggesting that it's not a Xylocopinae.

Paleoeglossa biesmeijeri sp. n. looks like an Anthophoriform bee, in other words a robust bee with hair on the prosoma, the mesosoma and the metasoma.

Paleoeglossa biesmeijeri sp. n. presents a modification of the metatibia into a corbicula, suggesting that it belongs to the Corbiculate group in Apinae. The corbiculate clade consists of four extant tribes (Apini, Bombini, Euglossini and Meliponini) and three extinct clades (Melikertini, Electrapini and Electrobombini) (Engel 2001a).

Position of *Paleoeglossa biesmeijeri* gen. nov. sp. n. in Apidae, Corbiculate

Paleoeglossa biesmeijeri sp. n. was probably a Corbiculate. It was probably not a Meliponini, this tribe possessing a reduced wing venation. The tribe Apini has a marginal cell nearly four times as long as the distance from its apex to the wing tip, suggesting that the species was probably not an Apini.

Morphometric analysis

Attribution of fossils in Apoidea

The regression coefficient between the Procrustes distances and the Euclidean distances is close to 1 (0.9998) This means that the linear tangent space closely approximates the shape space, thereby permitting us to be confident in the variation amplitude of our dataset.

In the morphometrics space defined by the relative warp analysis (RWA), nearly all 9 families are well isolated from each other (Fig. 2, 3). Family discrimination in the RW space is therefore truly effective. Based on this unsupervised approach the fossil specimen is clustered with the Apidae. In agreement with previous studies, fossil specimens of *Bombus randeckensis*, *Electrapis meliponoïdes*, *Electrapis krishnorum*, *Protobombus basilaris*, *Protobombus hirsutus*, *Thaumastobombus andreniformi*, *Electrobombus samlandensis*, *Melikertes stilbonotus*, *Melissites trigona* and *Succinapis goeleti* are clustered with the Apidae while *Halictus petrefactus* and *Electrolictus antiquus* are clustered with Halictidae (Engel, 2001a; De Meulemeester *et al.*, 2012; Wappler *et al.*, 2013). The two first axes of the RWA account for 51.98% of the variation in the data.

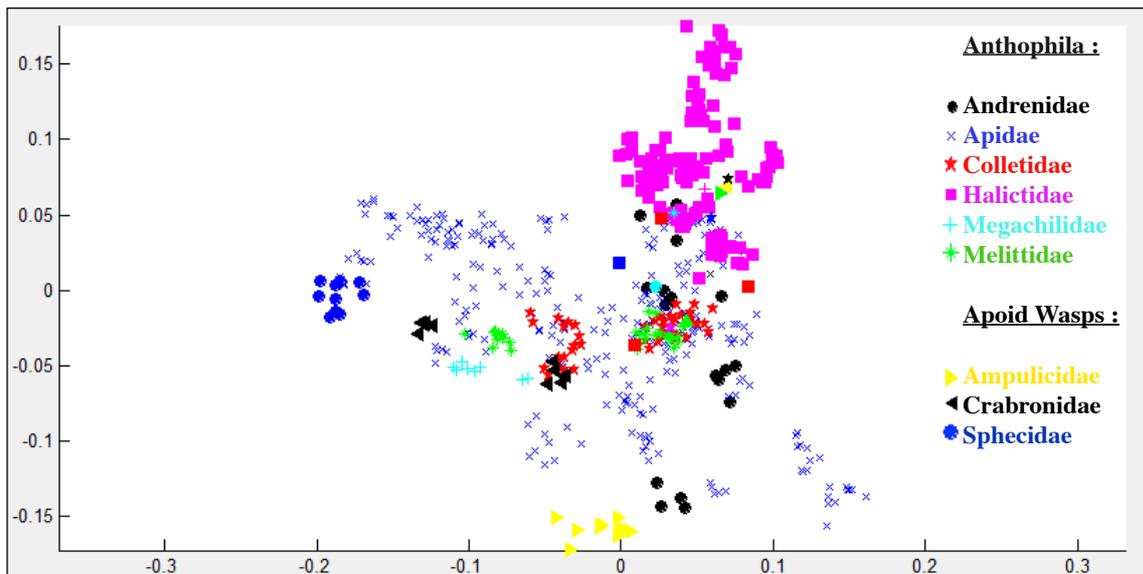


Fig. 2. Distribution of the 546 examined specimens of extant and extinct bees along the first two RWs. RW1 : 28.87% ; RW2 : 23.11%.

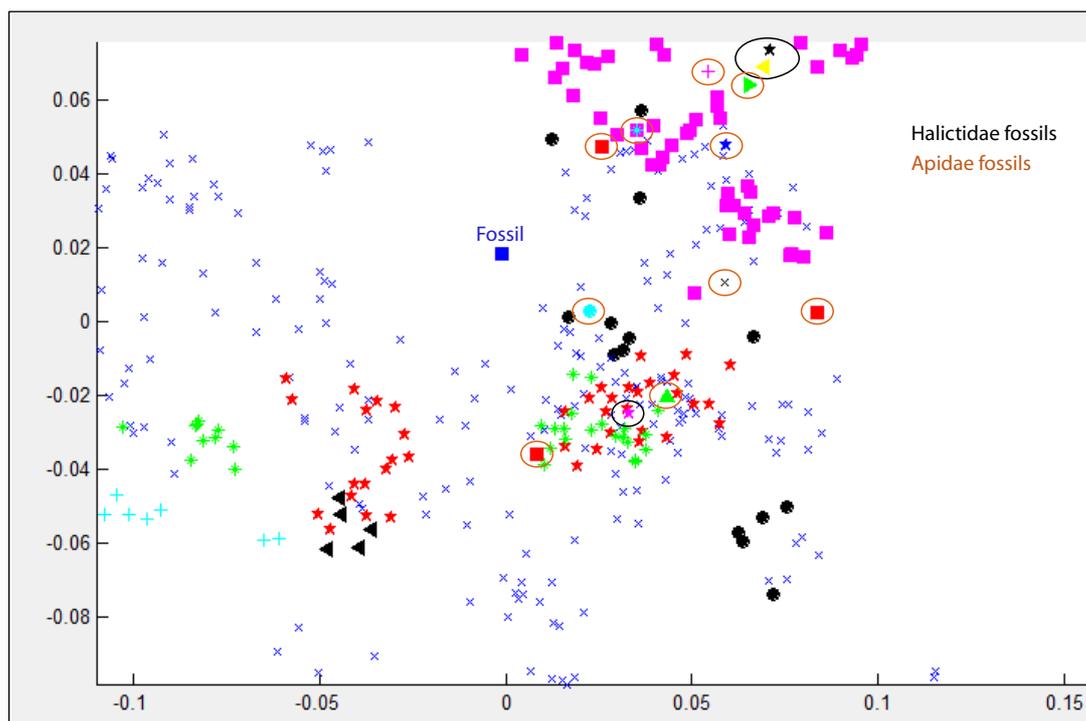


Fig. 3. Zoom on the distribution of the 546 examined specimens of extant and extinct bees along the first two RWs.

In the morphometrics space defined by the CVA, all 9 families are well isolated from each other (Fig. 4). Family discrimination in the CV space is therefore truly effective. The

fossil specimen is clearly clustered with the Apidae. The first axis isolates Anthophila from Apoid Wasps. The two first axes of the CVA account for 19.54% of the variation in the data.

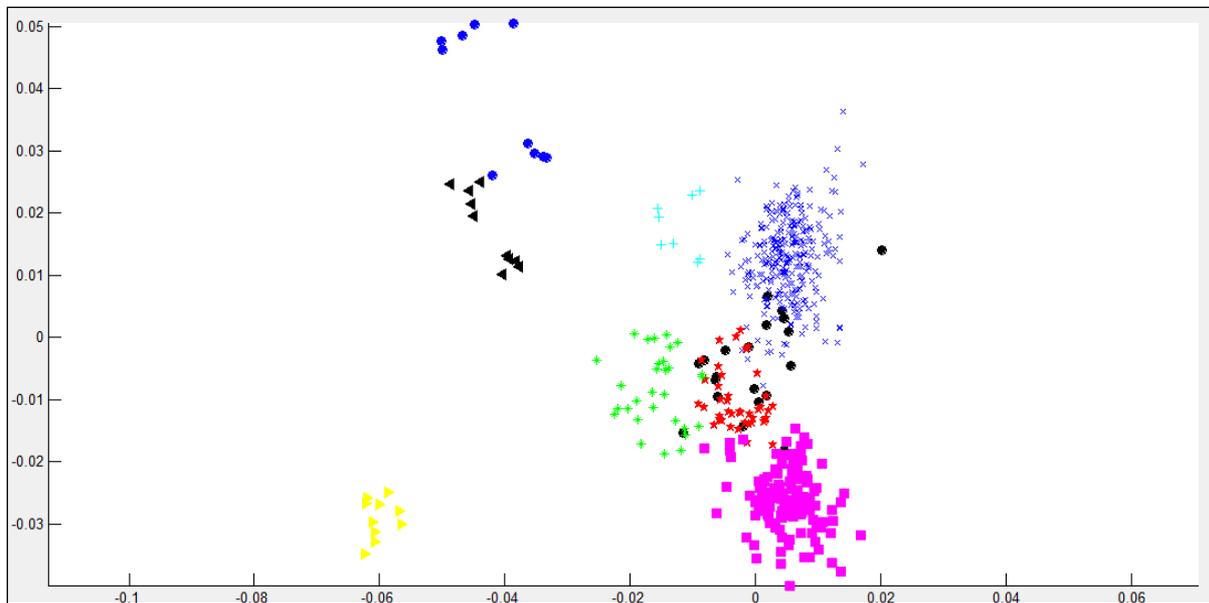


Fig. 4. Ordination of the 9 families and the fossil species along the first two axes of the CVA (CV1 and CV2). CV1 : 11.03% ; CV2 : 8.51%.

Attribution of the fossil specimen in Apidae

In the morphometrics space defined by the relative warp analysis (RWA), all 3 subfamilies are not well isolated from each other (Fig. 5). Based on this unsupervised approach the fossil specimen is clustered with the Apinae. The first two first axes of the RWA account for just 59.25% of the variation in the data.

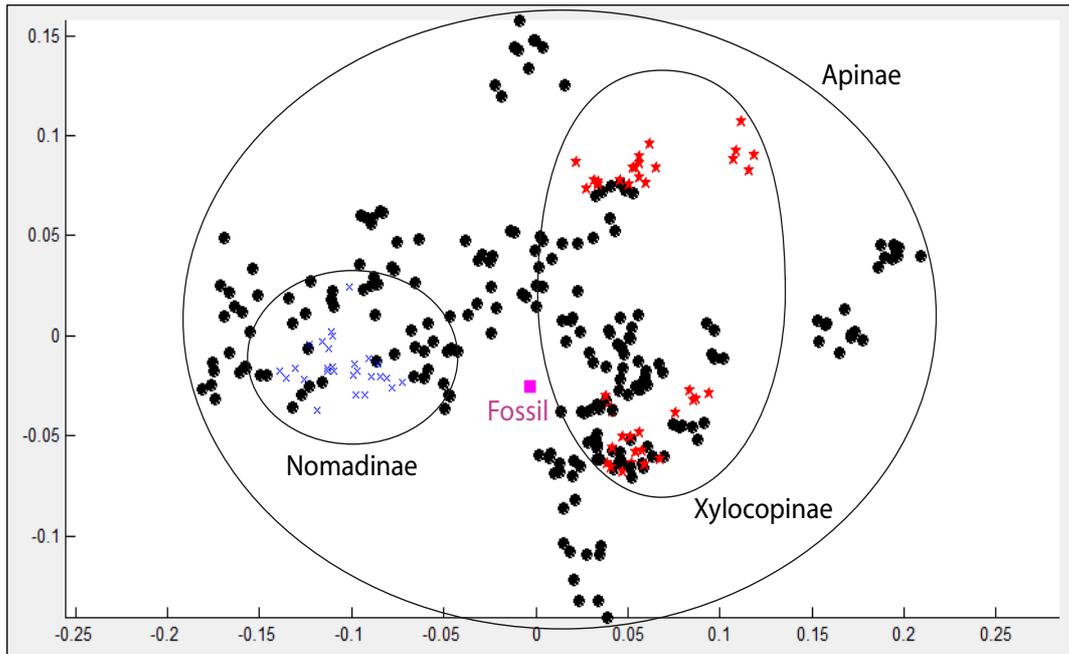


Fig. 5. Distribution of the 292 examined specimens of extant and extinct Apidae along the first two RWs. RW1 : 43.52% ; RW2 : 15.73%.

In the morphometrics space defined by the CVA, all 3 subfamilies are well isolated from each other (Fig. 6). Subfamily discrimination in the CV space is therefore truly effective. The fossil specimen is clearly clustered with the Apinae. The two first axes of the CVA account for just 16.23% of the variation in the data.

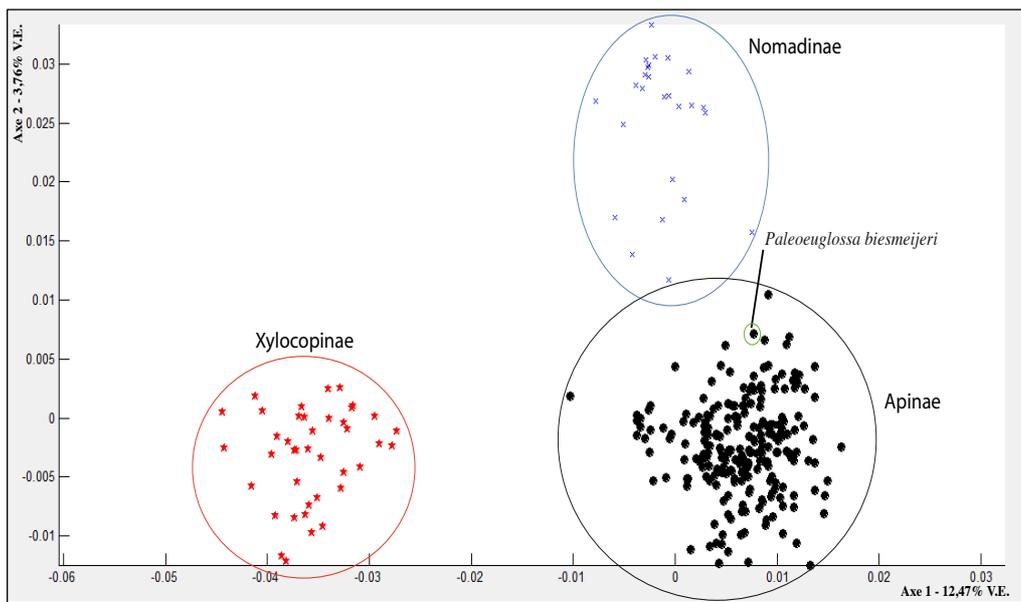


Fig. 6. Distribution of the 292 examined specimens of extant and extinct Apidae along the first two CVs. CV1 : 12.47% ; CV2 : 3.76 %.

Attribution of the fossil specimen in Apinae

In the morphometrics space defined by the CVA most tribes are isolated from each other (Fig. 7). Tribe discrimination in the CV space is therefore truly effective. The axes 2 and 4 of the CVA account for just 33.26% of the variation in the data.

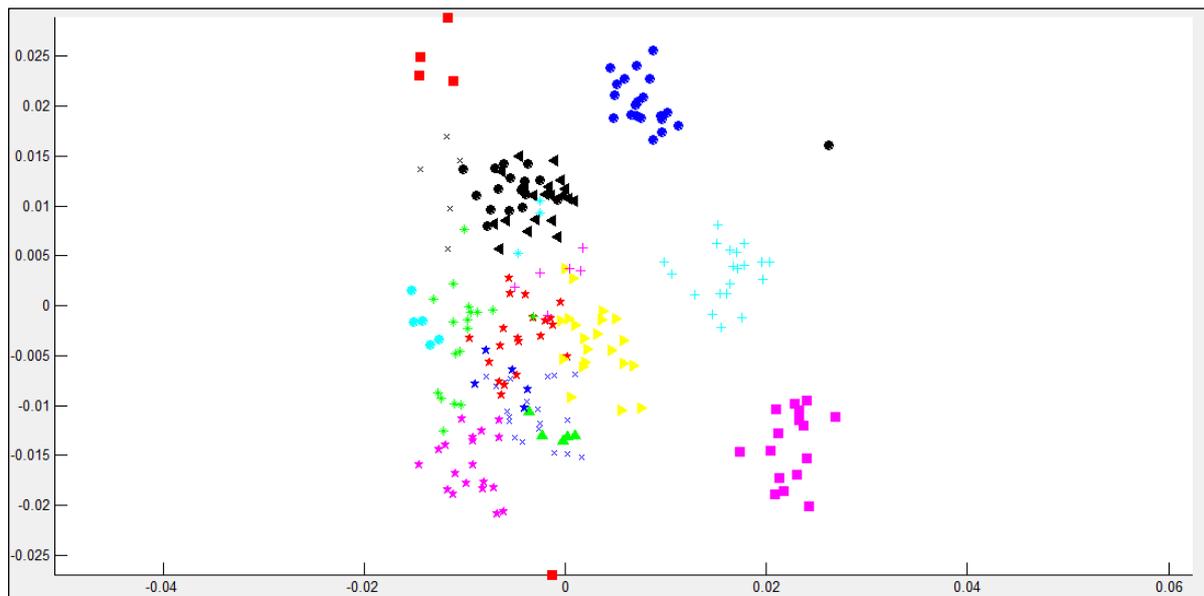


Fig. 7. Distribution of the 225 examined specimens of extant and extinct Apinae along CVs 2 and 4. CV2 : 18.93 % ; CV4 : 14.33%.

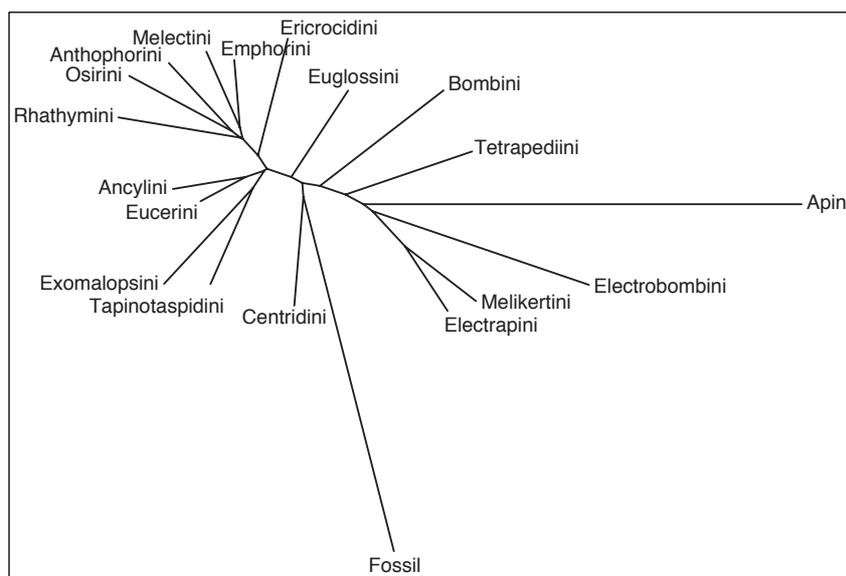


Fig. 8. Unrooted NJ tree based on mahalanobis distances including modern tribes and fossil taxa of Apinae.

Discussion

Geometric morphometrics to discriminate bees

De Meulemeester *et al.* (2012) showed that geometric morphometrics analyses of wing shape are powerful enough to discriminate among tribes of contemporary halictid bees. Here, we show that we can also discriminate bees at a higher taxonomic level. Indeed, we show that we can discriminate bee families and subfamilies by using geometric morphometrics analyses of forewing shape.

Paleoeglossa biesmeijeri and evolution of Corbiculate bees

We examined the taxonomic attribution of *Paleoeglossa biesmeijeri*. Our morphometric analysis shows its similarity with contemporary tribes Corbiculate, especially with Euglossini. Moreover, it is highly supported by the fact that *P. biesmeijeri* presents a modification of the metatibia into a corbicula.

The association of *P. biesmeijeri* with Corbiculate tribes, particularly with Euglossini, is certainly plausible given the current distribution and ecology of Euglossini. This tribe encompasses a diverse group of bees that inhabits the New World tropics (Ramírez *et al.* 2010). Molecular clock analyses in Ramírez *et al.* (2010) suggest that « orchid bees are a relatively young group, with all extant lineages sharing a most recent common ancestor during the Miocene-Eocene periods, approximately 27-42 Myr ». Moreover, this study also suggests that some early diversification in orchid bees took place in Central America.

The association of *P. biesmeijeri* with Corbiculate tribes provides an evidence of Corbiculate diversity in the Middle Eocene, and could indicate that *P. biesmeijeri* belongs to a crown group of contemporary Corbiculate tribes and that the geographic origins of Corbiculate bee are likely in South America.

In conclusion, we are confident that *P. biesmeijeri* is taxonomically close to the Corbiculate tribes and could belong to a crown group of contemporary Corbiculate bees.

Aknowledgements

We are very grateful to the crew of the National History Museum (London, UK), the Naturalis Biodiversity Center (Leiden, NL), the University of Liège (Gembloux, BE), the Royal Museum of Central Africa (Tervuren, BE) and the Royal Belgian Institute of Natural Sciences (Bruxelles, BE) for allowing us to their entomological collections.

References

- Adams, D.C., Rohlf, F.J. & Slice, D.E. (2004)** Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, **71** : 5-16.
- Alexander, B.A. & Michener, C.D. (1995)** Phylogenetic studies of the families of short-tongued bees (Hymenoptera: Apoidea). *The University of Kansas Science Bulletin*, **55** : 377-424.
- Cardinal S., Danforth B. N. (2013)** Bees diversified in the age of eudicots. *Proceedings of the Royal Society B*, **280** : 1471-2954.
- Bookstein, F.L. (1991)** Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. *Cambridge University Press, Cambridge, U.K.*
- Danforth, B.N., Fang, J. & Sipes, S.D. (2006a)** Analysis of family-level relationships in bees (Hymenoptera: Apiformes) using 28S and two previously unexplored nuclear genes: CAD and RNA polymerase II. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **39** : 358–372.
- Danforth, B. N., Sipes, S. D., Fang, J. & Brady, S. G. (2006b)** The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103** : 15118-15123.
- Debevec A. H., Cardinal S., & Danforth B. N. (2012)** Identifying the sister group of the bees : a molecular phylogeny of Aculeata with an emphasis on the superfamily Apoidea. *Zoology Scripta*, **41(5)** : 527-535.
- Engel, M.S. (2001a)** A monograph of the Baltic Amber bees and evolution of the Apoidea (Hymenoptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **259** : 1-192.
- Engel, M.S. (2001b)** The first large carpenter bee from the Tertiary of North America, with a consideration of the geological history of Xylocopinae. *Transactions of the American Entomological Society*, **127** : 245-54.

- Forest, C.E., Wolfe, J.A., Molnar, P. & Emanuel, K.A. (1999)** Paleoaltimetry incorporating atmospheric physics and botanical estimates of paleoclimate. *Geological Society of America Bulletin*, **111** : 497-511.
- Franczyk, K.J., Fouch, T.D., Johnson, R.C., Molenaar, C.M. & Cobban, W. (1992)** Cretaceous and Tertiary paleogeographic reconstructions for the Uinta-Piceance Basin study area, Colorado and Utah. *United States Geological Survey Bulletin*, **1787** : 1-137.
- Hail, W.J., Jr. & Smith, M.C. (1997)** Geology of the southern part of the Piceance Creek Basin, northwestern Colorado. *United States Geological Survey*. IMAP 2529.
- MacGinitie, H.D. (1969)** The Eocene Green River flora of northwestern Colorado and northeastern Utah. *University of California Publications in Geological Sciences*, **83** : 1-140.
- Michener C.D. (2007)** The bees of the world, second edition. *The Johns Hopkins University Press, Baltimore*, 913 pp.
- Ohl, M. and Engel, M.S. (2007)** Fossil history of the bees and their relatives (Hymenoptera:Apoidea). *Denisia*, **20** : 687-700.
- Patiny S., Rasmont P., Michez D. (2009)** A survey and review of the status of wild bees in the West-Palaeartic region. *Apidologie*, **40** : 313-331.
- Poinar, G.O.J. (1999)** Cenozoic fauna and flora in amber. *Estudios del Museo de Ciencias Naturales de Alava*, **14** : 151-154.
- Pretorius, E. (2005)** Using geometric morphometrics to investigate wing dimorphism in males and females of Hymenoptera – a case study based on the genus *Tachysphex* Kohl (Hymenoptera: Sphecidae: Larrinae). *Australian Journal of Entomology*, **44** : 113-121.
- R Core Team (2012)** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ramírez, S. R., Roubik, D. W., Skov, C., & Pierce, N. E. (2010)** Phylogeny, diversification patterns and historical biogeography of euglossine orchid bees (Hymenoptera: Apidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **100(3)** : 552-572.
- Rattanawanee, A., Chanchao, C. & Wongsiri, S. (2010)** Gender and species identification of four native honey bees (Apidae: Apis) in Thailand based on wing morphometric analysis. *Annals of the Entomological Society of America*, **103** : 965-970.
- Rohlf, F.J. (1999)** Shape statistics: procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification*, **16** : 197-223.

- Rohlf, F.J. (2003)** tpsSMALL, Version 1.20. *Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, NY.*
- Rohlf, F. J. (2006a)** tpsUTIL, *File Utility Program*, Version 1.38 [Software and Manual]. New-York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F. J. (2006b)** tpsDIG, Digitize Landmarks and Outlines, Version 2.05. [Software and Manual]. *New-York: Department of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook.*
- Rohlf, F.J. (2010)** tpsDIG, Digitize Landmarks and Outlines, Version 2.16. *Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, NY.*
- Rohlf, F.J. & Slice, D. (1990)** Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, **39** : 40-59.
- Sheets, H.D. (2003)** CVAGen6f, New York: Canisius College, Buffalo, <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm>.
- Sheets H.D. (2005)** PCAGen6p, New York: Canisius College, Buffalo, <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm>.
- Wappler, T. & Engel, M.S. (2003)** The middle Eocene bee faunas of Eckfeld and Messel, Germany (Hymenoptera:Apoidea). *Journal of Paleontology*, **77** : 908-21.
- Zeuner, F.E. & Manning, F.J. (1976)** A monograph on fossil bees (Hymenoptera: Apoidea). *Bulletin of the British Museum (Natural History), Geology*, **27** : 149-268.