



UNIVERSITE DE MONS -FACULTE DES SCIENCES -LABORATOIRE DE ZOOLOGIE

Micro- et macroévolution des ailes d'abeilles du genre *Melitta*

(Hymenoptera, Apoidea, Melittidae)



Directeur de mémoire : Dr. Denis Michez Co-promoteur : Dr. Thibaut De Meulemeester Mémoire de fin d'Etudes présenté par **Dewulf Alexandre** en vue de l'obtention du grade de **Maitre en Sciences Biologiques, orientation Biologie des organismes et Ecologie**

Année académique 2012 – 2013

A. Dewulf. 2013. Micro- et macroévolution des ailes d'abeilles du genre *Melitta* (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae). Mémoire en Sciences Biologiques, Université de Mons, 72 p.

Résumé :

La systématique des abeilles est principalement basée sur la morphologie de la langue, des génitalia, ou sur des analyses moléculaires. Depuis le développement des techniques de morphométrie géométrique, la morphologie des ailes est de de plus en plus étudiée pour diagnostiquer les abeilles à différents niveaux taxonomiques. Les ailes ont l'avantage d'être une structure en 2D, rigide et possédant un haut degré de conservation au sein des spécimens fossiles. De plus, les veines et leurs intersections sont clairement homologues à travers les différents groupes d'abeilles. Cependant, pour être utilisée en tant que caractère diagnostique, et constituer un signal phylogénétique, la forme des ailes doit être indépendante des pressions environnementales, de la sélection sexuelle, et de la variabilité intrinsèque. La plupart des études ayant montré la présence de variation de la forme des ailes liée à ces différentes pressions n'analysent pas ce caractère dans un contexte évolutif.

La présente étude se focalise sur les abeilles du genre *Melitta*, appartenant à la famille des Melittidae. Bien que la topologie basale de cette famille soit largement acceptée, sa phylogénie est controversée. En effet, certains supportent l'hypothèse de la monophylie tandis que d'autres, celle de la paraphylie.

L'objectif central de ce mémoire est de caractériser le signal phylogénétique de la forme des ailes des abeilles du genre *Melitta*. Il comprend deux niveaux d'études correspondant à des échelles de temps différents. Le premier niveau correspond à l'étude de microévolution chez les trois espèces *Melitta leporina, Melitta nigricans* et *Melitta tricincta,* et a pour objectif de vérifier s'il y a une pression de sélection sur la forme des ailes de *Melitta*. Le second niveau correspond à l'étude de macroévolution, basée sur un échantillonnage de la majorité des espèces du genre *Melitta,* et a pour but principal de définir la qualité du signal phylogénétique dans la forme des ailes de *Melitta*.

Il ressort que la forme des ailes de *Melitta* constitue un caractère neutre, capable de diagnostiquer avec efficacité les différentes espèces étudiées. Cependant, les analyses de la différence entre les similarités des formes d'aile et la phylogénie n'ont pas montré de concordance pour la détermination des liens de parenté entre les taxons. Il n'y a donc pas de signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes de *Melitta*. L'analyse de l'affinité taxonomique du fossile de *Melitta willardi* réfute l'hypothèse établie par Cockerell, et indique une proximité phénotypique du spécimen avec la sous-famille des Andreninae.

Mots-clés : *Mellita* - Micro/Macroévolution - Morphométrie géométrique - Forme des ailes - Pressions de sélection - Signal phylogénétique

A. Dewulf. 2013. Micro- and macroevolution of wing shape in the *Melitta* genus (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae). Master thesis in Biological Sciences, Université de Mons, 72 p.

Summary:

Bee systematics is mainly based on the morphology of tongue, genitalia, or molecular features. Since the development of geometric morphometrics methods, the morphology of wings is increasingly studied to diagnose bees at different taxonomic levels. The wings have the advantage of being a 2D structure, rather stiff and that have a high degree of conservation in the fossil specimens. In addition, the veins and their intersections are clearly homologous in bees. However, to be used as a diagnostic character, wing shape must be independent of environmental pressures, sexual selection, and internal variability. Previous study of wing shape variation related to these pressures did not analyze this character in an evolutionary context.

This study focuses on bees of the *Melitta* genus, belonging to the family of Melittidae. Although the basal topology of this family is widely accepted, its phylogeny is controverted. Indeed, one supports the hypothesis of monophyly while others, the paraphyly.

The main goal of this thesis is to characterize the phylogenetic signal in the wing shape of bees of the *Melitta* genus. It includes two levels of study corresponding to different time scales. The first level corresponds to the study of microevolution in the three species *Melitta leporina*, *Melitta nigricans* and *Melitta tricincta*, and test if there is a selection pressure on wing shape. The second level corresponds to the study of macroevolution, based on a sampling of the majority of *Melitta* species, and has the aim to define the quality of the phylogenetic signal in wing shape.

It appears that the wing shape of *Melitta* is a neutral character that can effectively diagnose species. Analyses of the differences between the clustering similarities and phylogeny do not match enough to determine the relationship between taxa based on wing shape. Therefore there is no phylogenetic signal in the similarity of the wing shape of *Melitta*. The analysis of the taxonomic affinity of the fossil *Melitta willardi* rejects the hypothesis established by Cockerell, and indicates a phenotypic link of the specimen with the Andreninae.

Key words: *Mellita* - Micro/Macroevolution - Geometric morphometrics - Wing shape - Selection pressure - Phylogenetic signal

Remerciements

Je tiens à remercier via ces quelques mots celles et ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce 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 travail.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au Dr. Denis MICHEZ pour ses enseignements, ses conseils, et pour m'avoir soutenu et encouragé dans les moments les plus difficiles de cette dernière année.

Je tiens à remercier chaleureusement le Dr. Thibaut DE MEULEMEESTER pour m'avoir transmis les connaissances dans le domaine fascinant qu'est la morphométrie géométrique, ainsi que pour ses précieuses aides apportées lors de la manipulation des outils statistiques.

Je tiens à remercier spécialement Simon DELLICOUR pour m'avoir fourni le matériel et les informations nécessaires à la réalisation de ce projet.

Je remercie Manuel DEHON, qui a contribué à l'enrichissement des données utilisées dans ce mémoire.

Je remercie Thomas LECOCQ et le Dr. Maryse VANDERPLANCK pour leurs conseils et aides apportés lors de la manipulation des outils statistiques.

Un grand merci au Prof. Michael S. ENGEL (Université du Kansas, USA) ainsi qu'au Museum de Zoologie Comparative de l'Université de Harvard (USA) qui ont rendu possible l'étude paléontologique du fossile étudié dans ce présent mémoire.

Je remercie les responsables des collections entomologiques du Musée d'Histoires Naturelles de Londres (UK) et du Museum Naturalis de Leiden (NL) pour leur accueil et leur contribution dans le rassemblement du matériel de collection requis.

Un tel projet n'aurait sans doute pas abouti sans le soutien de ma famille et de mes amis. Je tiens à remercier tout particulièrement Morgane qui m'a accompagné et soutenu tout au long de la réalisation de ce projet.

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

Enfin, que toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration 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 MATIERES

1.	INTRODUCTION
	1.1. Les abeilles, généralités8
	1.1.1. Systématique
	1.1.2. Paléontologie
	1.2. La famille des Melittidae12
	1.2.1. Systématique et biogéographie12
	1.2.2. Biologie
	1.2.3. Paléontologie14
	1.2.4. Le genre <i>Melitta</i> 14
	1.3. Forme des ailes chez les abeilles16
	1.3.1. Taxonomie16
	1.3.2. Evolution et pression de sélection17
	1.4. Objectifs21
2.	MATERIEL ET METHODE
	2.1. Modèles biologiques et échantillonnage22
	2.1.1. Microévolution des ailes de <i>Melitta</i> 22
	2.1.2. Macroévolution des ailes de <i>Melitta</i>
	2.2. Méthode
	2.2.1. Morphométrie géométrique29
	2.2.2. Acquisition des données
	2.2.2.1. Photographie de l'aile
	2.2.2.2. Positionnement des landmarks
	2.2.2.3. Taille centroide et facteurs environnementaux
	2.2.2.4. Phylogénie du genre Melitta
	2.3. Analyses statistiques et phylogénétiques36
	2.3.1. Présentation des analyses
	2.3.2. Application à l'étude de la microévolution

	2.3.3. Application à l'étude de la macroévolution
3.	RESULTATS41
	3.1. Microévolution des ailes de <i>Melitta</i> 41
	3.1.1. Sélection sexuelle
	3.1.2. Variation de la forme des ailes par différents facteurs
	3.2. Macroévolution des ailes de <i>Melitta</i> et paléontologie49
	3.2.1. Valeur diagnostique de la forme des ailes au niveau générique et spécifique49
	3.2.2. Estimation du signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes50
	3.2.3. Affinité taxonomique du fossile de <i>M. willardi</i>
4.	DISCUSSION
	4.1. Pressions de sélection sur la forme des ailes57
	4.2. Evolution de la forme des ailes58
	4.3. Affinité taxonomique du fossile de <i>M. willardi</i> 59
5.	CONCLUSION
6.	PERSPECTIVES
7.	BIBLIOGRAPHIE

Introduction générale :

Les abeilles sont des hyménoptères apocrites du groupe des Aculéates et de la superfamille des Apoidea. La plupart sont solitaires (Michener 2007) et présentent une grande diversité de régime alimentaire et de morphologie. Elles constituent un groupe très important pour la pollinisation.

La systématique supra-générique et générique des abeilles est surtout basée sur la morphologie de la langue et des ailes (Alexander et Michener 1995). En comparaison des autres organes, les ailes ont l'avantage d'être une structure en 2D, plutôt rigide et possédant un haut degré de conservation au sein des spécimens fossiles. De plus, les veines et leurs intersections sont clairement homologues à travers les différents groupes d'abeilles (Ross 1936). Bien que les ailes soient diagnostiques à différents niveaux taxonomiques, les quelques études qui ont comparé les similarités basées sur la forme des ailes et la phylogénie ont montré une grande différence dans les groupements, surtout dans des niveaux taxonomiques élevés (*e.g.* supra tribal ; Michez *et al.* 2009b, De Meulemeester *et al.* 2012).

Le signal phylogénétique d'un caractère (morphologique, écologique,...) définit la tendance qu'ont des espèces phylogénétiquement proches à plus se ressembler que des espèces éloignées. La quantification de ce signal traduit par la forme d'un objet constitue la difficulté principale (Klingenberg et Gidaszewski 2010) car les caractères morphologiques peuvent évoluer à des vitesses différentes des caractères moléculaires, entrainant des topologies de groupement différentes. Jusqu'à présent, aucun cas d'homoplasie des ailes des abeilles n'a été observé (De Meulemeester 2011). La force du signal phylogénétique contenu dans la forme de l'aile ainsi que son faible degré d'homoplasie ont notamment été soulignés dans le cas des drosophiles (Klingenberg et Gidaszewski 2010). Cependant, comme la forme des ailes d'abeilles définit partiellement les performances de vol et donc le succès de butinage, elle n'est probablement pas un caractère neutre. Trois types de pression peuvent entraîner l'apparition de divergences au sein des clusters morphologiques : les pressions environnementales (altitude, température,...), la sélection sexuelle, et la variabilité intrinsèque (allométrie, pathogènes,...). La plupart des études ayant montré la présence de variation de la forme des ailes liée à ces différentes pressions n'analysent pas ce caractère dans un contexte évolutif.

Dans ce mémoire, nous sommes focalisés sur la famille des Melittidae, et plus particulièrement sur le genre *Melitta* pour évaluer la qualité du signal phylogénétique de la forme de leurs ailes.

1. INTRODUCTION

1.1. Les abeilles, généralités

1.1.1. Systématique

Les abeilles sont des hyménoptères apocrites du groupe des Aculéates et de la superfamille des Apoidea. Elles forment un groupe monophylétique dérivé d'un groupe paraphylétique de guêpes apoïdes prédatrices, les Spheciformes (Brothers 1998; Danforth *et al.* 2006; Michener 2007). Elles sont vraisemblablement apparues à la mi-Crétacé, en même temps que la diversification des plantes à fleurs (Grimaldi 1999; Engel 2001 ; Crepet *et al.* 2004; Grimaldi et Engel 2005). Les hypothèses quant à leur origine et leur diversification sont principalement basées sur les fossiles d'abeilles (Michener et Grimaldi 1988; Poinar et Danforth 2006), de plantes (Hu *et al.* 2008) et des analyses phylogénétiques (Danforth *et al.* 2013).

La première classification moderne des abeilles est proposée dans la thèse de doctorat de Charles D. Michener (Michener 1944). Celle-ci, basée sur l'étude de la morphologie de la glosse, considère la famille des Colletidae comme groupe basal. Cependant, plusieurs auteurs, dont Michener lui-même, ont lancé l'hypothèse que le groupe basal du clade des abeilles est soit celui des Melittidae *s.l.*, soit celui des abeilles à longue langue, soit encore celui d'un groupe monophylétique constitué par les deux premiers (Michener 2000, 2005 ; McGinley 1980 ; Radchenko *et al.* 1994). Récemment, Danforth *et al.* (2006) ont démontré de manière convaincante la position dérivée des abeilles à langue courte ainsi que la position basale du groupe paraphylétique des Melittidae (fig.1).



Figure 1. Phylogénie des Apoidea Apiformes basée sur la morphologie des adultes et le séquençage de 5 gènes (d'après Danforth et al. 2006).

Un autre point sur lequel les avis divergent concerne le nombre de familles d'abeilles actuellement reconnues. Selon Michener (2000), les abeilles sont divisées en 7 familles contemporaines : les familles d'abeilles à longues langues (Megachilidae et Apidae) et les familles d'abeilles à courtes langues (Colletidae, Stenotritidae, Andrenidae, Halictidae, Melittidae *s.l.*). Danforth *et al.* (2006) ont quant à eux reconnu 9 familles existantes (avec les Melittidae *s.l.* contenant les Dasypodaidae, Meganomiidae et Melittidae *s.str.*), considérant les Melittidae comme groupe paraphylétique (fig.1).

1.1.2. Paléontologie

Les fossiles sont extrêmement importants pour décrire l'origine et la diversification de beaucoup d'animaux et de plantes (Jackson et Erwin 2006). Cependant, les taxons fossiles ne sont pas toujours facilement classés dans un groupe taxonomique car les spécimens peuvent être fragmentés, endommagés, ou parfois comportant quelques détails morphologiques difficilement observables. Seuls les fossiles de l'ambre sont souvent suffisamment bien préservés pour observer correctement les caractères morphologiques diagnostiques (Michener 2000). En effet, l'ambre permet une conservation fidèle, même pour des structures fragiles (Grimaldi et Engel 2005).

Dans le monde, 4 principaux gisements de fossiles d'abeilles sont connus :

- L'ambre dominicaine du Miocène (-20 Ma ; Michener et Poinar 1996)
- Le gisement de schiste argileux de Florissant, à la frontière Eocène-Oligocène (-34 Ma ; Engel 2002),
- Le schiste argileux d'Eckfeld/Messel (Allemagne) (-45 Ma ; Wappler et Engel 2003)
- L'ambre baltique du mi-Eocène (-45 Ma ; Engel 2001).

La rareté des abeilles fossiles (Grimaldi et Engel 2005; Michener 2007), surtout au Crétacé, au Paléocène et au début de l'Eocène, peut être partiellement expliquée par les préférences d'habitats. En effet, la plupart des espèces vivent dans les zones xériques à l'extérieur des forêts produisant l'ambre, ou à l'extérieur de zones anoxiques qui produisent le plus de dépôt sédimentaire de type Lagerstätte. Seulement 6 spécimens ont été retrouvés dans des couches plus vieilles que 50 Ma (Engel et Archibald 2003; Michez *et al.* 2007d, 2012b) (fig.2) :

- Halictus? saveneyi Engel et Archibald 2003 (Halictidae), datant de l'Ypresien, de la Colombie-Britannique, ~ -53 Ma (Engel et Archibald 2003).
- Paleomacropis eocenicus Michez et Nel 2007 (~ -53 Ma) (Melittidae), retrouvé dans de l'ambre de l'Oise (France) (Michez et al. 2007d).
- Probombus hirsutus Piton 1940 (Megachilidae) qui est une compression du Paléocène, trouvée à Menat (France, ~ -60 Ma) (Nel et Petrulevicius 2003).
- Paleohabropoda oudardi Michez et Rasmont 2009, du Paléocène de Menat (France, ~ -60Ma) appartenant aux Anthophorini (Apidae) (Michez et al. 2009b).
- *Cretotrigona prisca* (Michener et Grimaldi 1988), qui est un Apinae (Apidae) trouvé dans de l'ambre du New Jersey, estimé à la fin du Maastrichtien (~ -65/-70 Ma) (Engel 2000).
- Melittosphex burmensis Poinar et Danforth 2006, représentant du groupe « souche » (Melittosphecidae) d'Anthophile a été découvert dans de l'ambre de l'Albien supérieur du Crétacé inférieur (~ -100 Ma) (Poinar et Danforth 2006).



Figure 2. Hypothèse de l'évolution des abeilles selon Danforth *et al.* (2006) avec des fossiles d'abeilles représentés en points de repère. 1. *Melittosphex burmensis*; 2. *Cretotrigona prisca*; 3. *Probombus hirsutus*; 4. *Paleomacropis eocenicus*; 5. *Halictus ?saveneyi*; 6. *Paleomelitta nigripennis* Engel 2002; 7. *Andrena ? clavula* Cockerell 1906; 8. *Chilicola electrodominica* Engel 1999; 9. *Eomacropis glaesaria*; 10. *Melitta willardi*. Dessins des fossiles de haut en bas : *Proplebeia dominicana* Wille et Chandler 1964 (Camargo *et al.* 2000); *Paleomacropis eocenicus* (Michez *et al.* 2007d); *Divisestylus brevistamineus* Hermsen *et al.* 2003 (Crepet *et al.* 2004.). (Michez *et al.* 2012b)

1.2. La famille des Melittidae

1.2.1. Systématique et biogéographie

La famille des Melittidae est l'une des plus petites familles d'abeilles, avec seulement 16 genres et 200 espèces décrites (Michez *et al.* 2009a). Ces abeilles à langue courte, ayant aussi des caractères d'abeilles à longue langue, forment un groupe spécialiste avec une position clé dans la phylogénie des abeilles (Michener 2000; Engel 2001) (fig.1). Bien que la topologie basale des Melittidae soit largement acceptée, la phylogénie de ce groupe est controversée (Michez *et al.* 2009a). Selon Engel (2001) et Michez *et al.* (2009a), les Melittidae sont un groupe monophylétique, comportant 3 sous-familles : Dasypodainae, Meganomiinae, Melittinae. D'après Danforth *et al.* (2006), celles-ci forment un groupe paraphylétique (considérant les 3 familles : Dasypodaidae, Meganomiidae et Melittidae *s.str.*). Cette dernière hypothèse, pourtant appuyée par des études basées sur des données morphologiques et moléculaires qui incluent un vaste échantillonnage parmi des familles d'abeilles très proches, aussi bien que les guêpes apoïdes, est cependant insuffisamment supportée par les statistiques (Danforth *et al.* 2013). D'autres études basées sur des données morphologiques et moléculaires du sus basées sur des données morphologiques et moléculaires qui incluent un vaste échantillonnage parmi des familles d'abeilles très proches, aussi bien que les guêpes apoïdes, est cependant insuffisamment supportée par les statistiques (Danforth *et al.* 2013). D'autres études basées sur des données morphologiques et moléculaires du sus ein des Melittidae (Michez *et al.* 2009a). Dans ce mémoire, nous considérons les Melittidae comme un clade monophylétique (fig.3).

Les Dasypodainae sont les melittides les plus diversifiées (101 espèces). Cette sous-famille inclut 5 genres (*Capicola, Dasypoda, Eremaphanta, Hesperapis, Samba*) répartis dans l'Ancien Monde et dans le Néarctique (fig.3). Le genre *Dasypoda* est le seul genre largement distribué. Il est commun dans les zones tempérées et xériques du Paléarctique (Michez 2007b). Les Meganomiinae comprennent quant à eux 1 genre, celui des *Meganomia* (fig.3), et 12 espèces répertoriées à ce jour. Cette sous-famille est endémique d'Afrique mis à part une espèce non décrite connue du Yémen (Michez 2007b). La troisième sous-famille appartenant au groupe des Melittidae est celle des Melittinae, comportant deux tribus et 6 genres. Les genres *Afrodasypoda, Macropis* et *Promelitta* appartiennent à la tribu des Macropidini, et les genres *Melitta* et *Rediviva/Redivivoides* appartiennent à la tribu des Melittini (fig.3). Avec 85 espèces décrites, cette sous-famille est beaucoup plus diversifiée que les Meganomiinae, mais moins que les Dasypodainae. Les Melittinae sont distribuées dans l'Ancien Monde et dans le Néarctique (Michez 2007b).



Figure 3. A. Phylogénie des familles d'abeilles d'après Danforth *et al.* (2013) ; B. Phylogénie des sous-familles, tribus et genres de la famille des Melittidae *sensu lato* d'après Michez *et al.* (2009a).

1.2.2. Biologie

Les Melittidae ont pour caractéristiques d'être univoltines, de nicher exclusivement dans le sol et d'être, pour la plupart des espèces, oligolectiques (Michez *et al.* 2004 ; Michez et Patiny 2005, 2006). Ces abeilles sont majoritairement solitaires (contrairement à la plupart des abeilles) et possèdent un cycle de vie restreint.

Les Dasypodainae sont grégaires et limitées aux zones sableuses bien exposées à la lumière. Les femelles font leur nid dans les dunes, plages ou plaines limoneuses (Stage 1966 ; Rozen 1974a) et ne le tapissent pas d'un revêtement (Michez 2007b). Les Meganomiinae sont, tout comme les Dasypodainae, des spécimens grégaires, creusant des nids profonds. Cependant, ces premiers tapissent les parois de leur nid d'une substance imperméable. Les Melittinae creusent leurs nids dans des sols sableux ou argileux à l'abri de la végétation. Les femelles du genre *Macropis* utilisent l'huile issue de fleurs pour tapisser leurs nids alors que les femelles du genre *Melitta* utilisent les sécrétions des glandes de Dufour (Michez 2007b). Bien que les Melittinae soient phénotypiquement similaires entre elles, la spécialisation plante-hôte implique parfois des adaptations morphologiques pour collecter, manipuler, et transporter les ressources florales, comme le pollen ou les huiles florales (Steiner et Whitehead 1991). Chez le genre *Macropis*, les femelles possèdent des soies plumeuses sur les pattes avant pour la collecte d'huile des Lysimaques (Primulaceae). Un autre exemple de modification anatomique est observé chez les femelles du genre *Rediviva* qui sont munies de longues pattes antérieures pour collecter l'huile des Scrophulariaceae sud-africaine du genre *Diascia* sp. (Steiner et Whitehead 1990). Pour ce qui est des caractères larvaires, ceux-ci sont similaires entre les genres *Macropis* et *Melitta* (Rozen et McGinley 1974b).

1.2.3. Paléontologie

La famille des Melittidae est une ancienne famille d'abeille qui est bien représentée dans les gisements de fossiles avant l'Oligocène (Michez *et al.* 2007d). Le plus vieux fossile de Melittidae est *Paleomacropis eocenicus*, découvert dans de l'ambre de l'Oise (France) du début de l'Eocène (Michez *et al.* 2007d). Le spécimen décrit représente le quatrième plus vieux fossile d'abeille découvert (fig.2). Cette découverte renforce l'hypothèse selon laquelle les Melittidae constitueraient la branche basale de la phylogénie des abeilles. La morphologie et la disposition des poils, similaires au genre collecteur d'huile *Macropis*, soutiennent l'hypothèse qu'une relation existait certainement entre les abeilles et les fleurs « à huile » pendant le début de l'Eocène (Michez *et al.* 2007d). Cependant, un autre fossile, *Eomacropis glaesaria* Engel 2001 (fig.2), de l'ambre baltique, ne présente pas ces structures spécialisées. Une étude récente (Michez *et al.* 2009a), basée sur des analyses morphologiques, a toutefois montré que la femelle *E. glaesaria* présente une glosse d'une longueur atypique, qui pourrait probablement être caractéristique d'une adaptation à une plante hôte spécifique.

Macropis basaltica (Zhang 1989), uniquement reconnaissable par ses ailes antérieures, est une compression fossile datant de l'Eocène moyen ou tardif, classé au sein de la tribu des Macropidini, dans le genre *Macropis*.

Le seul fossile de *Melitta* décrit est *Melitta willardi*. Cette compression du schiste argileux du Florissant (Oligocene -32 Myr) (fig.2) est caractérisée par la scopa derrière le tibia et le basitarse, par 3 cellules submarginales et par sa forme (Michez *et al.* 2007d). Découvert au Colorado, ce fossile indique que les abeilles du genre *Melitta* étaient présentes en Amérique du nord au moins depuis l'Oligocène (Michez et Eardley 2007c).

L'absence de fossiles de Dasypodainae et de Meganomiinae pourrait être expliquée par leurs préférences d'habitat. En effet, la plupart des espèces sont restreintes aux environnements xériques dans lesquels l'ambre n'est pas produite. Contrairement à ces deux groupes, les fossiles de Melittinae, et plus spécialement les genres *Macropis* et *Melitta*, sont plus représentés car ces individus ont des préférences pour les forêts tempérées produisant de l'ambre (Michez 2007b).

1.2.4. Le genre *Melitta*

Parmi les 16 genres de Melittidae, le genre *Melitta* est le plus répandu et l'un des plus diversifié (Michez et Eardley 2007c). Il inclut 48 espèces (Michez *et al.* 2012a). Ces abeilles mellifères, ressemblant aux andrènes (Danforth *et al.* 2006), diffèrent des autres genres de Melittinae par plusieurs caractères

plésiomorphes, notamment la structure du sternum 7 des mâles, qui ressemble à celle des Sphecidae (Michener 1981). Les espèces du genre *Melitta* partagent aussi des caractères apomorphes, comme par exemple les tubercules latéraux sur le labrum et la projection apicale sur le basitarse postérieur (Michener 1981).

En comparaison avec les autres melittides, les espèces de *Melitta* sont morphologiquement très similaires du point de vue de la taille et de la robe (Michener 1981 ; Michez et Patiny 2005). Par contraste, la plus grosse espèce de *Dasypoda* est deux fois plus grande que les plus petites espèces (Michez *et al.* 2004). Au niveau des choix floraux, la majorité des espèces sont décrites comme oligolectiques ou monolectiques. Les Fabaceae sont la principale ressource florale pour 10 espèces de *Melitta*. Les Ericaceae, Campanulaceae, Brassicaceae, Iridaceae, Lythraceae, Malvaceae, Resedaceae et Scrophulariaceae constituent également des ressources pour certaines espèces (fig.4).



Figure 4. Phylogénie et associations plante-hôte chez le genre *Melitta* (Michez *et al.* 2008; cette classification n'inclut que les espèces chez qui les deux sexes ont été décrits).1 = *Haemorrhoidalis* sp. ; 2 = *Dimidiata* sp.* Espèces mésolectiques à polylectiques.

En ce qui concerne leur distribution, les *Melitta* sont distribuées dans le Paléarctique, à l'est et au sud de l'Afrique, et dans les régions Néarctiques (Michener 1979, 1981). C'est le genre le plus diversifié dans la région Paléarctique (Michener 2000). Leur distribution s'explique par le fait que les *Melitta* préfèrent les écosystèmes tempérés (Michez et Patiny 2005).

1.3. Forme des ailes chez les abeilles

1.3.1. Taxonomie

La systématique supra-générique et générique des abeilles est surtout basée sur la morphologie de la langue et des ailes (Alexander et Michener 1995). En comparaison des autres organes, les ailes ont l'avantage d'être une structure en 2D, rigide et possédant un haut degré de conservation au sein des spécimens fossiles. De plus, les veines et leurs intersections sont clairement homologues à travers les différents groupes d'abeilles (Ross 1936). La taxonomie de certains groupes d'abeilles est basée sur des caractères alaires qualitatifs ou quantitatifs. Par exemple, les Colletidae sont caractérisées par une nervure récurrente en forme de « S » (Michener 2007). La classification est également basée sur le nombre de cellules alaires. Certains groupes sont par exemple déterminés par le nombre de cellules submarginales (deux ou trois) (Michener 2007).

Les premières techniques de morphométrie appliquées aux ailes ont par ailleurs permis des mesures linéaires de variation de la forme (distance, ratios et angles) (De Meulemeester 2011). Par exemple, Mattu et Verma (1984) et Hepburn *et al.* (2001) ont mesuré différents paramètres de l'aile antérieure comme la longueur de l'aile, la longueur de la cellule radiale ou encore la nervation chez des espèces du genre *Apis*. Ito (1987) a également analysé ce genre de paramètres chez l'espèce *Bombus diversus* Smith 1869.

Cependant, ces techniques traditionnelles ne préservent pas les relations géométriques entre les variables et perdent donc certains aspects de la forme (Adams *et al.* 2004). Pour ces raisons, la morphométrie traditionnelle garde un faible pouvoir discriminant dans les cas de taxons cryptiques (De Meulemeester *et al.* 2011). Grâce à une séparation claire de la composante "taille" et de la composante "forme" d'un caractère morphologique, la technique moderne de morphométrie géométrique a notamment apporté des améliorations significatives dans la discrimination de taxons cryptiques ainsi que dans la classification de fossiles (Baylac *et al.* 2003, Schlick-Steiner *et al.* 2010, De Meulemeester *et al.* 2012).

Parmi les études de morphométrie géométrique effectuées sur les ailes d'abeilles, certaines ont permis la classification taxonomique supra générique fiable de fossiles, dont *Paleohabropoda oudardi* (Michez *et al.* 2009b) et *Electrolictus antiquus* Engel 2001 (De Meulemeester *et al.* 2012), ainsi que la diagnose de tribus contemporaines d'Halictidae (De Meulemeester *et al.* 2012). D'autres travaux ont testé la discrimination d'espèces. Dans le cadre d'une analyse de morphométrie géométrique de la forme des ailes chez les *Sibiricobombus*, Aytekin *et al.* (2007) sont parvenus à montrer qu'il n'y avait pas de différence de forme d'aile entre *B. niveatus* Kriechbaumer 1870 et *B. vorticosus* Gerstaecker 1872. Ces résultats ont conforté l'hypothèse selon laquelle *B. niveatus* et *B. vorticosus* sont conspécifiques. Tofilski *et al.* (2008) sont parvenus à discriminer des sous-espèces d'*Apis* (*A. m. mellifera* Linnaeus 1758, *A. m. carnica* Pollmann 1879 et *A. m. caucasica* Gorbachev 1916) par rapport à la nervation des ailes. D'autres études, telle que

celle de Francoy *et al.* (2006), ont également permis de distinguer des sous-espèces d'Apis mellifera (A. *mellifera ligustica* Spinola 1806, *A. m. carnica* et les abeilles africanisées du Brésil) par les différences morphométriques, mais sur base de différences au sein d'une seule cellule alaire.

Et enfin, l'analyse de la forme des ailes par morphométrie géométrique a également mis en évidence la différenciation phénotypique de deux populations de *Melipona beecheii* Bennett 1831 (Quezada-Euan *et al.* 2007).

Cependant, bien que les ailes soient diagnostiques à différents niveaux taxonomiques, les quelques études qui ont comparé les similarités des formes d'aile et la phylogénie ont montré des différences dans les groupements, surtout dans des niveaux taxonomiques élevés (*e.g.* supra tribal ; Michez *et al.* 2009b, De Meulemeester *et al.* 2012).

1.3.2. Evolution et pression de sélection

Bien que les hypothèses phylogénétiques les plus robustes soient généralement basées sur des analyses moléculaires, des similarités morphologiques peuvent traduire en partie la phylogénie. Le signal phylogénétique d'un caractère (morphologique, écologique,...) définit la tendance qu'ont des espèces phylogénétiquement proches à plus se ressembler que des espèces éloignées. La quantification de ce signal traduit par la forme d'un objet constitue la difficulté principale (Klingenberg et Gidaszewski 2010) car les caractères morphologiques peuvent évoluer à des vitesses différentes des caractères moléculaires, entrainant des topologies de groupement différentes. Selon De Meulemeester et al. (2012), ces divergences évolutives peuvent être expliquées par plusieurs phénomènes tels que la persistance de caractères plésiomorphes (Cardini 2003), la sélection naturelle (Azevedo et al. 1998 ; Gilchrist et al. 2000 ; Cardini et Tongiorgi 2003), la sélection sexuelle (Vencl 2004), la dérive génique (Cardini 2003), l'allométrie (Astua 2009), ou encore par des phénomènes dus à des facteurs abiotiques (e.g. Aytekin et al. 2009). Deux situations différentes peuvent révéler des divergences évolutives entre les caractères morphologiques et moléculaires. (i) les caractères morphologiques évoluent plus rapidement que les caractères moléculaires, ce qui fait apparaître des faux négatifs dans les groupements basés sur des similarités morphologiques (De Meulemeester et al. 2012). On retrouve cette situation chez deux familles d'oiseaux (Strigidae et Caprimulgidae) qui, en raison de leurs différences morphologiques, ont été classées dans des ordres distincts (Voous 1973), alors qu'une étude basée sur des caractères moléculaires a placé ces deux familles au sein du même ordre (Sibley et Ahlquist 1990). Les différences morphologiques s'expliquent par leur régime alimentaire, carnivore chez les Strigidae et insectivore chez les Caprimulgidae.

(*ii*) les caractères morphologiques sont convergents, faisant apparaître des faux positifs (De Meulemeester et al. 2012) dans les groupements basés sur des similarités morphologiques. Ce cas a également été observé

dans la phylogénie des oiseaux, chez les Strigidae et les Accipitridae. Considérées comme familles proches sur base des caractères morphologiques (Voous 1973), des études moléculaires ont révélé qu'elles appartenaient à des ordres différents (Sibley et Ahlquist 1990). Leur mode de prédation ainsi que leur régime alimentaire expliquent les ressemblances morphologiques.

Jusqu'à présent, aucun cas d'homoplasie des ailes des abeilles n'a été observé (De Meulemeester 2011). La force du signal phylogénétique contenu dans la forme de l'aile ainsi que son faible degré d'homoplasie ont notamment été soulignés dans le cas des drosophiles (Klingenberg et Gidaszewski 2010). Cependant, comme la forme des ailes d'abeilles définit partiellement les performances de vol et donc le succès de butinage, elle n'est probablement pas un caractère neutre. Trois types de pression peuvent entraîner l'apparition de faux négatifs au sein des clusters : la sélection sexuelle, les pressions environnementales, et la variabilité intrinsèque.

a. La sélection sexuelle

Par une étude de comparaison des caractères de vol de mâles d'abeilles domestiques asiatiques, Radloff *et al.* (2003) ont montré qu'il existe un dimorphisme sexuel hautement significatif entre les ouvrières et les mâles de même espèce. Ils expliquent ce dimorphisme par le fait que, chez les abeilles, les ailes des femelles seraient sélectionnées pour la récolte, tandis que celles des mâles seraient sélectionnées pour augmenter les chances d'attraper des femelles. Chez *Drosophila melanogaster*, Bitner-Mathé *et al.* (1999) ont montré que les ailes des individus mâles sont plus arrondies que celle des femelles. Plus récemment, Outomuro *et al.* (2011) ont trouvé des différences de forme d'aile entre les sexes chez les libellules du genre *Calopteryx*.

b. Les pressions environnementales

Les facteurs environnementaux peuvent soit influencer la performance de vol des individus et provoquer la sélection de certaines formes d'aile (Hepburn *et al.* 2000, Pitchers *et al.* 2012, Outomuro *et al.* 2011, Azevedo *et al.* 1998), soit agir directement en modifiant la forme au cours de l'embryogénèse (Trotta *et al.* 2010, Loh *et al.* 2008, Aytekin *et al.* 2009, Radloff *et al.* 2005, Tan *et al.* 2008).

Dans une étude sur des spécimens *Apis mellifera* Linnaeus 1758 de montagne d'Afrique, basée sur un échantillonnage le long de sept transects différents (6 gradients d'altitude), Hepburn *et al.* (2000) ont mis en évidence des corrélations positives entre certaines caractéristiques liées au vol et l'altitude. Chez *Drosophila melanogaster* Meigen 1830, des différences de forme d'altitude entre l'est et l'ouest de l'Afrique ont été observées par Pitchers *et al.* (2012). La latitude semble également être un facteur important dans la variation de la forme des ailes. Selon Outomuro *et al.* (2011), chez les libellules du genre *Calopteryx*, au sein du même sexe, une grande partie de la variation de forme de l'aile antérieure par rapport à celle de l'aile

postérieure est due à la latitude. Azevedo et al. (1998) ont montré qu'il existait également des différences de forme d'aile selon la latitude chez Drosophila melanogaster. La température est le facteur environnemental le plus étudié pour expliquer la polymorphie des ailes d'insectes. Trotta et al. (2010), qui ont étudié différentes souches de Drosophila melanogaster élevées à différents seuils de température, ont observé que les différences de forme augmentent chez les hybrides à haute température, comme une conséquence de la perturbation du développement. Cette observation correspond au résultat obtenu dans une étude précédente sur la drosophile invasive Zaprionus indianus Coquillett 1902, qui a montré que les ailes étaient plus rondes chez des populations élevées à hautes températures (Loh et al. 2008). Aytekin et al. (2009) ont amené plus de précisions en étudiant la déformation de forme chez les deux sexes. En effet, ils ont observé que, chez Anopheles superpictus Theobald 1902, les ailes des femelles deviennent plus étroites dorso-ventralement et celles des mâles plus larges quand la température augmente, alors que la taille des ailes diminue chez les deux sexes. Généralement, les études menées en laboratoire sur des populations de drosophiles montrent que les changements de température résultent dans des changements de forme d'aile conjointement à un changement de taille (Cavicchi et al. 1985). D'une façon plus générale, Radloff et al. (2005), ainsi que Tan et al. (2008) ont montré que le climat intervient dans la distinction de différentes colonies d'Apis cerana Fabricius 1793, qui se différencient selon des zones climatiques précises en Asie.

c. La variabilité intrinsèque

L'allométrie, les pathogènes, les modifications génétiques et les pesticides constituent des facteurs susceptibles d'entraîner des variations de la forme des ailes.

L'allométrie est définie comme un changement de forme associé à des changements de taille (Penin *et al.* 2002). Dans la plupart des études d'allométrie, la taille n'explique pas l'entièreté de la variation de la forme des ailes. En effet, l'allométrie est elle-même influencée par d'autres facteurs (Gidaszewski *et al.* 2009). Par exemple, les changements de taille entre mâles et femelles peuvent être le résultat des fonctions propres aux deux sexes (Stubblefield et Seger 1994). En général, les femelles s'occupent de la construction et de l'approvisionnement des nids, ce qui demande beaucoup d'énergie. De plus, celles-ci portent les œufs dans leurs ovaires. Du fait de la rigidité de l'exosquelette des insectes, le nombre d'œufs porté est limité (Stearns 1977), et donc des femelles plus larges sont plus aptes à une ponte importante. Au contraire les mâles ont une durée de vie plus courte, ne servent que leur partenaire sexuel et ne participent pas aux soins parentaux. La complexité de l'allométrie réside dans le fait que des changements de taille peuvent être le résultat de facteurs environnementaux. L'allométrie peut par exemple se manifester lors de la différenciation continentale liée au climat. En effet, Gilchrist *et al.* (2000) ont observé que des effets allométriques étaient présents chez des populations de *Drosophila melanogaster* provenant de 3 continents différents. Les pathogènes semblent également avoir un effet sur la forme des ailes. Des individus *Apis mellifera* et *Bombus*

terrestris, infectés par le virus DWV (« deformed wing virus ») via l'acarien *Varroa destructor* Anderson & Trueman 2000 durant les stades pupes, développent chez l'adulte des déformations au niveau des ailes (fig.5 ; Genersch *et al.* 2006).



Figure 5. A gauche, B. terrestris infecté par le Varroa destructor ; A droite, B. terrestris non infecté (Genersch et al. 2006).

Les modifications génétiques sont aussi capables de produire des changements de forme d'aile. Chez *Drosophila mediopunctata* Fallén 1823, Bitner-Mathé *et al.* (1995) ont montré que la forme des ailes peut être modifiée par des inversions chromosomiques. Les pesticides provoquent aussi des variations de forme d'ailes. D'après Hoffmann *et al.* (2002), l'augmentation du temps de développement provoquée par l'insecticide esfenvalérate (famille des pyréthrinoïdes) induit une variation de la forme des ailes chez *Helicoverpa punctigera* Wallengren 1860 (Lepidoptera : Noctuidae).

Cependant, la plupart de ces études n'analysent pas la forme de l'aile dans un contexte évolutif.

1.4. Objectifs

L'objectif central de ce mémoire est de caractériser le signal phylogénétique de la forme des ailes chez le genre *Melitta*. Ce mémoire comprend deux niveaux d'études correspondants à des échelles de temps différentes. Le premier niveau correspond à l'étude de la microévolution des ailes chez trois espèces sœurs du genre *Melitta*, et a pour objectif de vérifier s'il y a une pression de sélection sur la forme des ailes. Différentes questions sont posées :

- Y a-t-il une sélection sexuelle chez les trois espèces (analyse inter/intraspécifique) ?
- Y a-t-il une différenciation morphologique intraspécifique par la distance ?
- Les facteurs environnementaux (altitude, température) ont-ils un impact sur la forme des ailes des trois espèces (analyse intraspécifique) ?
- L'allométrie a-t-elle un effet sur la forme des ailes des trois espèces (analyse inter/intraspécifique) ?

La deuxième étape correspond à l'étude de la macroévolution des ailes du genre *Melitta*, basée sur un échantillonnage de la majorité des espèces de ce genre. Les objectifs de cette deuxième partie sont :

- ⇒ Déterminer la puissance diagnostique de la forme des ailes au niveau générique et spécifique.
- ⇒ Définir la qualité du signal phylogénétique dans la forme des ailes de *Melitta* en comparant la phylogénie et les groupements basés sur la forme des ailes.
- ⇒ Vérifier la position du fossile de *Melitta willardi* au sein du genre *Melitta*.

2. MATERIEL/METHODE

2.1. Modèles biologiques et échantillonnage

2.1.1. Microévolution des ailes de Melitta

Trois espèces sœurs de *Melitta* ont été sélectionnées pour l'étude de la microévolution des ailes : *M. leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta*.

Melitta leporina (fig.6A, B) présente une large distribution. Elle est distribuée de l'Angleterre à la Chine en passant par l'Asie centrale (Michez et Eardley 2007c) (fig.6C). Cette espèce terricole et grégaire n'a pas de préférences concernant la texture du sol. Cependant, les femelles ont des exigences particulières pour plusieurs paramètres : elles sont sensibles à l'humidité, l'obscurité et le recouvrement du nid. Oligolectique sur Fabaceae, *Melitta leporina* butine principalement la luzerne (*Medicago sativa* (L. 1753)) (fig.4) (Michez *et al.* 2008).

Melitta nigricans (fig.6G, H) est quant à elle une espèce dont la distribution est limitée à l'Europe (fig.6I). Mis à part ses préférences florales, on connaît peu la biologie de cette espèce. *Melitta nigricans* occupe des biotopes inhabituels pour une abeille (Dellicour et Michez 2010). En effet, pour s'alimenter, les adultes se rencontrent dans les prairies et friches humides et y trouvent *Lythrum* spp., plante hôte spécifique des mâles et des femelles de cette espèce (Westrich 1989; Michez *et al.* 2008). Pour la collecte de nectar, *M. nigricans* visitent également d'autres familles de plantes (Asteraceae Geraniaceae,...) (Michez *et al.* 2008) (fig.4).

Melitta tricincta (fig.6D, E) est également une espèce dont la distribution est limitée à l'Europe (fig.6F). Celle-ci affectionne les habitats xériques, dans lesquels les femelles creusent des nids peu profonds, au milieu des plantes qu'elles visitent. Ses lieux de prédilection sont les orées des bois, bords de chemins et friches ensoleillées (Westrich 1989). Une grande majorité du pollen récolté provient de plantes appartenant à la famille des Scrophulariaceae (Westrich 1989; Michez *et al.* 2008) (fig.4). Dans le Nord de sa distribution, *M. tricincta* est typiquement observée sur *Odontites vernus* (Linnaeus 1753) et sur *O. lutea* (Westrich 1989), tandis que dans le bassin Méditerranéen, *M. tricincta* est le plus souvent observée sur *O. lutea*.

Le matériel collecté est basé sur l'échantillonnage effectué dans une étude sur la phylogéographie de ces trois espèces (Dellicour et Michez 2010).



Figure 6. A: *Melitta leporina* femelle sur *Melilotus officinalis* (Linnaeus 1779) (Fabaceae) (Photo Vereecken). (Dellicour et Michez 2010); B : *Melitta leporina* mâle (Photo Steven Falk); C: Estimation de la distribution européenne de *M. leporina* (Points blancs : observations non datées ou antérieures à 1970; points oranges : observations à partir de 1970) (Fond de carte NASA). (Dellicour et Michez 2010); D : *Melitta tricincta* femelle sur *Odontites vernus* (Linnaeus 1753) (Photo Vereecken); E: *Melitta tricincta* mâle sur *Odontites vernus* (Photo Vereecken). (Dellicour et Michez 2010); F: Estimation de la distribution européenne de *M. tricincta* mâle sur *Odontites vernus* (Photo Vereecken). (Dellicour et Michez 2010); F: Estimation de la distribution européenne de *M. tricincta* (Points blancs : observations non datées ou antérieures à 1970; points oranges : observations à partir de 1970) (Fond de carte NASA) (Dellicour et Michez 2010); G : *Melitta nigricans* femelle sur *Lythrum salicaria* (Linnaeus 1753) (Lythraceae) (Photo Yvan Barbier); H: *Melitta nigricans* mâle sur *Lythrum salicaria* (Lythraceae) (Photo Vereecken). (Dellicour et Michez 2010); I: Estimation de la distribution européenne de *M. nigricans* (Points blancs : observations non datées ou antérieures à 1970; points oranges : observations à partir de 1970) (Fond de carte NASA) (Dellicour et Michez 2010); I: Estimation de la distribution européenne de *M. nigricans* (Points blancs : observations non datées ou antérieures à 1970; points oranges : observations à partir de 1970) (Fond de carte NASA). (Dellicour et Michez 2010); I: Estimation de la distribution européenne de *M. nigricans* (Points blancs : observations non datées ou antérieures à 1970; points oranges : observations à partir de 1970) (Fond de carte NASA). (Dellicour et Michez 2010).

Dans le but de supprimer un éventuel effet du dimorphisme sexuel, tous les spécimens étudiés doivent être du même sexe. Les spécimens mâles étant les plus représentés dans l'étude phylogéographique de Dellicour et Michez (2010), l'ensemble des individus de cette étude de microévolution sont des mâles.

A raison de 15 individus par population, 556 individus sont utilisés lors de cette analyse de microévolution (tab.1).

ESPECE	Ν
Melitta leporina (Panzer 1799)	223
Melitta nigricans Alfken 1905	185
Melitta tricincta Kirby 1802	148
	Total = 556

 Table 1. Jeu de données utilisé dans l'étude de la microévolution.

L'échantillonnage a été limité aux zones de sympatrie des trois espèces, c'est-à-dire l'Europe (fig.7). Au total, 108 populations ont été intégrées dans l'étude de microévolution. Ce matériel est conservé à l'ULB (BE).



Figure 7. Cartes de distribution des populations de *Melitta leporina* (A), *Melitta nigricans* (B) et *Melitta tricincta* (C) intégrées dans l'étude (Fond de carte Google Earth).

Concernant l'analyse du dimorphisme sexuel, un échantillonnage composé de 20 spécimens par sexe des trois espèces *M. leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta* a été utilisé.

2.1.2. Macroévolution des ailes de Melitta

Le jeu de données réalisé est basé sur la majorité des espèces du genre *Melitta*. Toutes les espèces disponibles dans les collections ont été intégrées dans l'étude, de façon à rassembler un maximum de 20 spécimens par espèce (tab.2). Au total, 27 espèces contemporaines et 276 spécimens sont inclus dans l'étude.

	FAMILLE	SS-FAMILLE	ESPECE	Ν
	Melittidae	Melittinae	Melitta americana Smith 1853	3
	Melittidae	Melittinae	Melitta arrogans Smith 1879	19
	Melittidae	Melittinae	Melitta bicollaris Warncke 1973	6
	Melittidae	Melittinae	Melitta californica Viereck 1909	1
	Melittidae	Melittinae	Melitta cameroni (Cockerell 1910)	7
	Melittidae	Melittinae	Melitta dimidiata Morawitz 1876	19
	Melittidae	Melittinae	Melitta eickworti Snelling et Stage 1995	3
	Melittidae	Melittinae	Melitta ezoana Yasumatsu et Hirashima 1956	6
	Melittidae	Melittinae	Melitta haemorrhoidalis (Fabricius 1775)	18
	Melittidae	Melittinae	Melitta hispanica Friese 1900	6
	Melittidae	Melittinae	Melitta harrietae (Bingham 1897)	20
	Melittidae	Melittinae	Melitta japonica Yasumatsu et Hirashima 1956	4
	Melittidae	Melittinae	Melitta magnifica Michez 2012	3
ACTUELS	Melittidae	Melittinae	Melitta melittoides (Viereck 1909)	2
	Melittidae	Melittinae	Melitta melanura (Nylander 1852)	7
	Melittidae	Melittinae	Melitta murciana Warncke 1973	6
	Melittidae	Melittinae	Melitta seitzi Alfken 1927	1
	Melittidae	Melittinae	Melitta schultzei Friese 1909	1
	Melittidae	Melittinae	Melitta sibirica (Morawitz 1888)	20
	Melittidae	Melittinae	Melitta aegyptiaca (Radoszkowski 1891)	20
	Melittidae	Melittinae	Melitta leporina (Panzer 1799)	20
	Melittidae	Melittinae	Melitta maura (Pérez 1896)	19
	Melittidae	Melittinae	Melitta nigricans Alfken 1905	20
	Melittidae	Melittinae	Melitta schmiedeknechti Friese 1898	15
	Melittidae	Melittinae	Melitta tricincta Kirby 1802	20
	Melittidae	Melittinae	Melitta avontuurensis Michez et Kuhlmann 2013	1
	Melittidae	Melittinae	Melitta richtersveldensis Michez et Kuhlmann 2013	7
FOSSILE	Melittidae	Melittinae	Melitta willardi Cockerell 1909	1
				Total = 277

Table 2. Jeu de données « Melitta » utilisé dans l'étude de la macroévolution.

Par ailleurs, le groupe de comparaison utilisé est composé de spécimens appartenant aux genres *Rediviva* et *Redivivoides* (tribu des Melittini), échantillonnés de façon à obtenir un maximum de 20 individus par genre (tab.3). Ce groupe de comparaison permettra de tester le caractère diagnostique de la forme des ailes du genre *Melitta*.

Le spécimen de *Melitta willardi* est conservé au Museum de Zoologie Comparative de l'Université de Harvard (USA). Il a été photographié par le Prof. Mickael S. Engel (Université du Kansas, USA). Les deux ailes de ce spécimen étant très bien conservées (fig.8), l'affinité taxonomique du fossile peut être étudiée par la morphométrie géométrique.



Figure 8. Fossile de Melitta willardi (Photo Michael S. Engel).

L'échantillonnage a été étendu aux familles d'abeilles contemporaines (tab.3) au cas où l'analyse morphométrique des ailes ne validerait pas l'identification du fossile déterminée par Cockerell. Seule la famille des Stenotritidae n'a pas été inclue dans l'échantillonnage, à cause d'une absence de spécimens disponibles. Les différentes familles d'abeilles ont été échantillonnées de façon à rassembler un maximum de 20 individus par famille (tab.3). Le spécimen de *Melitta willardi* étant une femelle, tous les individus utilisés dans l'analyse morphométrique sont des femelles afin d'éviter un éventuel biais apporté par le dimorphisme sexuel.

L'ensemble du jeu de donnée de spécimens contemporains a été réalisé dans les collections du Laboratoire de Zoologie de l'UMONS (BE), de celles du Museum Naturalis de Leiden (NL), et du Musée d'Histoires Naturelles de Londres (UK).

FAMILLE	SS-FAMILLE	ESPECE	Ν
Andrenidae	Andreninae	Andrena boyerella Dours 1872	5
Andrenidae	Oxaeinae	Oxaea flavescens Klug 1807	1
Andrenidae	Oxaeinae	Oxaea fuscescens Sichel 1865	1
Andrenidae	Oxaeinae	<i>Oxaea</i> sp.	1
Andrenidae	Oxaeinae	Protoxaea gloriosa (Fox 1893)	1
Andrenidae	Panurginae	Borgatomelissa brevipennis (Walker 1871)	1
Andrenidae	Panurginae	Melitturga taurica Friese 1922	4
Andrenidae	Panurginae	Anthrenoïdes sp.	2
Andrenidae	Panurginae	Parapsaenythia puncticutis (Vachal 1909)	2
Apidae	Apinae	Bombus mendax Gerstäcker 1869	5
Apidae	Apinae	Anthophora plumipes (Pallas 1772)	3
Apidae	Nomadinae	Nomada flava Panzer 1798	5
Apidae	Xylocopinae	Xylocopa violacea (Linnaeus 1758)	5
Colletidae	Colletinae	Colletes succinctus (Linnaeus 1785)	4
Colletidae	Colletinae	Leioproctus sp.	5
Colletidae	Diphaglossinae	Caupolicana gayi Spinola 1851	5
Colletidae	Diphaglossinae	Diphaglossa gayi Spinola 1851	3
Halictidae	Halictinae	Halictus ligatus Say 1837	4
Halictidae	Nomiinae	Nomia diversipes Latreille 1806	4
Halictidae	Nomioidinae	Nomioides facilis (Smith 1853)	5
Halictidae	Rophitinae	Systropha planidens Giraud 1861	5
Megachilidae	Fideliinae	Fidelia kobrowi Brauns 1905	5
Megachilidae	Fideliinae	Fidelia major Friese 1911	2
Megachilidae	Fideliinae	Fidelia villosa Brauns 1902	1
Melittidae	Meganomiinae	Meganomia andersoni (Meade-Waldo 1916)	1
Melittidae	Meganomiinae	Meganomia binghami (Cockerell 1909)	6
Melittidae	Melittinae	Rediviva intermixta (Cockerell 1934)	17
Melittidae	Melittinae	Rediviva longimanus Michener 1981	3
Melittidae	Melittinae	Redivivoides simulans Michener 1981	2
			Total = 108

Table 3. Echantillonnage utilisé pour la détermination de la valeur diagnostique des ailes du genre *Melitta* (genres *Rediviva/Redivivoides*; 22 individus) et pour l'analyse de l'affinité taxonomique du fossile (108 individus).

2.2. Méthode

2.2.1. Morphométrie géométrique

La méthode de morphométrie géométrique employée est celle des points repères ou *landmarks*. Celle-ci fonde son analyse sur un ensemble de coordonnées cartésiennes (en 2D ou 3D) de landmarks, placés à des intersections (type I), des extrêmes, ou à des maximum de courbures (type II). Ceux-ci correspondent à des points anatomiques homologues, fournissant une représentation adéquate de la morphologie et qui puissent être identifiés de manière répétée et fiable (Zelditch *et al.* 2004). L'avantage de cette technique est qu'elle se base sur la forme des objets (Bookstein 1991) (fig.9A). Cette procédure offre la possibilité d'extraire de l'analyse toutes les variables qui ne se rapportent pas à la forme (effets de translation, de rotation, et d'échelle) par superimposition procruste (fig.9B).



Figure 9. A. Analyse de la forme par morphométrie géométrique (d'après Zelditch *et al.* 2004) ; B. Processus de translation, rotation et mise à l'échelle n'altérant pas la forme de l'organisme (d'après Zelditch *et al.* 2004).

2.2.2. Acquisition des données

2.2.2.1. Photographie de l'aile

Le dispositif employé est constitué d'un binoculaire Olympus SZH10 couplé à un appareil photo Nikon D70.

Le prélèvement des ailes droites a été effectué de deux façons. Les ailes d'individus conservés au Laboratoire de Zoologie de l'UMONS ont été prélevées au niveau des tegulae, tandis que les photographies d'ailes réalisées sur des spécimens provenant de collections de musée ont été effectuées directement sur les individus. Une fois prélevées, les ailes sont disposées sur un montage stable, placées sur papier millimétré et serrées entre deux lames de microscope par des pinces aux extrémités. Ce dispositif (fig.10) permet d'obtenir des ailes bien plates et de calculer l'échelle des ailes.



Figure 10. Montage utilisé pour la photographie des ailes (photo Dewulf A.).

Afin d'éviter les éventuels biais liés à la photographie, les conditions de prises de photos suivantes ont été identiques pour la majorité des échantillons : expérimentateur, montage (fig.10), appareillage, luminosité, zoom (la superimposition procruste impliquant une mise à l'échelle, ce paramètre peut varier selon la taille de l'aile à photographier), option du déclencheur. L'échantillonnage de l'ensemble des familles d'abeilles comtemporaines a été réalisé à partir des photos d'ailes effectuées par Manuel Dehon (UMONS), qui a employé le même montage, le même appareillage ainsi que des réglages identiques à ceux cités ci-dessus. L'emprunt du fossile de *Melitta willardi* n'ayant pas été possible, la photo du spécimen a été effectuée par le Prof. Michael S. Engel. Des conditions de photographie différentes ont donc été utilisées pour cet échantillon.

2.2.2.2. Positionnement des landmarks

Les analyses morphométriques sont basées sur les coordonnées de 19 landmarks, placés sur les nervures alaires (fig.11, tab.4).



Figure 11. Position des 19 landmarks sur l'aile antérieure droite d'un spécimen de Melitta leporina (photo Dewulf A.).

Landmark	Définition	Туре
1	Point interne le plus à droite de la cellule marginale	II
2	Point interne le plus à gauche de la cellule marginale	II
3	Intersection de la nervure marginale avec la première nervure cubitale transverse	Ι
4	Intersection de la nervure marginale avec la deuxième nervure cubitale transverse	Ι
5	Intersection de la nervure marginale avec la troisième nervure cubitale transverse	Ι
6	Intersection de la troisième nervure cubitale transverse avec la nervure cubitale	Ι
7	Intersection de la nervure cubitale avec la deuxième nervure récurrente	Ι
8	Intersection de la nervure cubitale avec la deuxième nervure cubitale transverse	Ι
9	Intersection de la nervure cubitale avec la première nervure récurrente	Ι
10	Intersection de la nervure cubitale avec la première nervure cubitale transverse	Ι
11	Point interne le plus à gauche de la première cellule cubitale	II
12	Point interne le plus à gauche de la première cellule discoidale	II
13	Intersection de la nervure discoïdale avec la première nervure récurrente	Ι
14	Point interne inférieur gauche de la deuxième cellule discoidale	II
15	Intersection de la nervure discoïdale avec la deuxième nervure récurrente	Ι
16	Point interne inférieur droit de la cellule subdiscoïdale	II
17	Point interne inférieur gauche de la cellule subdiscoïdale	II
18	Point interne supérieur gauche de la cellule subdiscoïdale	II
19	Point interne du maximum de courbure de la première nervure récurrente	II

Table 4. Définition et typologie des landmarks de l'aile antérieure droite.

En plus des landmarks traditionnellement utilisés en morphométrie géométrique appliquée aux ailes d'abeilles (Owen 2012), l'intersection de la nervure récurrente n°1 avec la nervure récurrente ancestrale n°3

dans la cellule discoidale n°2 a été utilisée. Ce point a été proposé chez les Apidae par Owen (2012) (fig.12).



Figure 12. Positions de 29 landmarks qui ont été utilisés pour des études morphométriques chez les Apidae (Owen 2012). Le modèle utilisé est une aile antérieure droite de reine de *Bombus rufocinctus*.

Au sein de l'échantillonnage, cette veine ancestrale est présente partiellement ou entièrement (fig.13A). Une structure « en coude » (fig.13B) a été retrouvée dans l'ensemble des échantillons.



Figure 13. A. Veine récurrente n°3 complète chez un spécimen de *Melitta nigricans* (Photos Dewulf A.). **B.** Configuration en « coude » du landmark n°19 sur une aile de *Melitta tricincta* (Photo Dewulf A.).

Bien que les 29 landmarks décrits par Owen (2012) soient homologues pour toutes les abeilles, ils n'ont pas tous été utilisés dans cette présente étude morphométrique. En effet, certains sont difficilement localisables, ou sont situés à des endroits souvent détériorés (contours alaires).

Les photos des études de micro et macroévolution ont été compilées dans des fichiers tps distincts grâce au logiciel tps-UTIL (Rohlf 2010). Les coordonnées cartésiennes bidimensionnelles des landmarks sont numérisées par le logiciel tps-DIG (Rohlf 2006).

Afin d'obtenir une identification plus objective du fossile, les deux ailes du spécimen, très bien conservées, ont été digitalisées par trois autres expérimentateurs (Denis Michez, Thibaut De Meulemeester et Manuel Dehon). Toutes les ailes des individus contemporains n'ont été digitalisées qu'une seule fois.

Avant toute analyse, une superimposition procruste est effectuée séparément sur les jeux de données de micro- et macroévolution dans le but d'éliminer toutes les variations qui ne se rapportent pas à la forme de l'aile. Cette méthode permet d'obtenir les coordonnées alignées de chaque landmark pour chaque spécimen, ainsi qu'une configuration moyenne des deux jeux de données étudiés. Différents programmes informatiques permettent de réaliser cette superimposition : tps-RELW (Rohlf 2007), IMP Coordgen6h (Sheets 2001) ou via le logiciel R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012).

2.2.2.3. Taille centroide et facteurs environnementaux

Les informations relatives à la taille centroide ont été obtenues par le programme tpsRelw (Rohlf 2007), sur base des échelles déterminées lors de la digitalisation des ailes.

Les données sur les températures proviennent quant à elles d'une banque de donnée (« rimfrost ») réunissant des informations de 1100 localisations à travers le monde, sur les 250 dernières années (Sigmund Hov Moen, http://www.rimfrost.no/). La température moyenne, calculée de la première à la dernière année de mesures, correspondante au lieu de récolte de chaque population, a été utilisée dans l'analyse de la variation de la forme des ailes par différents facteurs. Les données concernant la longitude, latitude et altitude proviennent des informations recueillies lors de la récolte des spécimens.

2.2.2.4. Phylogénie du genre Melitta

Afin de permettre une estimation du signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes, la phylogénie résultante de l'analyse phylogénétique effectuée par Dellicour *et al.* (2013) a été utilisée. Celle-ci

se base sur 1 gène mitochondrial (COI) et 6 gènes nucléaires (28S, EF-1 α , NaK, Opsin, RNAp et WgL) soit un total de ~5500 pb, sur 23 espèces de *Melitta*.

2.3. Analyses statistiques et phylogénétiques

2.3.1. Présentation des analyses

a. Analyse de l'amplitude de la variation des jeux de données

Cette analyse permet de vérifier, par le calcul d'un coefficient de régression, que les distances euclidienne et procruste sont proches. Un coefficient proche de 1 entre ces deux distances indique un très faible écart par rapport à une relation linéaire, ce qui signifie que nous pouvons être confiants dans l'amplitude de la variation du jeu de données utilisé.

b. RWA

Les « relative warps analyses » (RWA), permettent d'observer la similarité de différents groupes dans la forme de l'aile. Techniquement, une RWA est une ACP prenant en compte la relation entre les différents landmarks qui définissent la forme. L'avantage de cette technique est que les variables générées (« relatives warps ») sont pondérées par une matrice d'énergie de déformation. La pondération de l'analyse par cette matrice d'énergie permet donc de prendre en compte la relation entre les landmarks. Cette analyse a été réalisée par le logiciel R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012).

c. Analyse des déformations

Cette analyse permet la visualisation des déformations des ailes. Deux représentations ont été utilisées : les grilles de déformation ainsi qu'une représentation des directions de déformation par des vecteurs. Il est très difficile de se représenter mentalement les changements de tous les landmarks les uns par rapport aux autres et d'en synthétiser une variation de forme. Afin de visualiser tous ces changements d'un point de vue global, on place les coordonnées cartésiennes de tous les landmarks sur un quadrillage. Les variations de position entraînent une déformation de la grille. Les deux types de représentations ont été réalisés par le logiciel R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012).

d. Méthodes de groupement

Les groupements basés sur les similarités phénotypiques ont été représentés par la méthode du « neighbor joining » non enraciné, à partir des distances de Mahalanobis, via le logiciel R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012). La technique du « neighbor joining » repose sur la création d'un nœud central, et sur un regroupement des différents groupes effectué de façon à réduire au maximum la longueur de l'arbre.
e. Tests de corrélation

Afin de tester la relation entre la forme et différents facteurs, des tests de corrélation ont été générés par le logiciel R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012). La valeur de « r » obtenue, comprise entre -1 et 1, correspond au coefficient de corrélation calculé entre les variables quantitatives testées.

f. Boxplot

Les boxplot permettent de comparer une même variable dans différents groupes. Ce type de représentation graphique a été réalisé par le logiciel R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012).

g. Test de Kruskal-Wallis

La significativité des différences observées dans les boxplot a été évaluée par le test de Kruskalwallis, via le logiciel R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012). Ce test a été effectué après avoir vérifié que ni la normalité des résidus (test de Shapiro), ni l'homoscédasticité (test de Bartlett), n'étaient respectées dans les jeux de données. Pour obtenir les détails de comparaison entre les différents groupes, ce test est suivi d'un test de comparaison multiple de Kruskal-Wallis.

h. LDA

Des analyses discriminantes de type LDA (« analyse discriminante linéaire ») ont été effectuées via le programme R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012). La LDA compare, au sein d'individus rangés dans des groupes définis en « a priori » (ici déterminés par l'identification originale des spécimens), la variance intergroupe à la variance intragoupe.

i. <u>MANOVA</u>

Pour déterminer si les distances de forme entre groupes sont bien significativement différentes, une « pvalue » a été calculée en générant une MANOVA (« analyse de variance multivariée ») via le programme R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012).

j. Table d'assignement

Conjointement aux analyses discriminantes, une table d'assignement est réalisée via le programme R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012) afin d'évaluer la puissance de discrimination de la LDA à partir d'un « a priori » de groupement. Cette évaluation se base sur les distances de Mahalanobis des individus par rapport à la moyenne des groupes déterminés « a priori ». Grâce à la variance apportée par les spécimens, l'algorithme réaffecte chaque individu à l'un des groupes de départ, ici déterminés par l'identification originale des spécimens. Si l'individu est réaffecté à son groupe d'appartenance (groupe d'« a priori »), il est dit « bien classé », tandis que s'il est réaffecté à un autre groupe, il est dit « mal classé ».

k. Test de Mantel / db-RDA

Ces deux analyses ont été effectuées par le logiciel R 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing 2012). Le test de Mantel évalue la corrélation entre deux matrices de distance par plusieurs étapes :

- 1) Calcul de la corrélation des entrées dans les matrices.
- 2) Permutation des matrices et calcul du même test statistique de chaque permutation.

3) Comparaison du test statistique original aux tests statistiques des permutations pour générer une pvalue (le nombre de permutation définit la précision avec laquelle la pvalue est calculée).

4) La pvalue représente donc la fréquence de la corrélation observée (r) parmi les permutations.

En plus du test de Mantel, dont la limitation a été soulignée par Legendre et Fortin (2010), une db-RDA (« analyse des redondances basée sur les distances ») a été utilisée. Préalablement à cette analyse, nous utilisons une PCoA (« analyse en coordonnées principales ») pour calculer la décomposition des coordonnées principales des matrices de distances comparées. Ensuite, nous effectuons une db-RDA, suivie d'une ANOVA comme test de permutation (1000 permutations) pour évaluer la significativité des résultats. Le « r » est une mesure de la précision de l'ajustement de la droite de régression (plus il est proche de 1, plus il y a corrélation). Le « F » donne une idée générale de la "qualité" du modèle linéaire.

2.3.2. Application à l'étude de la microévolution

En premier lieu, la fiabilité de l'amplitude de la variation des jeux de données propres aux différentes analyses a été testée.

Afin de déterminer si une pression sexuelle influence la forme des ailes, une RWA a été réalisée sur un échantillonnage de 20 spécimens par sexe des trois espèces *M. leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta*. Puis, une MANOVA a été utilisée pour déterminer si la forme des ailes des mâles et femelles de *M. leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta* est bien significativement différente chez les trois espèces. Toujours sur le même échantillonnage, les grilles de déformations des ailes ont été réalisées. Celles-ci représentent la forme moyenne de chacun des groupes (mâles et femelles de chaque espèce) par rapport à la forme moyenne des jeux de données complet (mâles et femelles de chacune des espèces). Par un second type de représentation, les directions de déformations de la forme moyenne des femelles vers la forme moyenne des mâles ont été représentées par des vecteurs. Ces deux types de représentations permettront de déterminer quels sont les landmarks impliqués dans la déformation des ailes de mâles et femelles, et de visualiser la direction et l'amplitude de ces déformations. Des boxplot ont ensuite été réalisés afin de pouvoir comparer les tailles centroides des sexes des trois espèces. La significativité des résultats obtenus a été calculée par un test de Kruskal-Wallis, suivi d'un test de comparaison multiple pour obtenir les détails de comparaison entre les différents groupes. Enfin, un test de corrélation a été généré afin de déterminer si un effet allométrique agit sur la forme des ailes des sexes des trois espèces, en comparant les trois premiers axes de la RWA avec la variable « taille centroide ».

Dans le but de tester l'influence de facteurs environnementaux (température, altitude) et intrinsèque (taille centroïde) sur la forme des ailes, des test de corrélation ont été réalisés sur l'ensemble des individus mâles des trois espèces *M. leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta* (556 individus au total). Ces tests ont été effectués en comparant le premier axe de la RWA avec les différentes variables. Sur le même échantillonnage, un test de Mantel a été employé pour analyser la différenciation morphologique intraspécifique par la distance. La matrice de distance morphologique utilisée lors de ce test représente les distances procrustes (calculées à partir de la superimposition procruste) entre les formes d'aile des 556 individus.

2.3.3. Application à l'étude de la macroévolution

En premier lieu, la fiabilité de l'amplitude de la variation des jeux de données propres aux différentes analyses a été testée.

Afin d'analyser la valeur diagnostique de la forme des ailes des *Melitta* au niveau générique (en utilisant le groupe de comparaison *Rediviva/Redivivoides*; 298 individus au total) et spécifique (276 individus; 27 espèces), une LDA a été utilisée. Grâce à la table d'assignement générée conjointement à cette analyse discriminante, l'évaluation de la valeur diagnostique a été réalisée.

Dans le but d'évaluer le signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes chez les différentes espèces du genre *Melitta*, deux analyses ont été effectuées. Tout d'abord, un arbre non enraciné basé sur les distances de Mahalanobis a été réalisé à partir des 20 espèces de *Melitta* utilisées dans la phylogénie de Dellicour *et al.* (2013) afin d'évaluer de manière qualitative le signal phylogénétique de la forme des ailes. L'arbre phylogénétique résultant de l'étude de Dellicour *et al.* (2013) n'a volontairement pas été modifié en ne reprenant que les 20 espèces utilisées dans les analyses morphométriques, pour éviter de perdre de la fiabilité dans les groupements, mais aussi pour respecter l'état original publié. Dans

l'analyse, l'arbre créé n'est pas enraciné, car le caractère diagnostique de la forme des ailes des différentes espèces de *Melitta* a été vérifié préalablement. Ensuite, afin de quantifier le signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes chez les différentes espèces du genre *Melitta*, un test de Mantel ainsi qu'une db-RDA ont été utilisées. Préalablement à cette dernière analyse, la matrice génétique est transformée en matrice de distance génétique par le logiciel « MEGA5 » (Tamura *et al.* 2011). La matrice génétique basée sur 7 gènes, provenant de l'étude de Dellicour *et al.* (2013), a été modifiée de façon à ne reprendre que les 20 espèces de *Melitta* étudiées dans l'analyse morphométrique. La matrice morphologique a elle aussi été modifiée de manière à éliminer les espèces non utilisées dans l'analyse génétique. La matrice de distance morphologique représente les distances procrustes (calculées à partir de la superimposition procruste) entre les formes moyennes des 20 espèces.

Préalablement à l'analyse de l'affinité taxonomique du fossile de *M. willardi*, la fiabilité phénétique des niveaux taxonomiques « famille » et « sous-famille » a été analysée par une LDA. L'évaluation de la fiabilité phénétique de ces deux niveaux taxonomiques a été réalisé par des tables d'assignements. Une RWA est ensuite utilisée pour analyser l'affinité taxonomique du fossile avec les 15 sous- familles d'abeilles contemporaines.

3. RESULTATS

3.1. Microévolution des ailes de Melitta

Dans les différents jeux de données utilisés lors de cette étude, le coefficient de régression calculé entre les distances procruste et euclidienne est proche de 1.



3.1.1. Sélection sexuelle

Figure 14. « Relative warp analysis » des deux sexes chez *M. leporina* (n=40), *M. nigricans* (n=40) et *M. tricincta* (n=40), représentée le long des deux premiers axes. *V.E = variance expliquée. Les points verts indiquent les moyennes de forme de chaque groupe. Les flèches vertes représentent les patterns de différenciation « femelles ==> mâles ».

Dans la figure 14, les sexes de chaque espèce sont bien séparés, avec une distinction plus marquée chez *M. tricincta*. Il n'y a pas de regroupement par sexe. De plus, on observe un pattern de différenciation femelles/mâles identique chez les trois espèces.

Les résultats de la MANOVA de la table 5 montrent une différence significative (pvalue=0.001) entre les moyennes de forme d'aile des sexes chez les trois espèces de *Melitta*. Le test appliqué à l'espèce *M*. *tricincta* montre le plus de distance entre les moyennes des deux sexes.

	M. leporina_F	M. leporina_M	M. nigricans_F	M. nigricans_M	M. tricincta_F	M. tricincta_M
M. leporina_F		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
M. leporina_M	0.0223		0.001	0.001	0.001	0.001
M. nigricans_F	0.0311	0.0341		0.001	0.001	0.001
M. nigricans_M	0.0382	0.0306	0.0200		0.001	0.001
M. tricincta_F	0.0299	0.0394	0.0296	0.0401		0.001
M. tricincta_M	0.0317	0.0289	0.0275	0.0280	0.0236	

Table 5. Résultats de la MANOVA effectuée entre les deux sexes de *M. leporina* (n=40), *M. nigricans* (n=40) et *M. tricincta* (n=40). Les valeurs de pvalue sont indiquées dans le triangle supérieur (en rouge). Les distances entre les moyennes sont exprimées dans le triangle inférieur (en vert).

On peut également observer qu'il y a une différence significative (pvalue=0.001) entre la forme moyenne des ailes des mâles de chaque espèce. La distance entre les formes moyennes de mâles de *M. leporina* et de *M. nigricans* est la plus élevée, ce qui correspond avec le résultat de la RWA (fig.14). Les distances entre les formes moyennes des ailes des mâles de chaque espèce sont supérieures aux distances entre les formes moyennes des ailes des sexes chez les trois espèces de *Melitta*.

La figure 15 illustre les grilles de déformations des ailes des groupes mâles et femelles des différentes espèces, créés par rapport au jeu de données complet de chaque espèce correspondante, ainsi que les directions de déformations de la forme moyenne des ailes des femelles vers la forme moyenne des ailes des mâles.



Figure 15. Les figures A, D et G représentent, par le biais de vecteurs, les directions de déformations de la forme moyenne des ailes des femelles vers la forme moyenne des ailes des mâles. A ces figures sont jointes les grilles de déformations des ailes chez les femelles de *M. leporina* (n=20) (B), les mâles *M. leporina* (n=20) (C), les femelles de *M. nigricans* (n=20) (E), les mâles de *M. nigricans* (n=20) (F), les femelles de *M. tricincta* (n=20) (H), les mâles de *M. tricincta* (n=20) (I), créées à partir du groupe mixte (mâles + femelles) correspondant à chaque espèce.

On observe que les déformations concernent surtout les landmarks situés sur les contours de l'aile. Les directions de déformation relatives à chaque landmark (données par les vecteurs) des ailes des mâles des trois espèces sont similaires. Les ailes des femelles des trois espèces semblent être affectées d'amplitudes de déformations plus ou moins similaires. On retrouve cette même situation chez les mâles.



Figure 16. Boxplot de la taille centroide des ailes des femelles de *M. leporina* (n=20), des mâles de *M. leporina* (n=20), des femelles de *M. nigricans* (n=20), des mâles de *M. nigricans* (n=20), des femelles de *M. tricincta* (n=20) et des mâles de *M. tricincta* (n=20). Les résultats du test de comparaison multiple de Kruskal-Wallis correspondent aux lettres au-dessus de chaque boxplot.

Concernant la taille des ailes, chez les trois espèces, les ailes des individus mâles sont plus petites que celles des femelles. *M. nigricans* est l'espèce qui présente les ailes les plus grandes chez les mâles et les femelles (fig.16).

Le résultat du test de Kruskal-Wallis (pvalue <2.2e-16 ; tab.6) indique une différence significative de taille centroide entre les différents groupes du boxplot.

Kruskal-Wallis $chi^2 = 88.6506$ df	f = 5 pvalue < 2.2e	-16
-------------------------------------	---------------------	-----

Table 6. Résultats du test de Kruskal-Wallis entre les tailles centroides des ailes des femelles de *M. leporina* (n=20), des mâles de *M. leporina* (n=20), des femelles de *M. nigricans* (n=20), des mâles de *M. nigricans* (n=20), des femelles de *M. tricincta* (n=20) et des mâles de *M. tricincta* (n=20).

Le test de comparaison multiple ci-dessous (tab.7) donne le détail des différences entre les sexes de chaque espèce.

	Distance euclidienne entre les moyennes	pvalue
M.leporina_F-M.leporina_M	35.200	<0.001
M.nigricans_F-M.nigricans_M	36.650	<0.001
M.tricincta_F-M.tricincta_M	54.400	<0.001

Table 7. Résultats du test de comparaison multiple « Kruskalmc » entre les tailles centroides des femelles de *M. leporina* (n=20), des mâles de *M. nigricans* (n=20), des mâles de *M. nigricans* (n=20), des mâles de *M. tricincta* (n=20) et des mâles de *M. tricincta* (n=20).

Les différences de taille centroide entre les ailes de mâles et femelles de chaque espèce sont significativement différentes. L'espèce qui présente le plus de différence est *M. tricincta*.



Figure 17. Tailles centroides des sexes des trois espèces *M. leporina* (n=40), *M. nigricans* (n=40), et *M. tricincta* (n=40), par rapport à la variance exprimée par le premier axe de la RWA.

La figure 17 indique une corrélation entre la taille centroide et la forme des ailes des individus mâles et femelles des trois espèces. La table ci-dessous (tab.8) rassemble les valeurs des corrélations calculées.

Espèce	Taille centroide vs axe 1	Taille centroide vs axe 2	Taille centroide vs axe 3
M. leporina	-0.6649931	0.1608982	-0.1841384
M. nigricans	0.6454021	0.07381257	-0.1562664
M. tricincta	-0.7846778	0.05998782	-0.1704149

Table 8. Résultats des tests de corrélation (coefficients de corrélation) entre la taille centroide et la variance de la forme des ailes exprimée par les trois premiers axes de la RWA chez *M. leporina* (n=40), *M. nigricans* (n=40) et *M. tricincta* (n=40).

Les résultats de la table 8 montrent clairement une relation entre la taille centroide et la forme des ailes des individus mâles et femelles exprimée sur le premier axe de la RWA de chaque espèce. L'espèce *M. tricincta* présente la corrélation la plus forte.

3.1.2. Variation de la forme des ailes par différents facteurs

La figure 18 représente la relation entre la distance géographique et la distance morphologique chez les trois espèces *M. leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta*, par le test de Mantel et par la db-RDA.



Figure 18. A gauche, les résultats du test de corrélation de Mantel entre la distance géographique et la distance morphologique chez *M. leporina* (n=223) (r = -0.034/ pvalue = 0.865/ nombre de permutations = 999), *M. nigricans* (n=188) (r = 0.057/ pvalue = 0.039/ nombre de permutations = 999) et *M. tricincta* (n=145) (r = 0.093/ pvalue = 0.02/ nombre de permutations = 999). La ligne noire représente la droite de régression. A droite, représentation des RDA exprimant la variation entre les deux distances chez *Melitta leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta*.

Les résultats du test de corrélation de Mantel entre la distance géographique et morphologique (pvalue>0.01%) montrent qu'il n'y a pas de relation entre ces deux distances chez les trois espèces. Bien que les db-RDA (fig.18) indiquent une corrélation entre distance géographique et morphologique chez les trois espèces (pvalue<0.01%), les parts de variance exprimées par les deux premiers axes de la RDA sont très faibles :

M. leporina : La RDA exprime 7 % de la variation de la relation entre la distance géographique et morphologique (r = 0.06, pvalue<0.01, F = 1.48, nombre de permutations = 1000) avec les deux premiers axes de la RDA qui expriment respectivement 4 % et 3 % de la variance totale (variance totale = 0.0007). *M. nigricans* : La RDA exprime 7 % de la variation de la relation entre la distance géographique et morphologique (r = 0.06, pvalue<0.01, F = 1.61, nombre de permutations = 1000) avec les deux premiers axes de la RDA qui expriment respectivement 4 % et 3 % de la variance totale (variance totale = 0.0006). *M. tricincta* : La RDA exprime 6 % de la variation de la relation entre la distance géographique et morphologique (r = 0.04, pvalue<0.01, F = 1.51, nombre de permutations = 1000) avec les deux premiers axes de la RDA qui expriment respectivement 3 % et 3 % de la variance totale (variance totale = 0.0006).

Espèce	Forme vs Température (coefficient de corrélation)	Forme vs Altitude (coefficient de corrélation)	Forme vs Taille centroide (coefficient de corrélation)
M. leporina	0.06816694	0.02552737	0.09828248
M. nigricans	0.09542036	0.2483341	0.1058483
M. tricincta	-0.2356895	-0.04335254	0.2843048

 Table 9. Résultats des tests de corrélation entre la forme des ailes (axe 1 de la RWA) et différents facteurs chez M. leporina (n=223), M. nigricans (n=188) et M. tricincta (n=145).

D'après les résultats de la table 9, il n'y a aucune corrélation entre la forme des ailes et la température, l'altitude et la taille centroide. Il n'y a pas non plus de corrélation entre la taille et les autres facteurs (résultats non montrés).

3.2. Macro évolution des ailes de Melitta et paléontologie

Dans les différents jeux de données utilisés lors de cette étude, le coefficient de régression calculé entre les distances procruste et euclidienne est proche de 1.

3.2.1. Valeur diagnostique de la forme des ailes au niveau générique et spécifique

Afin de déterminer si la forme des ailes des abeilles du genre *Melitta* est bien diagnostique, il faut vérifier si la forme du genre est diagnostique par rapport aux genres proches *Rediviva* et *Redivivoides* (fig.19).



Figure 19. Analyse discriminante linéaire des genres *Melitta* (n=276) et *Rediviva/Redivivoides* (n= 22) représentée le long des deux premiers axes. Les distances entre les moyennes de chaque groupe (points noirs) sont illustrées par les droites.

Les genres *Melitta* et *Rediviva/Redivivoides* sont bien séparés. Il n'y a pas de recouvrement entre les deux groupes. Cette observation est validée par les résultats de la table d'assignement (tab.10).

Gro	upement "a priori"													Gro	upe	mei	nt "a	a po	ster	iori	"										
		1	2	3	4	56	57	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	%
	Melitta aegyptiaca (1)	14	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	82
	Melitta americana (2)	0	3	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta arrogans (3)	0	0	19	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta avontuurensis (4)	0	0	0	1	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta bicollaris (5)	0	0	0	0	6 (0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta californica (6)	0	0	0	0	0 1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta cameroni (7)	0	0	0	0	0 0) 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta dimidiata (8)	0	0	0	0	0 0	0 (19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta eickworti (9)	0	0	0	0	0 0	0 (0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta ezoana (10)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	80
М	Melitta haemorrhoidalis (11)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Ε	Melitta harrietae (12)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
L	Melitta hispanica (13)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
1	Melitta japonica (14)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Т	Melitta leporina (15)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Т	Melitta magnifica (16)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Α	Melitta maura (17)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta melanura (18)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	85
	Melitta melittoides (19)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta murciana (20)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta nigricans (21)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta richtersveldensis (22)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta schmiedeknechti (23)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	15	0	0	1	0	0	0	0	88
	Melitta schultzei (24)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	100
	Melitta seitzi (25)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	100
	Melitta sibirica (26)	1	0	1	0	0 0	0 (0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0	80
	Melitta tricincta (27)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0	0	100
PEDIVIVA	Rediviva intermixta (28)	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	100
ALDIVIVA	Rediviva longimanus (29)	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	100
REDIVIVOIDES	Redivivoides simulans (30)	0	0	0	0	0 0	0 (0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	100

Table 10. Table d'assignement correspondante à l'analyse discriminante des trois genres Melitta (27 espèces ; n=276), Rediviva (2 espèces ;n=20) et Redivivoides (1 espèce ; n=2) avec un « a priori » de groupement basé sur l'espèce.

Au sein du genre *Melitta*, On remarque que 97% des individus sont correctement assignés à leur groupe d' « a priori ».

3.2.2. Estimation du signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes

Les analyses de ce point sont limitées aux 20 espèces de *Melitta* utilisées dans l'étude phylogénétique de Dellicour *et al.* (2013).

Le signal phylogénétique est estimé qualitativement par comparaison des résultats obtenus par la phylogénie (Dellicour *et al.* 2013 ; fig.20) et la phénétique (fig.21).



Figure 20. Majority-rule consensus des arbres échantillonnés par l'analyse bayésienne réalisée sur la matrice de données moléculaire combinée (28S, COI, EF-1 α , nak, Opsin, RNAP et WGL), d'après Dellicour *et al.* (2013). Les valeurs situées au-dessus des branches sont les probabilités postérieures bayésiennes, et les valeurs en italique sous les branches correspondent aux valeurs de bootstrap en maximum de vraisemblance (valeurs < 50% non représentées sur l'arbre). A, B, C, D et E mettent en évidence 5 clades spécifiques : Clade A, *Plesiomelitta* ; clade B, *Afromelitta* ; clade C, *Melitta* s.str. (anciennement *Cilissa* et *Melitta* s.str. *sensu* Michez et Eardley 2007); clade D, anciennement *Melitta* s.str. *sensu* Michez et Eardley (2007); clade E, clade composé d'une majorité d'espèces polylectiques.



Figure 21. Arbre construit par la méthode des liens « neighbor joining » basé sur les distances de Mahalanobis, représentant les similarités de forme des ailes entre les 20 espèces de *Melitta* utilisées dans l'arbre phylogénétique de Dellicour *et al.* (2013).

Bien qu'il ne semble pas y avoir de topologie globale similaire entre les deux arbres, certains groupes coïncident : *M. avontuurensis - M. schultzei* ; *M. leporina - M. nigricans - M. tricincta* ; *M. dimidiata - M. bicollaris* ; *M. ezoana - M. sibirica* ; *M. melanura - M. haemorrhoidalis* ; *M. maura - M. aegyptiaca - M. schmiedeknechti*.

Afin de vérifier les résultats précédents, le signal phylogénétique est évalué quantitativement. La figure suivante (fig.22) représente la corrélation entre la distance morphologique et génétique chez les 20 espèces de *Melitta*.



Figure 22. Résultats du test de corrélation de Mantel entre la distance morphologique et la distance génétique chez les 20 espèces du genre *Melitta* (r = 0.132/ pvalue = 0.209/ nombre de permutations = 999). La ligne noire représente la droite de régression.

Le résultat de la corrélation entre la distance génétique et morphologique (pvalue>0.01%) montre qu'il n'y a pas de relation entre ces deux distances. Ce résultat est confirmé par la db-RDA (pvalue=0.43 ; fig.23).



Figure 23. Représentation des 16 axes de la RDA exprimant la variation entre la distance génétique et morphologique des 20 espèces de *Melitta* (r = 0.07, pvalue = 0.43, F = 1.09, nombre de permutations = 1000)

3.2.3. Affinité taxonomique du fossile de *M. willardi*

Les figures 24 et 25 représentent respectivement l'analyse discriminante des 6 familles d'abeilles contemporaines et l'analyse discriminante des 15 sous-familles correspondantes, représentées le long des deux premiers axes. Ces deux analyses sont effectuées sur le même nombre d'individus, soit 384 spécimens contemporains.



Figure 24. Analyse discriminante linéaire des 6 familles d'abeilles contemporaines, représentée le long des deux premiers axes (n=384). Les distances entre les moyennes de chaque groupe (points noirs) sont illustrées par les droites.

Les 6 familles semblent bien séparées dans l'espace discriminant. Les résultats de la table d'assignement (tab.11) confirment cette observation.

Groupement "a priori"	Groupement "a posteriori"												
	Melittidae	Apidae	Andrenidae	Halictidae	Megachilidae	Colletidae	%						
Melittidae	305	0	0	0	0	0	100						
Apidae	0	18	0	0	0	0	100						
Andrenidae	0	0	18	0	0	0	100						
Halictidae	0	0	0	18	0	0	100						
Megachilidae	0	0	0	0	8	0	100						
Colletidae	0	0	0	0	0	17	100						

 Table 11. Table d'assignement correspondante à l'analyse discriminante des 6 familles d'abeilles contemporaines (n=384), avec un « a priori » de groupement basé sur la famille.

Tous les individus appartenant aux 6 familles d'abeilles contemporaines sont correctement assignés dans leur groupe d' « a priori ».



Figure 25. Analyse discriminante linéaire des 15 sous-familles d'abeilles contemporaines, représentée le long des deux premiers axes (n=384). Les distances entre les moyennes de chaque groupe sont illustrées par les droites.

Les 15 sous-familles représentées dans l'analyse discriminante de la figure 25 semblent bien séparées. Les résultats de la table d'assignement (tab.12) confirment cette observation.

Groupement "a priori"				e	ìro	upe	em	ent	t"a	pos	teri	ori"				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	%
Melittinae (1)	298	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Xylocopinae (2)	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Halictinae (3)	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Andreninae (4)	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Oxaeinae (5)	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Panurginae (6)	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Rophitinae (7)	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Fideliinae (8)	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	100
Diphaglossinae (9)	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	100
Colletinae (10)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	100
Meganomiinae (11)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	100
Apinae (12)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	100
Nomiinae (13)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	100
Nomioidinae (14)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	100
Nomadinae (15)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	100

 Table 12. Table d'assignement correspondante à l'analyse discriminante des 15 sous-familles d'abeilles contemporaines (n=384), avec un « apriori » de groupement basé sur la sous-famille.

Tous les individus appartenant aux 15 sous-familles d'abeilles contemporaines sont correctement assignés dans leur groupe d' « a priori ».

La figure 26 représente la position du fossile de *M. willardi* parmi les 15 sous-familles d'abeilles contemporaines. De manière à visualiser un maximum de variance du jeu de données, les axes 2 et 7 ont été utilisés.



Figure 26. RWA des 15 sous-familles d'abeilles contemporaines et du fossile de *Melitta willardi*, représentée le long des axes 2 et 7 (n=385) *V.E = variance expliquée. Les 8 digitalisations des ailes du fossile correspondent aux 8 carrés rouges présents à l'intérieur du cercle dessiné.

On remarque que le fossile n'est pas présent au sein des Melittinae. Il est proche du groupe des Andreninae.

4. **DISCUSSION**

4.1. Pressions de sélection sur la forme des ailes

Nos résultats indiquent une variabilité intraspécifique chez les trois espèces, qui est inférieure à la variabilité interspécifique. L'analyse de la variation intraspécifique (*M. leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta*) de la forme des ailes n'a pas montré de corrélation significative avec les différents facteurs mesurés.

a. <u>Sélection sexuelle</u>

Nos résultats révèlent un dimorphisme sexuel marqué chez les trois espèces. Cependant, étant donné que la variabilité interspécifique est supérieure à la variabilité intraspécifique, la pression sexuelle n'est pas forte au point de faire converger les ailes des mâles de Melitta vers la même forme. Par ailleurs, l'étude des déformations a permis de montrer que les ailes des mâles des trois espèces sont déformées de la même façon. Cette similarité de déformation pourrait s'expliquer par une corrélation entre la taille et la forme des ailes. La taille des femelles est plus importante que celle des mâles, et cette différence se traduit par un dimorphisme entre les deux sexes, et par des déformations typiques aux deux groupes. Cette différence de taille peut s'expliquer par les fonctions respectives des sexes (Stubblefield et Seger 1994). En effet, les femelles s'occupent de la construction, de l'approvisionnement des nids, et de la ponte. Au contraire les mâles ont une durée de vie plus courte, ne servent que leur partenaire sexuel et ne participent pas aux soins parentaux. Les résultats obtenus sont en accord avec une étude de Radloff et al. (2003), effectuée sur des abeilles domestiques asiatiques, qui a montré qu'il existe un dimorphisme sexuel de forme hautement significatif entre les ouvrières et les mâles de même espèce, ainsi que par Pretorius et al. (2005) chez différentes espèces du genre Tachysphex (Sphecidae). Shreeves et Field (2008), qui ont analysé différents taxons d'abeilles (parmi les familles Halictidae, Megachilidae et Apidae), ont montré que les abeilles femelles sont en général 7,4% plus larges que les mâles. Ceux-ci ont également montré que ce dimorphisme était plus marqué chez les espèces qui construisent et approvisionnent des nids. Les Melitta étant des abeilles de ce type, il est donc fort probable que le dimorphisme que l'on observe au niveau des ailes, et qui est corrélé à un effet de taille, soit le résultat d'une différence dans les fonctions propres aux deux sexes.

b. Pressions environnementales

Contrairement à ce qui a été observé chez des populations (individus mâles et femelles) de *D. melanogaster* (Pitchers *et al.* 2012), l'altitude n'a pas d'effet significatif sur la forme des ailes des individus mâles de *Melitta*. Le test effectué entre la forme des ailes et la température de l'air n'a pas non plus montré d'effet significatif. Ces deux facteurs ne provoquent donc pas la sélection de certaines formes d'aile. Les études ayant montré des effets de la température sur la forme des ailes (Trotta *et al.* 2010, Loh *et al.* 2008, Aytekin *et al.* 2009) ont été menées sur des données relatives aux températures d'élevage, et non pas sur des températures relevées sur les stations de récoltes des spécimens. De plus, les variations de forme d'aile liées aux différentes températures d'élevage sont accompagnées de changements de taille et ont été décrites comme une conséquence de la perturbation du développement. *In natura*, il est fort probable que de tels troubles dans l'embryogénèse induiraient l'apparition d'individus mal adaptés par rapport à leurs fonctions primaires (récolte, construction des nids, reproduction, parade nuptiale,...). Ces variations de forme ne seraient donc pas favorablement sélectionnées.

c. Allométrie

Au niveau interspécifique, la variation de forme d'aile entre les individus mâles des trois espèces n'est pas due à un effet allométrique. Par ailleurs, au niveau intraspécifique, nous avons observé des effets significatifs de la taille sur la forme des ailes entre les sexes de chaque espèce. Les ailes des femelles sont en effet plus grandes que celles des mâles et cette différence se traduit par des formes d'ailes différentes. Ce résultat coïncide avec ceux obtenus par Gidaszewski *et al.* (2009) chez l'espèce *Drosophila melanogaster*.

4.2. Evolution de la forme des ailes

Nos analyses de la différenciation morphologique par la distance indiquent une faible corrélation. Nos résultats négatifs de l'impact des pressions environnementales sur la forme des ailes ne permettent pas d'expliquer cette faible différenciation morphologique par la distance. Par ailleurs, une hypothèse serait qu'une différentiation génétique par la distance soit apparue lors de la recolonisation des *Melitta* après l'époque glaciaire. Cette différenciation aurait elle-même entraîné des divergences morphologiques, sans l'intervention d'une pression de sélection environnementale. D'après les résultats obtenus sur la variation de la forme des ailes liée aux différentes pressions, la forme des ailes de *Melitta* constitue un caractère neutre. Par ailleurs, sa forte valeur diagnostique a été démontrée dans les niveaux taxonomiques interspécifiques (entre les espèces du genre *Melitta*) et intergénérique (entre les genres *Melitta* et *Rediviva/Redivivoides*). Par rapport à d'autres études, notre analyse de la valeur diagnostique au niveau interspécifique donne de très bons résultats. Par exemple, chez des espèces du genre *Euglossa*, Francoy *et al.* (2012) ont obtenus un score de 91% d'individus correctement classés.

Bien que la forme des ailes de *Melitta* constitue un caractère neutre et soit diagnostique aux différents niveaux taxonomiques cités, les analyses qualitative et quantitatives de la différence entre les groupements basés sur la forme des ailes et la phylogénie n'ont pas montré de concordance. Dans l'analyse

qualitative, seuls les taxons possédant une forte affinité entre eux (*e.g. M. leporina - M. nigricans - M. tricincta*) sont retrouvés dans les deux types d'arbres. Une situation comparable est retrouvée dans une analyse morphométrique des ailes du sous-genre *Bombus s.str.* (De Meulemeester 2011), dans laquelle les groupes d'espèces sont conservés, mais la relation entre ces groupes au sein du sous-genre sont perturbées. Cette observation renforce l'hypothèse que la force du signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes se dilue au fur et à mesure que les affinités taxonomiques deviennent plus faibles (Michez *et al.* 2009b, De Meulemeester *et al.* 2012). La différence entre les groupements basés sur la forme des ailes et la phylogénie ne serait probablement pas due à une pression de sélection, mais bien à une évolution neutre non parallèle entre gènes séquencés et caractères morphologiques mesurés.

4.3. Affinité taxonomique du fossile de M. willardi

Le spécimen de *M. willardi* fut décrit par Cockerell (1909) comme faisant partie du genre *Melitta*, avec lequel il partage des caractéristiques comme la scopa située derrière le tibia et le basitarse, la présence de 3 cellules submarginales, et la forme globale (Michez *et al.* 2007d).

Notre analyse par comparaison des formes d'aile ne confirme pas cette hypothèse. L'analyse de la position du spécimen au sein des différentes sous-familles d'abeilles contemporaines n'a pas confirmé l'identification établie par Cockerell. En effet, dans l'espace discriminant, la sous-famille la plus proche est celle des Andreninae, qui est, comme les Melittinae, un groupe d'abeilles à langue courte. La présence de deux sutures subantennaires, caractéristique de la famille des Andrenidae, n'a pas été décrite dans la diagnose du fossile effectuée par Cockerell. La compression ne permet pas de visualiser nettement cette partie diagnostique.

Des études de morphométrie géométrique effectuées sur les ailes d'abeilles ont permis la classification taxonomique supra générique fiable de fossiles, dont *Paleohabropoda oudardi* (Michez et *al.* 2009b) et *Electrolictus antiquus* Engel 2001 (De Meulemeester *et al.* 2012). Nous restons tout de même prudents quant à l'appartenance du fossile à l'un ou l'autre groupe. En effet, le but initial étant la vérification de la position de fossile de *M. willardi* au sein du genre *Melitta*, l'échantillonnage utilisé (seulement 20 individus par famille) pour déterminer la proximité phénotypique avec une autre famille nous donne juste une idée de ce que pourrait être le spécimen. L'identification morphométrique précise d'un fossile nécessite un échantillonnage plus important.

5. CONCLUSION

La forme des ailes de *Melitta* constitue un caractère neutre, capable de diagnostiquer avec efficacité les différentes espèces étudiées.

Les différences entre les groupements basés sur la forme des ailes et la phylogénie sont importantes. Il n'y a donc pas de signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes de *Melitta*.

L'analyse de la position du fossile *Melitta willardi* réfute l'hypothèse établie par Cockerell, et indique une proximité phénotypique du spécimen avec la sous-famille des Andreninae.

La morphométrie géométrique de la forme des ailes ne deviendra probablement pas un égal à la phylogénie moléculaire dans l'étude de la phylogénie des abeilles. Lorsque l'étude phylogénétique n'est pas possible, la morphométrie géométrique est un outil performant pour la discrimination de taxa aux niveaux intra et supra spécifiques, et pour discuter des affinités taxonomiques de fossiles. En tant que méthode non-destructive, elle permet aussi l'analyse de taxons représentés par un unique spécimen sans entraîner de grande perte d'informations.

6. PERSPECTIVES

Plusieurs analyses permettraient d'améliorer ce travail. Tout d'abord, d'autres facteurs pourraient influencer la forme des ailes et leur sélection. Il serait pertinent d'étudier l'humidité relative et la vitesse des vents. En effet, la fonction principale des nervures des ailes est de fournir un soutien structurel et le modèle de la nervation est un facteur déterminant de la mécanique du vol. Au cours du vol des insectes, le vol est constamment réglé par une courbure de l'aile pour un débit d'air optimal, et cet ajustement résulte de la rigidité de la flexion de l'aile, qui à son tour dépend de la position des nervure transversales (Marcus 2001). Le débit d'air optimal étant fonction de la vitesse des vents, il serait intéressant d'étudier ce paramètre environnemental. De plus, des combinaisons entre différents facteurs tels que l'humidité relative et la température seraient intéressantes à tester car les ailes des insectes supportent un ensemble de facteurs interagissant les uns avec les autres (Vargas *et al.* 2010). Aussi, les *Melitta* étant des abeilles qui nichent dans le sol, il serait plus pertinent de tester la variation de la forme des ailes avec la température du sol. Il serait également intéressant d'effectuer des élevages de *Melitta* à différentes températures afin d'analyser l'impact que ce facteur peut avoir sur l'embryogénèse et sur la forme des ailes.

Ensuite, afin de déterminer si la différenciation morphologique par la distance est due à une évolution neutre non parallèle entre gènes séquencés et caractères morphologiques mesurés, il serait intéressant d'étudier la corrélation entre les distances génétique et géographique au niveau microévolutif.

Enfin, pour confirmer l'hypothèse que la force du signal phylogénétique diminue au fur et à mesure qu'on s'éloigne de l'ancêtre commun, il serait intéressant d'analyser la qualité du signal phylogénétique dans la similarité de la forme des ailes au niveau microévolutif, avec les trois espèces sœurs *M. leporina*, *M. nigricans* et *M. tricincta*.

7. **BIBLIOGRAPHIE**

Adams, D. C., F. J. Rohlf, et al. (2004). "Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'." <u>Italian Journal of Zoology</u> **71**(1): 5-16.

Aguirre, W. E., K. E. Ellis, et al. (2008). "Phenotypic variation and sexual dimorphism in anadromous threespine stickleback: implications for postglacial adaptive radiation." <u>Biological Journal of the Linnean</u> <u>Society</u> **95**(3): 465-478.

Airey, D. C., F. Wu, et al. (2006). "Geometric morphometrics defines shape differences in the cortical area map of C57BL/6J and DBA/2J inbred mice." <u>BMC neuroscience</u> **7**(1): 63.

Alexander, B. A. and C. D. Michener (1995). "Phylogenetic studies of the families of short-tongued bees (Hymenoptera : Apoidea)." <u>The University of Kansas Science Bulletin</u> **55**(11): 377 - 424.

Alpatov, W. (1930). "Phenotypical variation in body and cell size of Drosophila melanogaster." <u>The</u> <u>Biological Bulletin</u> **58**(1): 85-103.

Ascher, J. and al. (2007). "Discover of life species guide."

Ascher, J. S., Rozen Jr. J.G., et al. (2008). "Apoidea species guide [WWW document]."

Aytekin, S., A. M. Aytekin, et al. (2009). "Effect of different larval rearing temperatures on the productivity (Ro) and morphology of the malaria vector Anopheles superpictus Grassi (Diptera: Culicidae) using geometric morphometrics." Journal of Vector Ecology **34**(1): 32-42.

Azevedo, R. B., A. C. James, et al. (1998). "Latitudinal variation of wing: thorax size ratio and wing-aspect ratio in Drosophila melanogaster." <u>Evolution</u>: 1353-1362.

Baylac, M., C. Villemant, et al. (2003). "Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes." <u>Biological Journal of the Linnean Society</u> **80**(1): 89-98.

Bitner-Mathe, B. C., A. A. Peixoto, et al. (1995). "Morphological variation in a natural population of Drosophila mediopunctata: altitudinal cline, temporal changes and influence of chromosome inversions." <u>Heredity</u> **75**(1): 54-61.

Bitner-Mathe, B. C. and L. B. Klaczko (1999). "Plasticity of Drosophila melanogaster wing morphology: effects of sex, temperature and density." <u>Genetica</u> **105**(2): 203-210.

Blomberg, S. P., T. Garland, et al. (2003). "Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile." <u>Evolution</u> **57**(4): 717-745.

Bookstein, F. L. (1991). <u>Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology</u>. Cambridge, Cambridge University Press.

Brothers, D. J. (1998). "Phylogeny and evolution of wasps, ants and bees (Hymenoptera, Chrysidoidea, Vespoidea and Apoidea)." <u>Zoologica Scripta</u> **28**: 233-249.

Buchmann, S. L. (1987). "The ecology of oil flowers and their bees." <u>Annual Review of Ecology and</u> <u>Systematics</u> **18**: 343-369.

Cane, J. H. (1983). "Chemical Evolution and Chemosystematics of the Dufour's Gland Secretions of the Lactone-Producing Bees (Hymenoptera: Colletidae, Halictidae, and Oxaeidae)." <u>Evolution</u> **37**(4): 657-674.

Cardini, A. (2003). "The geometry of the marmot (Rodentia: Sciuridae) mandible: phylogeny and patterns of morphological evolution." <u>Systematic Biology</u> **52**(2): 186-205.

Cardini, A. and S. Elton (2008). "Does the skull carry a phylogenetic signal? Evolution and modularity in the guenons." <u>Biological Journal of the Linnean Society</u> **93**(4): 813-834.

Cavicchi, S., D. Guerra, et al. (1985). "Temperature-related divergence in experimental populations of Drosophila melanogaster. I. Genetic and developmental basis of wing size and shape variation." <u>Genetics</u> **109**(4): 665-689.

Celary, W. (2002). "The Ground-nesting Solitary Bee, *Dasypoda thoracica* Baer, 1853 (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae) and Its Life History." <u>Folia biologica</u> **50**(3-4): 191-198.

Claude, J. (2008). Morphometrics with R, Springer.

Cockerell, T. D. A. (1909). "New North American bees." <u>The Canadian Entomologist</u> 41: 393-395.

Computing, T. R. F. f. S. (2012). "R Version 2.15.1."

Crepet, W. L., K. C. Nixon, et al. (2004). "Fossil evidence and phylogeny: the age of major angiosperm clades based on mesofossil and macrofossil evidence from Cretaceous deposits." <u>American Journal of Botany</u> **91**: 1666-1682.

Danforth, B. N. (1999). "Emergence dynamics and bet hedging in a desert bee, *Perdita portalis*." Proceedings of the royal society of London **266**: 1985-1994.

Danforth, B. N., S. G. Brady, et al. (2004). "Single-Copy Nuclear Genes Recover Cretaceous-Age Divergences in Bees." <u>Systematic Biology</u> **53**(2): 309-326.

Danforth, B. N., S. D. Sipes, et al. (2006). "The history of early bee diversification based on five genes plus morphology." <u>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</u> **103**(41): 15118-15123.

Danforth, B. N., S. Cardinal, et al. (2013). "The Impact of Molecular Data on Our Understanding of Bee Phylogeny and Evolution." <u>Annual Review of Entomology</u> **58**: 57-78.

De Meulemeester, T. (2011). "Approche intégrative dans la systématique de taxons complexes: les bourdons et les abeilles fossiles. UMONS." 316pp.

De Meulemeester, T., D. Michez, et al. (2012). "Taxonomic afinity of halictid bee fossils (Hymenoptera: Anthophila) based on geometric morphometrics analyses of wing shape." Journal of systematic Palaeontology: (in press).

Debat, V., M. Beagin, et al. (2003). "Allometric and nonallometric components of Drosophila wing shape respond differently to developmental temperature." <u>Evolution</u> **57**(12): 2773-2784.

Dellicour S. and Michez (2010). "Biologie, observations et collectes de trois espèces sœurs du genre Melitta Kirby 1802 (Hymenoptera, Melittidae). Osmia, 4." 29-34.

Dellicour S., L. T., Kuhlmann M., Mardulyn P., Michez D. (2013). "Molecular phylogeny, biogeography, and host plant shifts in the bee genus Melitta (Hymenoptera: Anthophila)." <u>Molecular Phylogenetics and Evolution</u>.

Dressler, R. L. (1982). "Biology of the orchid bees (Euglossini)." <u>Annual Review of Ecology and</u> <u>Systematics</u> **13**: 373-394.

Edwards, R. (1998). Provisional atlas of the aculeate Hymenoptera of Britain and Ireland, Part II. W. a. A. R. S. Bees. Huntingdon, Biological Records Centre: 98-109.

Eickwort, G. C. and H. S. Ginsberg (1980). "Foraging and mating behavior in Apoidea." <u>Annual Review of</u> <u>Entomology</u> **25**: 421-446.

Engel, M. S. (2000). "A new interpretation of the oldest Fossil Bee (Hymenoptera: Apidae)." <u>American</u> <u>Museum Novitates</u> **3296**: 1-11. Engel, M. S. (2001). "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. (2002). "Halictine bees from the Eocene-Oligocene boundary of Florissant, Colorado (Hymenoptera: Halictidae).

Engel, M. S. and S. B. Archibald (2003). "An Early Eocene bee (Hymenoptera: Halictidae) from Quilchena, British Columbia. The Canadian Entomologist, 135." 63–69.

Francoy and al. (2006). "Morphometric differences in a single wing cell can discriminate Apis mellifera racial types1." <u>Apidologie 37</u>: 91–97.

Francoy, T. M., F. de Faria Franco, et al. (2012). "Integrated landmark and outline-based morphometric methods efficiently distinguish species of Euglossa (Hymenoptera, Apidae, Euglossini)." <u>Apidologie</u> **43**(6): 609-617.

Genersch, E., C. Yue, et al. (2006). "Detection of Deformed wing virus, a honey bee viral pathogen, in bumble bees (Bombus terrestris and Bombus pascuorum) with wing deformities." Journal of invertebrate pathology 91(1): 61-63.

Gidaszewski, N., M. Baylac, et al. (2009). "Evolution of sexual dimorphism of wing shape in the Drosophila melanogaster subgroup." <u>BMC Evolutionary Biology</u> **9**(1): 110.

Gilchrist, A., R. Azevedo, et al. (2000). "Adaptation and constraint in the evolution of Drosophila melanogaster wing shape." <u>Evolution & Development</u> **2**(2): 114-124.

Grimaldi, D. (1999). "The Co-radiations of pollinating insects and angiosperms in the Cretaceous." <u>Annals</u> of the Missouri Botanical Garden **86**(2): 373-406.

Grimaldi, D. and M. S. Engel (2005). Evolution of Insects. Cambridge, Cambridge University Press.

Hepburn, H. R., S. E. Radloff, et al. (2000). "Mountain honeybees of Africa. Apidologie, 31(2)." 205–221.

Hepburn H. R., S. E. Radloff, et al. (2001). "Morphometric analysis of Apis cerana populations in the southern Himalayan region. Apidologie, 32(5)." 435–447.

Hoffmann, A. A., E. Collins, et al. (2002). "Wing shape and wing size changes as indicators of environmental stress in Helicoverpa punctigera (Lepidoptera: Noctuidae) moths: comparing shifts in means, variances, and asymmetries." <u>Environmental entomology</u> **31**(6): 965-971.

Hu, S., Dilcher, D. L., Jarzen, D.M. & Taylor, D.W. (2008). "Early steps of angiosperm–pollinator coevolution. Proceeding of thebNational Academy of Sciences of the United States of America, 105." 240–245.

Hurd, P. D. J. (1957). "Notes on the autumnal emergence of the vernal desert bee, *Hesperapis fulvipes* Crawford (Hymenoptera, Apoidea)." Journal of the Kansas Entomological Society **30**(1): 1.

Ito, M. (1985). <u>Supraspecific classification of bumblebees based on characters of male genitalia</u>. Japan, Zoological section, The Institute of Low Temperature Science Publ. Hokkaido University.

Ito, M. (1987). "Geographic Variation of an East Asian Bumblebee Bombus diversus in Some Morphometric Characters (Hymenoptera, Apidae)." **55**(2): 188-201.

Jackson, J. B. C. and D. H. Erwin (2006). "What can we learn about ecology and evolution from the fossil record? Trends in Ecology & Evolution, 21." 322–328.

Kacar, D., F. Cakmak, et al. (2011). "Evaluation of Lingual Frenulum Using Geometric Morphometrics." Int. J. Morphol **29**(2): 313-317.

Kastberger, G., Radloff, S. & Kranner, G (2003). "Individuality of wing patterning in Giant honey bees (Apis laboriosa). Apidologie, 34 (3)." 311–318.

Kirby, W. (1802). Monographia Apum Angliae. Ipswich, privately published.

Klingenberg, C. P. and N. A. Gidaszewski (2010). "Testing and quantifying phylogenetic signals and homoplasy in morphometric data." <u>Systematic biology</u> **59**(3): 245-261.

Latreille, P. A. (1802). <u>Histoire naturelle générale et particulière des Crustacées et des Insectes</u>. Paris, Dufart.

Legendre, P. and M. J. E. FORTIN (2010). "Comparison of the Mantel test and alternative approaches for detecting complex multivariate relationships in the spatial analysis of genetic data." <u>Molecular Ecology</u> <u>Resources</u> **10**(5): 831-844.

Linsley and E.G. (1958). "The ecology of solitary bees. Hilgardia, 27(19): p. 543-599."

Loh, R., J. R. David, et al. (2008). "Adaptation to different climates results in divergent phenotypic plasticity of wing size and shape in an invasive drosophilid." Journal of genetics **87**(3): 209-217.

Malyshev, S. I. (1968). "Genesis of the Hymenoptera and Phases of Their Evolution (Methuen, London)."

Marcus, J. M. (2001). "The development and evolution of crossveins in insect wings." Journal of anatomy **199**: 211-216.

Mattu V. K. and Verma (1984). "Morphometric studies on the Indian honeybee, Apis cerana indica F. – effect of seasonal variations. Apidologie, 15(1)." 63–74.

McGingley, R. J. (1980). J Kansas Entomol Soc: 53:539-552.

Michener, C. D. (1944). "Comparative external morphology, phylogeny, and classification of the bees (Hymenoptera)." <u>Bulletin of the American Museum of Natural History</u> **82**(6): 1-326.

Michener, C. D. (1974). "The Social Behavior of the Bees (Harvard Univ Press, Cambridge, MA)."

Michener, C. D. (1979). "Biogeography of the bees." Annals of the Missouri Botanical Garden 66: 277-342.

Michener, C. D. (1981). "Classification of the bee family Melittidae with a review of species of Meganomiinae." <u>Contribution of the American Entomological Institute</u> **18**(3): 1-135.

Michener, C. D. and D. Grimaldi (1988). "The oldest fossil bee: Apoid history, evolutionary stasis, and antiquity of social behavior." <u>Proceeding of the National Academy of Sciences</u> **85**: 6424-6426.

Michener, C. D. and G. Poinar (1996). "The known bee fauna of the Dominican amber." Journal of the Kansas Entomological Society **69**(4): 353-361.

Michener, C. D. (2000). The bees of the world. Baltimore, The Johns Hopkins University Press.

Michener, C. D. (2005). J Hymen Res: 14:78-83.

Michener, C. D. (2007). "The Bees of the World, 2nd edn. Baltimore: The Johns Hopkins University Press."

Michez, D., M. Terzo, et al. (2004). "Phylogénie, biogéographie et choix floraux des abeilles oligolectiques du genre *Dasypoda* Latreille 1802 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae)." <u>Annales de la Société entomologique de France (n. s.)</u> **40**(3-4): 421-435.

Michez, D. and S. Patiny (2005). "World revision of the oil-collecting bee genus *Macropis* Panzer 1809 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae) with a description of a new species from Laos." <u>Annales de la Société entomologique de France</u> **41**(1): 15-28.

Michez, D., S. Patiny, et al. (2006). "Phylogeny and floral choices of Melittidae." <u>Beiträge der</u> <u>Hymenopterologen-Tagung in Stuttgart</u> **2006**: 53-54. Michez and al. (2007a). "Phylogeny and host-plant evolution in Melittidae s.l."

Michez, D. (2007b). "Monographic revision of the Melittidae s.(Hymenoptera: Apoidea: Dasypodaidae, Meganomiidae, Melittidae). Thèse de doctorat, Université de Mons-Hainaut, Mons." 72 p.

Michez, D. and C. D. Eardley (2007c). "Monographic revision of the bee genus *Melitta* Kirby 1802 (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae)." <u>Annales de la Société entomologique de France</u>: In press.

Michez, D., A. Nel, et al. (2007d). "The oldest fossil of a melittid bee (Hymenoptera: Apiformes) from the early Eocene of Oise (France)." <u>Zoological Journal of the Linnean Society</u>: In press.

Michez D., Patiny S., et al. (2008). "Phylogeny and host-plant evolution in Melittidae s.l. (Hymenoptera: Apoidea). Apidologie (special issue), 39." 146-162.

Michez D., Patiny S., et al. (2009a). "Phylogeny of the bee family Melittidae (Hymenoptera: Anthophila) based on combined molecular and morphological data. Systematic Entomology, 34." 574-597.

Michez D., T. Demeulemeester, et al. (2009b). "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., M. Kuhlmann, et al. (2012a). "Description of four new species in the bee genus Melitta (Hymenoptera: Melittidae)." Zootaxa 3337: 57-67.

Michez, D., M. Vanderplanck, et al. (2012b). "Fossil bees and their plant associates." <u>Evolution of plant-pollinator relationships</u>: 103-164.

Minckley, R. L., J. H. Cane, et al. (2000). "Origins and ecological consequences of pollen specialization among desert bees." Proceedings of the Royal Society of London B **267**: 265-271.

Nel, A. and J. F. Petrulevicius (2003). "New Palaeogene bees from Europe and Asia." <u>Alcheringa</u> 27(4): 227-293.

Owen (2012). "Applications of Morphometrics to the Hymenoptera, Particularly Bumble Bees (Bombus, Apidae)."

Penin, X., C. Berge, et al. (2002). "Ontogenetic study of the skull in modern humans and the common chimpanzees: neotenic hypothesis reconsidered with a tridimensional Procrustes analysis." <u>American journal of physical anthropology</u> **118**(1): 50-62.

Pitchers, W., J. E. Pool, et al. (2012). "Altitudinal clinal variation in wing size and shape in african Drosophila melanogaster: one cline or many?" <u>Evolution</u>.

Poinar, G. O. J. and B. N. Danforth (2006). "A Fossil Bee from Early Cretaceous Burmese Amber." <u>Science</u> **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)." <u>Australian Journal of Entomology</u> **44**(2): 113-121.

Quezada-Euan, J. J. G., Paxton, R. J., Palmer, K. A., Itza, W. and T. D.M., W. T. & Oldroyd, B. P (2007). "Morphological and molecular characters reveal differentiation in a Neotropical social bee, Melipona beecheii (Apidae : Meliponini). Apidologie, 38(3)." 247–258.

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/.

Radchenko, V. G. e. and Y. A. Pesenko (1994). "Biology of bees (Hymenoptera, Apoidea)." <u>Biology of bees</u> (Hymenoptera, Apoidea).

Radloff S. E., Hepburn H. R., et al. (2003). "Comparison of flight design of Asian honeybee drones. Apidologie, 34." 253–358.

Radloff, S. E., H. R. Hepburn, et al. (2005). "Multivariate morphometric analysis of Apis cerana of southern mainland Asia." <u>Apidologie</u> **36**(1): 127-139.

Rohlf, F. J. and L. F. Marcus (1993). "A revolution in morphometrics." <u>Trends in Ecology and Evolution</u> **8**(4): 129-132.

Rohlf, F. (2004). "tps-SPLIN." Thin-plate spline, Version 1.

Rohlf, F. (2006). "tpsDig, version 2.10." <u>Department of Ecology and Evolution, State University of New</u> <u>York, Stony Brook</u>.

Rohlf, F. (2007). "tpsRelw, relative warps analysis." <u>Department of Ecology and Evolution, SUNY at Stony</u> Brook. Disponible en: URL: http://life. bio. sunysb. edu/morph/index. html.

Rohlf, F. (2010). "tpsUtil program, Version 1.46." <u>Department of Ecology & Evolution, State University of New York</u>.

Ross, H. H. (1936). "The ancestry and wing venation of the Hymenoptera."

Rozen, J. G. (1974a). "The Biology of Two African Melittid Bees (Hymenoptera, Apoidea)." <u>New York</u> <u>Entomological Society</u> **82**: 6-13.

Rozen, J. G. and R. J. McGingley (1974b). "Phylogeny and systematics of Melittidae based on the mature larvae (Insecta, Hymenoptera, Apoidea)." <u>American Museum Novitates</u> **2545**: 1-31.

Schlick-Steiner, B. C., F. M. Steiner, et al. (2010). "Integrative Taxonomy: A Multisource Approach to Exploring Biodiversity." <u>Annual Review of Entomology</u> **55**: 421-438.

Schoonhoven LM, J. T., van Loon JJA (1998). "Insect-Plant Biology: From Physiology to Evolution (Chapman & Hall, London)."

Séguy (1959). "Introduction à l'étude morphologique de l'aile des insectes." 248p.

Sheets, H. (2001). Imp, integrated morphometric package. 2001.

Shreeves, G. and J. Field (2008). "Parental care and sexual size dimorphism in wasps and bees." <u>Behavioral</u> Ecology and Sociobiology **62**(5): 843-852.

Sibley, C. G. and J. E. Ahlquist (1990). <u>The phylogeny and classification of birds: a study in molecular</u> <u>evolution</u>, Yale University Press.

Sigmund Hov Moen, J. E. H. "RIMFROST."

Simpson BB and J. L. Neff (1981). "Ann Mo Bot Gard 68:301-322."

Snodgrass (1935). "Principles of insect morphology." 667 pages.

Soose, E. (1954). "Effect of temperature on the wing index and chitin colour of the honeybee. Archive f^{*}ur Bienenkunde, 31." 49–66.

Stage, G. I. (1966). Biology and systematics of the American species of the genus *Hesperapis* Cockerell. New-York, Université de Berkley: 464.

Stearns, S. C. (1977). "The evolution of life history traits: a critique of the theory and a review of the data." <u>Annual Review of Ecology and Systematics</u> **8**: 145-171.

Steiner, K. E. and V. B. Whitehead (1990). "Pollinator adaption to oil-secreting flowers *Rediviva* and *Diasca*." Evolution **44**(6): 1701-1707.

Steiner, K. E. and V. B. Whitehead (1991). "Oil flowers and oil bees: further evidence for pollinator adaptation." <u>Evolution</u> **45**(6): 1493-1501.

Stubblefield, J. W. and J. Seger (1994). "Sexual dimorphism in the Hymenoptera." <u>The differences between</u> <u>the sexes. Cambridge University Press, Cambridge</u>: 71-103.

Tamura K, P. D., Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S (2011). "MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods." <u>Molecular Biology and Evolution</u>: 28: 2731-2739.

Tan, K., H. R. Hepburn, et al. (2008). "Multivariate morphometric analysis of the Apis cerana of China." <u>Apidologie</u> **39**(3): 343-353.

Thorp, R. W. (1979). "Structural Behavioral, and Physiological Adaptations of Bees (Apoidea) for Collecting Pollen." <u>Annals of the Missouri Botanical Garden</u> **66**(4): 788-812.

Thorp, R. W. (2000). "The collection of pollen by bees." Plant Systematics and Evolution 222: 211-223.

Tillyard (1930). "The evolution of the class Insecta. Proc. Roy. Soc. Tasmania."

Tofilski, A. (2008). "Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. Apidologie 39." 558–563.

Trotta, V., C. Pertoldi, et al. (2010). "Thermal plasticity of wing size and shape in Drosophila melanogaster, D. simulans and their hybrids." <u>Climate research (Open Access for articles 4 years old and older)</u> **43**(1): 71.

Vargas M, R. E., P. Ya-umphan, et al. (2010). "Climate associated size and shape changes in Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) populations from Thailand." <u>Infection, Genetics and Evolution</u> **10**(4): 580-585.

Vencl, F. V. (2004). "Allometry and proximate mechanisms of sexual selection in Photinus fireflies, and some other beetles." <u>Integrative and Comparative Biology</u> **44**(3): 242-249.

Vogel (1974). "Ölblumen und ölsammelnde Bienen, Akademie der Wissenschaften und der Literatur, Mathematisch - Naturwissenschaftliche Klasse.Tropische und Subtropische Pfanzenwelt 7." 285- 547.

Voous, K. H. (1973). "List of recent holarctic bird species non-passerines." Ibis 115(4): 612-638.

Wappler, T. and M. S. Engel (2003). "The middle Eocene bee faunas of Eckfeld and Messel, Germany (Hymenoptera: Apoidea)." Journal of Paleontology **77**(5): 908-921.

Waser, N. M. and J. Ollerton (2006). <u>Plant-Pollinator Interactions</u>. Chicago, The University of Chicago Press.

Wcislo, W. T. and J. H. Cane (1996). "Floral resource utilization by solitary bees (Hymenoptera: Apoidea) and exploitation of their stored foods by natural enemies." <u>Annual Review of Entomology</u> **41**: 257-286.

Westerkamp, C. (1996). "Pollen in Bee-Flower Relations - Some Considerations on Melittophily." <u>Botanica</u> <u>acta</u> **109**: 325-332.

Westrich, P. (1989). "Die Wildbienen Baden-Wûrttembergs. Spezieller Teil: Die Gattungen und Arten. Eugen Ulmer GmbH & Co, Stuttgart."

Zelditch ML, Swiderski DL, et al. (2004). "Geometric Morphometrics for biologists: a primer."

Zhang, J.-F. (1989). <u>Fossil insects from Shanwang, Shandong, China</u>. Jinan, Shandong Science and Technology Publishing House.