



Institut de biologie

Laboratoire de zoologie

# Révision des abeilles du genre *Dasypoda* Latreille 1802 (Hymenoptera, Apoidea, Dasypodaidae) : Phylogénie, biogéographie et évolution des choix floraux



Directeur de mémoire : Denis Michez Mémoire de fin d'études présenté par Wendy Thayse en vue de l'obtention du diplôme de maîtrise en sciences biologiques.

Année académique 2012-2013

W Thayse. 2013. « **Révision des abeilles du genre** *Dasypoda* **Latreille 1802** (**Hymenoptera, Apoidea, Dasypodaidae**) : **Phylogénie, biogéographie et évolution des choix floraux** ». Mémoire de fin d'études en Sciences Biologiques, Université de Mons, 95p.

# Résumé général

Dasypoda Latreille est l'un des sept genres de Dasypodaidae. Cette famille étant la plus proche des guêpes ancestrales, leur étude est cruciale pour comprendre l'apparition et le début de la diversification des abeilles. Les Dasypoda sont des abeilles solitaires grégaires, univoltines et terricoles. Quatre sous-genres ont été décrits sur base de caractères morphologiques. Ces abeilles ont une distribution paléarctique essentiellement centrée autour du bassin méditerranéen, excepté *D. riftensis* qui a été découverte en Ethiopie. La grande majorité des Dasypoda est oligolectique sur des familles de plantes actinomorphes. La phylogénie des Dasypoda s'appuie principalement sur des caractères morphologiques et des données moléculaires portant sur cinq gènes (28S, EF-1 $\alpha$ , NaK, Opsine, Pol II) et 12 espèces.

Le présent travail propose d'augmenter le jeu de données moléculaires en incluant deux gènes supplémentaires (CAD et COI) et 15 espèces de *Dasypoda*. Sur base de cette nouvelle analyse phylogénétique, nous proposons une nouvelle hypothèse taxonomique, une étude de la biogéographie historique du genre et la description de l'évolution des choix floraux. Dans le même temps, une technique récente, la morphologie géométrique, a été envisagée comme alternative pour résoudre la taxonomie des *Dasypoda*. En effet, l'analyse de la forme des ailes par morphologie géométrique peut se réaliser sans endommager les spécimens utilisés, ce qui représente un avantage non négligeable lorsque les individus ne sont pas disponibles pour une extraction d'ADN.

Il ressort de cette étude que deux des quatre sous-genres décrits sont paraphylétiques. En conséquence, nous proposons de ramener le nombre de sous-genres de *Dasypoda* à deux : *Dasypoda s. str.* et *Heterodasypoda*. La phylogénie moléculaire a également mis en avant une nouvelle espèce, *D. mixta*, qui auparavant avait été mise en synonymie avec *D. suripes*. Cette division en deux sous-genres est appuyée par l'étude des choix floraux, qui distinguent d'un côté les espèces oligolectiques butinant sur des fleurs en capitule (Asteraceae et Dipsacaceae) et de l'autre les espèces polylectiques mais avec une préférence pour les Cistaceae (fleur simple). Les données biogéographiques confirment cette hypothèse, avec d'une part les espèces issues de l'ouest du bassin méditerranéen (*Dasypoda s. str.*) qui auraient dérivé pour donner les espèces vivant actuellement à l'est de la Méditerranée (*Megadasypoda*).

L'analyse de la forme de l'aile montre que ce caractère est diagnostique pour le genre, les sous-genres et les espèces de *Dasypoda*. De plus, le test d'assignement effectué par le biais de la CVA (*Canonical Varaible Analysis*) constitue un outil fort utile à l'identification de spécimens inconnus. En revanche, la forme des ailes seule ne permet pas d'obtenir un dendrogramme dont la topologie des groupements serait similaire à celle d'un arbre phylogénétique. Il semblerait néanmoins que ce caractère contienne un signal phylogénétique non négligeable, et l'hypothèse selon laquelle la forme des ailes serait corrélée à la distribution géographique mérite d'être explorée.

**Mots clés :** Dasypodaidae - génétique - morphométrie géométrique - forme des ailes - signal phylogénétique.

# **Remerciements**

Je tiens à remercier via ces quelques lignes toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

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

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au Dr. Denis MICHEZ pour m'avoir communiqué sa passion des *Dasypoda* et m'avoir permis de poursuivre ses travaux. Je n'oublie pas ses enseignements durant ces cinq dernières années, ni ses conseils avisés et ses encouragements durant les moments les plus difficiles de cette dernière année.

Je remercie le laboratoire de Biologie des Organismes Marins et Biomimétique de l'UMONS pour m'avoir permis d'utiliser le matériel nécessaire à l'amplification des séquences ADN.

Je remercie particulièrement Thomas LECOCQ pour ses conseils judicieux et son aide précieuse concernant la manipulation des outils informatiques liés à la phylogénie.

Je tiens à remercier le Dr. Thibaut DE MEULEMEESTER ainsi qu'Alexandre DEWULF pour leur aide précieuse apportée lors de la manipulation des outils statistiques.

Je remercie tous les membres du laboratoire de Zoologie pour la bonne entente qu'ils y font régner en permanence. Un clin d'œil particulier à Dimitri EVRARD dont la bonne humeur et le dévouement sont une source d'inspiration pour nous tous.

Un tel projet n'aurait sans doute pas abouti sans le soutien de mes proches. Même si ce n'est pas encore suffisant à mon goût, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance envers ma maman, Marina, sans qui ni ce travail ni les cinq années d'études qui y ont abouti n'auraient été possibles. Je remercie également Jean-Christophe qui m'a accompagnée et soutenue 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 à la réalisation de ce travail et qui n'ont pas été citées ci-dessus sachent que je ne les oublie pas et que je les remercie chaleureusement.

# Table des matières

1.	Introduc	ction	•••••		5
	1.1. 1.2. 1.3.	Généi Systéi Distri	ralités matique bution géo	ographique	5 6 9
	1.4.	Biolo	gie généra	le1	1
		1.4.1. 1.4.2.	Cycle de c Choix flor	développement1 raux	1 3
	1.5.	Objec	tifs	10	5
2.	Matérie	el et m	éthodes		
	2.1.	Phylo	génie mol	éculaire17	7
		2.1.1. 2.1.2.	Matériel b Acquisitio	biologique1 on des données1	7 9
			2.1.2.1. 2.1.2.2.	Extraction de l'ADN	0 1
		2.1.3.	Analyses	phylogénétiques24	4
		2.1.4.	Etude bio	géographique2	7
			2.1.4.1. 2.1.4.2.	Origine des données	7 7
		2.1.5.	Etude des	choix floraux	9
			2.1.5.1. 2.1.5.2.	Origine des données	9 9
	2.2.	Form	e des ailes		1
		2.2.1. 2.2.2.	Matériel b Acquisitio	piologique	1 3
			2.2.2.1. 2.2.2.2.	Photographie de l'aile	3 4

		2.2.3.	Analyses	statistiques	36
			2.2.3.1.	Analyses exploratoires et supervisées	36
			2.2.3.2.	Méthodes de groupement	37
			2.2.3.3.	Analyses de corrélation	38
3.	Résulta	ıts			39
	3.1.	Phylo	génie mol	éculaire	39
		3.1.1.	Résultats	phylogénétiques	39
		3.1.2.	Etude bio	géographique	43
		3.1.3.	Etude des	s choix floraux	45
	3.2.	Form	e des ailes	l	47
		3.2.1.	Relative	Warp Analysis	47
		3.2.2.	Canonica	ıl Variable Analysis	50
		3.2.3.	Tests d'as	ssignement	55
		3.2.4.	Dendrogr	ammes	56
		3.2.5.	Compara	ison des arbres phylogénétiques et des dendrogrammes.	59
4.	Discuss	ion	• • • • • • • • • • •	•••••••••••••••••••••••••••••••••••••••	61
	4.1.	Phylo	génie mol	éculaire	61
		4.1.1.	Etude cla	distique et implications taxonomiques	61
		4.1.2.	Etude bio	géographique	64
		4.1.3.	Etude des	s choix floraux	66
	4.2.	Form	e des ailes		67
		4.2.1.	Caractère	diagnostique de la forme des ailes	67
		4.2.2.	Phylogén	ie moléculaire versus morphométrie géométrique	68
5.	Conclu	sions	•••••		69
6.	Perspe	ctives.			70
7.	Bibliog	raphie			71
		•			-
δ.	Annexe	es			85

# 1. Introduction

### 1.1. Généralités

Les abeilles sont parmi les animaux les plus communs et les plus familiers. Cette popularité est principalement due à une seule espèce, l'abeille domestique (*Apis mellifera*), et ce bien qu'il existe en réalité des milliers d'autres espèces sauvages dans le monde. L'ensemble des diverses espèces d'abeilles constitue un groupe monophylétique, dont plus de 16.000 espèces sont décrites et réparties en deux groupes comprenant les sept familles actuellement reconnues (Michener 2007) : d'un côté les abeilles à langue longue reprenant les Apidae et les Megachilidae, de l'autre les abeilles à langue courte comportant les Andrenidae, les Colletidae, les Halictidae, les Stenotritidae et les Melittidae.

Le niveau global de connaissance de l'abeille mellifère contraste nettement avec celui des abeilles sauvages, qui elles ont reçu une attention relativement faible jusqu'ici. Par conséquent, des études plus approfondies sont nécessaires, en particulier au niveau des états ancestraux, de la diversification précoce et de la phylogénie, pour proposer une hypothèse solide concernant l'origine et l'évolution des abeilles sauvages.

Les relations phylogénétiques entre les familles d'abeilles ont été récemment profondément reconsidérées. L'hypothèse traditionnelle présentait la famille des Colletidae à la base du clade des abeilles (Michener 1944; Engel 2001). Cette hypothèse était principalement basée sur quelques similitudes morphologiques avec les guêpes ancestrales de la famille des Sphecidae. Les abeilles à langue longue seraient dès lors apparues plus tard, la famille des Melittidae étant considérée comme faisant le lien entre les groupes à langue longue et à langue courte.

Cependant, de nouvelles analyses phylogénétiques (Danforth *et al.* 2006a, b), s'appuyant sur des jeux de données morphologiques et moléculaires, ont mis en doute cette hypothèse. Les abeilles à langue courte sont alors présentées comme dérivées d'un groupe paraphylétique formé par les abeilles à langue longue et les Melittidae (**Fig. 1**). Ces mêmes analyses considèrent la famille des Melittidae comme étant à la base du clade des abeilles, et suggèrent également leur paraphylie. Toujours d'après ces mêmes travaux, la famille des Dasypodaidae est le groupe frère de toutes les autres abeilles. Leur étude est donc cruciale pour comprendre l'apparition et le début de la diversification des abeilles.



**Figure 1** : Phylogénie des abeilles (données morphologiques et moléculaires), d'après Danforth *et al.* (2006a, b) (extrait de Michez 2007).

### 1.2. Systématique

La phylogénie des Melittidae s.l. est controversée (**Fig. 2**). La monophylie de cette famille, basée sur des études morphologiques larvaires et adultes, est mal supportée (Rozen & McGinley 1974 ; Michener 1981, 2007 ; Alexander & Michener 1995 ; Packer 2003). De plus, il n'existe pas de synapomorphie morphologique valable pour toute la famille (Michener 2007). Certaines études ont suggéré que les Melittidae étaient monophylétiques [Michener 1981 (**Fig. 2A**) ; Engel 2001 (**Fig. 2C**)].

D'autres études basées sur des jeux de données morphologiques et moléculaires ont proposé l'hypothèse de la paraphylie des Melittidae [Alexander & Michener 1995 (**Fig. 2B**); Danforth *et al.* 2006a, b (**Fig. 2D**)]. Compte tenu de l'incertitude quant à la monophylie des Melittidae, ces auteurs ont préféré reconnaître trois familles distinctes plutôt que les trois sous-familles traditionnellement reconnues. C'est cette nomenclature qui sera utilisée dans le cadre de ce mémoire.



**Figure 2** : Résumé des études antérieures de la phylogénie des Melittidae (extrait de Michez *et al.* 2009a). (A) Analyse des données morphologiques des Melittidae s.l. existants. (B) Analyse des données morphologiques des abeilles à langue courte existantes. (C) Nouvelle analyse de l'ensemble des données en ajoutant les taxons fossiles. (D) Analyse de cinq gènes nucléaires ainsi que la matrice morphologique d'Alexander & Michener (1995).

Les Melittidae s.l. comprennent 207 espèces : 203 espèces contemporaines et 4 espèces fossiles (Michez *et al.* 2009a ; Michez & Pauly 2012 ; Michez *et al.* 2012). D'un point de vue morphologique, les Melittidae s.l. ne se distinguent pas des autres abeilles par un caractère simple et unique, mais par une combinaison originale de plusieurs caractères. Ils présentent de nombreux caractères morphologiques communs à l'ensemble du groupe des abeilles à langue courte, comme une langue courte avec les segments des palpes labiaux de longueur égale, ou encore les ovaires à trois ovarioles (Michener 1981 ; Rozen 1986). Cependant, ils s'en distinguent notamment par un *submentum* en forme de « V », synapomorphie qu'ils partagent avec les abeilles à langue longue. Phylogénétiquement, les Melittidae s.l. semblent ainsi le groupe frère des abeilles à langue longue (Michener 1981 ; Alexander & Michener 1995).

*Dasypoda* Latreille est l'un des 15 genres de la famille des Melittidae s. l. (Michez *et al.* 2009a). Il se distingue par de nombreuses apomorphies telles que le corps noir, le vertex élevé, l'absence de plaque basitibiale, le développement considérable des *scopae* des femelles, l'absence de peigne sur la galéa, l'absence de *keirotrichia* sur le protibia et enfin la présence de deux cellules sub-marginales (Michener 1981, 2000 ; Michez *et al.* 2004a).

Les *Dasypoda* sont les plus grandes espèces de Dasypodaidae. La plupart de ces espèces mesurent plus de 15 mm tandis que les autres Dasypodaidae ont une taille inférieure à 10 mm. Ce sont également des abeilles assez polymorphes, ce qui explique les nombreuses descriptions d'espèces dont la majorité se recoupe (**Fig. 3 & 4**).

Une révision de leur statut taxonomique a été réalisée pour la région ouest-paléarctique (Warncke 1973; Michez *et al.* 2004a), la région paléarctique (Baker 2002) et la région chinoise (Wu 2000). Michez *et al.* (2004a) citent 32 espèces, auxquelles il faut ajouter les deux nouvelles espèces d'Iran (Michez 2005) et d'Ethiopie (Michez & Pauly 2012) (**Voir Tableau 1 p.15**).

Michez *et al.* (2004b) ont réalisé une analyse cladistique de caractères morphologiques leur permettant de décrire quatre sous-genres : *Dasypoda s.s.*, *Heterodasypoda*, *Microdasypoda* et *Megadasypoda*. Les caractéristiques typiques sont nombreuses au niveau spécifique, comme par exemple la sculpture de la surface extérieure de la galéa, la ponctuation du *clypeus*, la longueur de la zone malaire, la couleur des *scopae*, les soies apprimées sur la plaque pygidiale de la femelle, ou encore la forme des derniers sternites et des *genitalia* des mâles.





**Figures 3 & 4** : Photos de *Dasypoda*. **3.** Femelle de *Dasypoda hirtipes* butinant *Picris hieracioides* (photo de JY. Baugnée). **4.** Mâle de *Dasypoda hirtipes* sur *Senecio sp.* (photo de A. Pauly).

### 1.3. Distribution géographique

Les Melittidae s.l. se rencontrent dans les écosystèmes tempérés et arides de la région néarctique et de l'Ancien Monde (Michez *et al.* 2009a, 2010) (**Fig. 5**). La région éthiopienne est la seule région où les distributions de toutes les familles se recouvrent. C'est également dans cette région que le maximum de diversité générique peut se rencontrer. Quant au maximum de diversité spécifique, il est atteint dans la région paléarctique. Le continent africain (région éthiopienne et Afrique du Nord) regroupe clairement le maximum de diversité à la fois générique et spécifique.

Les Dasypodaidae se retrouvent à la fois dans l'Ancien Monde et dans la région néarctique. Cette famille est absente en Amérique du Sud, en Australie et dans les régions tropicales. La diversité spécifique est maximale dans les zones arides. *Dasypoda* est le seul genre très répandu rencontré dans les zones tempérées à arides de la région paléarctique, essentiellement dans le bassin méditerranéen, les autres genres étant chacun endémique des différents déserts de l'Ancien Monde (**Fig. 5**). C'est également le genre qui détermine la limite nord des Dasypodaidae (Michez *et al.* 2004a).



Figure 5 : Distribution des Dasypodaidae et *locus typicus* de *Dasypoda riftensis* (extrait de Michez *et al.* 2012).

Le genre *Dasypoda* est donc endémique de la région paléarctique (**Fig. 6**). Des spécimens ont été observés de la côte atlantique européenne et marocaine jusqu'au Japon (Michez & Patiny 2002). Au sud, ce genre ne dépasse normalement pas la péninsule arabique, excepté la dernière espèce *D. riftensis* découverte en Ethiopie (Michez & Pauly 2012). Au nord, *D. hirtipes* se rencontre jusqu'en Finlande où elle dépasse le 62<sup>ème</sup> parallèle nord (Michez 2002a). Néanmoins, l'essentiel de la diversité spécifique se trouve au sein de la sous-région ouest-paléarctique (Michez 2002a, 2005 ; Michez *et al.* 2004a). Warncke (1973) y relève 18 espèces tandis que Wu (2000) n'en cite que cinq pour l'est-paléarctique, dont quatre endémiques (*D. chinensis* Wu 1978, *D. cockerelli* Yasumatsu 1935, *D. japonica* Cockerell 1911 et *D. sichuanensis* Wu 2000).

Les espèces ouest-méditerranéennes de *Dasypoda* sont relativement bien connues, de par les travaux, entre autres, de Saunders (1881), Perez (1890, 1895), Quilis (1928), Ceballos *et al.* (1956), Ornosa & Martinez (1995, 1996) et Ornosa & Ortiz-Sànchez (1998a, b). Par contre, la faune orientale du bassin méditerranéen a été très peu étudiée. Le travail réalisé par Radchenko & Pesenko (1989) sur les espèces présentes dans la partie européenne de la Russie peut être cité, ainsi que la description par Michez (2002b) de *Dasypoda patinyi* découverte en Syrie.



**Figure 6** : Carte de distribution de 31\* espèces paléarctiques et africaines du genre *Dasypoda* (d'après Michez *et al.* 2004a). \* = *D. chinensis, D. riftensis* et *D. suripes* ne sont pas reprises sur cette carte.

### 1.4. Biologie générale

### 1.4.1. Cycle de développement

Au vu des connaissances actuelles, il n'existe pas dans la famille des Melittidae s. l. d'espèces cleptoparasites ni inquilines. Ces abeilles sont toutes solitaires, univoltines (c.-à-d. une seule génération par an) et terricoles (Michez 2007). Toutes les femelles peuvent produire une descendance. Le cycle général de développement annuel est relativement identique pour toutes les espèces (**Fig. 7**).



Figure 7 : Cycle général du développement des *Dasypoda*. A. Larve de *D. hirtipes* (photo de M. Gosselin).
B. Nymphes d'*Apis mellifera* (photo de © Warren Photographic). C. Femelle de *D. hirtipes* (photo de P. Duhem). D. Accouplement de *Colletes cunicularius* (photo de N. Vereecken). E. Femelle de *D. hirtipes* (photo de N. Vereecken). F. Nid de *D. hirtipes* (photo d'Y. Barbier).

Les mâles sortent de terre quelques jours avant les femelles (**Fig. 7C**). Ils s'accouplent avec les femelles vierges, généralement sur les plantes-hôtes autour du site d'émergence (c.à.d. les « fleurs de rendez-vous », Alcock *et al.* 1978) (**Fig. 7D**). Après l'accouplement, les femelles fécondées commencent à creuser un nid (**Fig. 7F**), à savoir des tunnels individuels dont la profondeur peut dépasser un mètre, à l'aide de leurs mandibules et leurs pattes postérieures (les basitarses sont élargis pour faciliter l'excavation des matériaux). Ce terrier, surmonté d'un tumulus régulier résultant de l'excavation du sable, est constitué d'un tunnel principal dont l'entrée est oblique puis descendant verticalement au bout de quelques décimètres, et de galeries latérales horizontales au fond desquelles sont enfouies les chambres larvaires (c.-à-d. les cellules) où les femelles apportent du pollen. Elles mélangent alors celuici avec du nectar pour former un pain, puis pondent un œuf par-dessus avant de fermer la cellule à l'aide d'un fin matériau de terre. Après éclosion, la larve se nourrit de ce pollen durant 10 à 15 jours pendant lesquels elle se développe rapidement (**Fig. 7A**). Quand tout le pollen a été consommé, la larve hiverne sans tisser de cocon pour devenir une nymphe l'année suivante (Pouvreau & Loublier 1995) (**Fig. 7B**).

Les mécanismes de l'émergence n'ont pas encore été étudiés chez les Melittidae s.l. Cependant, comme la plupart des autres abeilles spécialisées, elles ont probablement besoin d'un chevauchement minimal entre leur période de vol et la floraison de leur(s) plante(s)hôte(s) (Thorp 1979, 2000 ; Danforth 1999 ; Minckley *et al.* 2000). La période de collecte du pollen doit également être suffisamment longue pour produire des cellules de couvain.

Parmi les *Dasypoda*, seul le comportement d'accouplement de *D. hirtipes* a été décrit (Ayasse *et al.* 2001). Les mâles et les femelles s'accouplent exclusivement sur leurs planteshôtes spécifiques, les Asteraceae Cichorioideae (Bergmark *et al.* 1984 ; Pouvreau & Loublier 1995 ; Vereecken *et al.* 2006). Bergmark *et al.* (1984) ont souligné que l'attractivité d'une femelle vis-à-vis des mâles chez *D. hirtipes* est guidée par de multiples facteurs tels que la couleur de l'inflorescence, la présence de *scopae* chez la femelle, le parfum de celle-ci ainsi que celui des « fleurs de rendez-vous ».

Les Dasypodaidae sont grégaires et associées à des sols sablonneux. Les femelles nichent dans des habitats tels que les dunes intérieures, les côtes sablonneuses, les drifts ou les plaines limoneuses inondables (Stage 1966 ; Rozen 1974). De plus, chez les *Dasypoda*, les femelles bâtissent des centaines à des milliers de nids agrégés. Les tunnels et les cellules sont disposés en séries linéaires, lisses et perméables à l'eau, mais les murs sont plus solides que le substrat. (Saunders 1908 ; Maruyama 1953 ; Blagovestchenskaya 1963 ; Lind 1968 ; Radchenko 1987 ; Pouvreau & Loublier 1995 ; Chmurzynsky *et al.* 1998 ; Celary 2002 ; Vereecken *et al.* 2006). Notons que *D. hirtipes* peut être parasitée par un diptère, *Miltogramma oestraceum* (Diptera, Sarcophagidae), qui pond ses œufs dans les cellules larvaires de son hôte entre deux voyages de récolte, ou encore des abeilles-coucous du genre *Nomada* (Apidae, Nomadinae) ou *Epeolus variegatus* (Apidae, Epeolini) (Vereecken *et al.* 2006).

#### **1.4.2.** Choix floraux

Les abeilles partagent des adaptations morphologiques et comportementales pour se nourrir du pollen et du nectar des fleurs (Linsley 1958 ; Thorp 1979, 2000 ; Eickwort & Ginsberg 1980 ; Michener 2000). Le fait d'avoir recours aux ressources florales implique des interactions abeille-fleur qui permettent l'étude du mutualisme animal-plante, de la spécialisation et de l'évolution du changement d'hôte. Comme de nombreux groupes d'insectes phytophages (Jaenike 1990), les abeilles présentent des variations dans l'utilisation des plantes-hôtes ainsi que dans l'étendue de celles-ci. Tandis que beaucoup d'espèces d'abeilles présentent une spécificité florale, en visitant seulement un nombre restreint de taxons de plantes adaptées et disponibles dans toute leur zone (c.-à-d. monolectisme ou oligolectisme), d'autres affichent un large spectre d'hôtes pour le pollen (c.-à-d. mesolectisme ou polylectisme).

Pour classifier l'étendue des plantes-hôtes chez les abeilles, Roberston (1925) a décrit trois catégories: *monolectisme* (pour les abeilles butinant sur une seule espèce de plante\*, c.-à-d. les abeilles extrêmement spécialistes), *oligolectisme* (pour les abeilles butinant sur une famille de plantes\*, c.-à-d. les abeilles spécialistes), et *polylectisme* (pour les abeilles butinant sur plusieurs familles de plantes\*, c.-à-d. les abeilles généralistes). Par la suite, Rasmont (1988) a proposé le terme *mesolectisme* pour une étendue d'hôtes moyenne.

Seules quelques études ont examiné le modèle de l'évolution des choix floraux des abeilles spécialistes en utilisant des phylogénies au niveau spécifique (Müller 1996 ; Sipes & Wolf 2001 ; Michez *et al.* 2004b ; Sipes & Tepedino 2005 ; Larkin *et al.* 2008 ; Sedivy *et al.* 2008, 2012). Ces études ont généralement indiqué que les associations de plantes-hôtes sont maintenues sur de multiples événements de spéciation, ce qui suggère que le changement d'hôte n'est pas toujours associé à la spéciation. Mais que lorsque les changements d'hôtes se produisent, ils se réalisent sur des familles de plantes-hôtes sans lien phylogénétique.

<sup>\*</sup> Le butinage s'entend ici comme la visite de la plante pour son pollen, car l'abeille peut fréquenter d'autres taxons pour ses besoins glucidiques en nectar, que ne produit pas la fleur qui l'approvisionne en pollen.

En comparaison avec la plupart des autres familles d'abeilles, les Melittidae s.l. comportent une forte proportion d'espèces spécialistes (Michez *et al.* 2008). La spécialisation en pollen, ou oligolectisme (tel que défini par Cane & Sipes 2006), a été déduite à partir des données de collecte sur les plantes-hôtes et/ou de l'analyse détaillée des pelotes de pollen scopales (Westrich 1990 ; Michez *et al.* 2008). La spécialisation alimentaire implique à la fois des adaptations comportementales et parfois morphologiques à la collecte, la manipulation et le transport des ressources florales, comme le pollen et les huiles florales (Steiner & Whitehead 1991 ; Michez *et al.* 2008). Bien que les préférences alimentaires soient limitées, l'évolution de cette association insecte-plante semble impliquer des changements entre les plantes-hôtes sans lien phylogénétique (Michez *et al.* 2008), ce qui suggère que la morphologie florale ou la chimie, plutôt que la phylogénie des plantes-hôtes, peut conduire au changement d'hôte.

La plupart des Dasypodaidae sont spécialisées sur les fleurs dont le pollen est facilement accessible comme celles des Aizoaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Campanulaceae, Cistaceae ou Dipsacaceae. Seules quelques espèces de *Dasypoda* et *Hesperapis* semblent polylectiques (Michez *et al.* 2004b).

L'écologie des *Dasypoda*, et plus particulièrement leurs choix floraux, est peu connue, mais toutes les espèces étudiées semblent associées aux familles de plantes actinomorphes (c.à-d. les fleurs à symétrie radiaire) (Michez *et al.* 2008) (**Voir Tableau 1**). Les *Dasypoda s.str*. ainsi que les *D. visnaga* butinent exclusivement sur les Asteraceae alors que les femelles de *Megadasypoda* sont spécialisées sur les Dipsacaceae. Les femelles de *Microdasypoda* et *Heterodasypoda* sont caractérisées par un spectre d'hôtes plus large même si elles sont fortement associées à la famille des Cistaceae. Quatre espèces (*D. albimana, D. cingulata, D. crassicornis, D. morotei*) semblent être polylectiques, avec une forte préférence pour les Cistaceae (Müller 1996). Une cinquième espèce (*D. pyrotrichia*) apparaît strictement oligolectique sur les Cistaceae, mais l'échantillon est trop petit pour conclure véritablement sur ses préférences d'hôte. De nombreuses alternatives plantes-hôtes ont été enregistrées pour les espèces polylectiques de *Microdasypoda* et *Heterodasypoda*. Par exemple, *D. crassicornis* visite au moins sept familles de plantes différentes (Asteraceae, Brassicaceae, Cistaceae, Géraniaceae, Linaceae, Ranunculaceae et Rosaceae). Tableau 1 : Systématique, distribution et choix floraux des taxons étudiés (d'après la littérature). (1)
Maruyama 1953. (2) Michez 2002a. (3) Michez *et al.* 2003. (4) Michez *et al.* 2004b. (5) Michez *et al.* 2008. (6)
Pesenko 1995. (7) Scheuchl 1996. (7) Michez & Pauly 2012.

Sous-genres	Espèces	Sexe	Distribution	Choix floraux
Dasypoda (Dasypoda) Latreille	Dasypoda albipila Spinola 1838	♀ <b>&amp;</b> ♂	Péninsule arabe	Asteraceae (5)
	Dasypoda chinensis Wu 1978	-	Chine	-
	Dasypoda cockerelli Yasumatsu 1935	-	Chine	Asteraceae (5)
	Dasypoda dusmeti Quilis 1928	♀&♂	Méditerranée occidentale	Asteraceae (4;5)
	Dasypoda gusenleitneri Michez 2004	8	Jordanie	-
	Dasypoda hirtipes (Fabricius 1793)	₽&♂	Paléarctique	Asteraceae (2;5)
	Dasypoda japonica Cockerell 1911	₽ <b>&amp;</b> ∂	Japon	Asteraceae (1;4;5)
	Dasypoda litigator Baker 2002	-	Iran	-
	Dasypoda maura Pérez 1895	₽&♂	Maroc	Asteraceae (4 ; 5)
	Dasypoda oraniensis Pérez 1895	₽&♂	Maghreb	Asteraceae (5)
	Dasypoda pyriformis Radoszkowski 1887	₽&♂	Méditerranée orientale	Asteraceae (5)
	Dasypoda riftensis Michez & Pauly 2012	₽&∂	Ethiopie	Asteraceae (7)
	Dasypoda sichuanensis Wu 2000	-	Chine	-
	Dasypoda sinuata Pérez 1895	₽&♂	Afrique du Nord	Asteraceae (4;5)
	Dasypoda syriensis Michez 2004	8	Syrie	-
	Dasypoda tubera Warncke 1973	₽&♂	Anatolie et Syrie	Asteraceae (5)
	Dasypoda warnckei Michez 2004	₽&♂	Anatolie	Asteraceae (5)
Dasypoda (Megadasypoda) Michez	Dasypoda argentata Panzer 1809	₽ <b>&amp;</b> ∂	Europe	Dipsacaceae (7;4;5)
	Dasypoda braccata Eversmann 1852	₽&♂	Région pontique	Dipsacaceae (7;4;5)
	Dasypoda frieseana Schletterer 1890	₽&♂	Péninsule balkanique	Dipsacaceae (5)
	Dasypoda intermedia Michez 2005	ð	Iran	-
	Dasypoda longigena Schletterer 1890	♀&♂	Anatolie	Asteraceae (5)
	Dasypoda patinyi Michez 2002	♀&♂	Anatolie et Syrie	-
	Dasypoda spinigera Kohl 1905	₽&♂	Méditerranée orientale	Dipsacaceae (6;4;5)
	Dasypoda suripes (Christ 1791)	₽&♂	Europe orientale	Dipsacaceae (7;4;5)
	Dasypoda toroki Michez 2004	♀&♂	Israël et Syrie	Asteraceae (4) & Dipsacaceae (5)
	Dasypoda visnaga (Rossi 1790)	♀&♂	Méditerranée	Asteraceae (4;5)
Dasypoda (Microdasypoda) Michez	Dasypoda brevicornis Pérez 1895	♀ & ♂	Maghreb	-
	Dasypoda cingulata Erichson 1835	₽&♂	Méditerranée occidentale	Malvaceae (4) & Cistaceae (5)
	Dasypoda crassicornis Friese 1896	₽&♂	Méditerranée occidentale	Asteraceae (4) & Cistaceae (5)
	Dasypoda iberica Warncke 1973	8	Espagne	-
Dasypoda (Heterodasypoda) Michez	Dasypoda albimana Pérez 1905	♀ <b>&amp;</b> ♂	Méditerranée occidentale	Rosaceae (3) & Cistaceae (5)
	Dasypoda morotei Quilis 1928	₽&♂	Espagne	Cistaceae (4;5)
	Dasypoda pyrotrichia Förster 1855	₽&♂	Méditerranée	Cistaceae (4;5)

## 1.5 **Objectifs**

L'étude de la famille des Dasypodaidae est cruciale pour comprendre l'apparition et le début de la diversification des abeilles. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce mémoire, dont le but principal est de proposer une révision exhaustive du genre *Dasypoda*.

Par rapport aux études précédentes, nous inclurons un plus grand nombre de taxons, les dernières espèces décrites et des données moléculaires robustes.

Par ailleurs, nous étudierons pour la première fois la variabilité de la forme des ailes au sein de ce genre.

Les questions suivantes seront abordées :

- Quelles sont les relations phylogénétiques entre les espèces de Dasypoda ?
- Quelle est l'origine géographique du genre ?
- Quel est le choix floral ancestral du genre ?
- La similitude dans la forme des ailes est-elle un bon critère systématique ?

# 2. Matériel et méthodes

# 2.1. Phylogénie moléculaire

## 2.1.1. Matériel biologique

Tout d'abord, nous avons considéré toutes les espèces de *Dasypoda* dont les spécimens suffisamment récents (c.à.d. moins de dix ans) étaient disponibles pour les extractions d'ADN, ou dont les séquences étaient directement accessibles sur Genbank. Un total de 34 spécimens furent utilisés lors de cette analyse, parmi lesquels se retrouvent 27 espèces de *Dasypoda* et sept espèces de Melittidae s.l. comportant deux cellules sub-marginales, afin d'être cohérent avec l'étude de morphométrie géométrique (voir ci-après).

Les taxons utilisés comme groupes de comparaison sont :

- Samba spinosa Eardley 2010, Dasypodaini, Dasypodaidae ;
- Capicola aliciae Cockerell 1932, Hesperapini, Dasypodaidae ;
- Hesperapis fulvipes Crawford 1917, Hesperapini, Dasypodaidae ;
- Eremaphanta iranica Schwammberger 1971, Hesperapini, Dasypodaidae ;
- Afrodasypoda plumipes (Friese 1912), Macropidini, Melittidae s. str.;
- Macropis ussuriana (Popov 1936), Macropidini, Melittidae s. str. ;
- Promelitta alboclypeata (Friese, 1900), Macropidini, Melittidae s. str..

Tous les individus nouvellement analysés proviennent des collections du Laboratoire de Zoologie de l'Université de Mons. Les nouvelles séquences seront soumises ultérieurement sur Genbank.

Le jeu de données étudié est résumé dans le Tableau 2.

### Thayse W. – Révision des abeilles du genre Dasypoda : Phylogénie, biogéographie et choix floraux – 2013

**Tableau 2.** Jeu de données utilisé pour la phylogénie moléculaire. Les codes correspondent à la référence des séquences dans Genbank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank). NS = Nouvelle séquence.

	Tomor	Acro-	Origine &	<b>C</b>	200	CAD	COL	EE 1 a	N-IZ	0	D-1 II
		nyme	date	Sexe	285			$EF-1\alpha$	NaK	Opsine	POLI
	Dasypoda albimana	Dalbm	Algérie, 2010	ð	NS	NS	NS	NS		NS	NS
	Dasypoda albipila	Dalbp	Israël, 2010	ð	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Dasypoda argentata	Dara	France 2002		AY654	DQ067	NS	AY585	EF646	DQ116	AY945
		Daig	Trance, 2002	-	EF594	101		EF594	EF646	EF594	EF599
	Dasypoda braccata	Dbra	Italie, 2006	8	357	NS		333	419	382	280
	Dasypoda brevicornis	Dbre	Algérie, 2008	8	NS	NS		NS	NS	NS	NS
	Dasypoda chinensis	Dchi	Chine, 2006	8	NS		NS			NS	
	Dasypoda cingulata	Dcin	Espagne, 2004	40	NS	NS			NS	NS	NS
	Dasypoda crassicornis	Dcra	France, 2008	5	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Dasypoda dusmeti	Ddus	France, 2006	03	EF594 355	NS	NS			EF594 380	
	Dasypoda frieseana	DC:			EF594	NS	NS	EF594	EF646	EF594	EF599
	51 5	Dfri	Grece, 2006	-	361			337	423 EF646	385 DO116	283
	Dasypoda hirtipes	Dhir	France, 2002	8	NS	NS	NS	NS	416	681	NS
	Dasypoda iberica	Dibe	Espagne, 2010	8	NS	NS	NS	NS		NS	NS
SC	Dasypoda japonica	Djap	Japon, 2009	8	NS	NS	NS				NS
roul	Dasypoda maura	Dmau	Algérie, 2008	9	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ing	Dasypoda mixta	Dmix	Turquie, 2007	8	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Dasypoda morotei	Dmor	Espagne, 2010	8	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Dasypoda oraniensis	Dora	Maroc, 2009	8	EF594 356	NS	NS	EF594 332	EF646 417	EF594 381	EF599 279
	Dasypoda pyriformis	Dpyri	Grèce, 2006	8	NS	NS	NS	NS	EF646 422	NS	NS
	Dasypoda pyrotrichia	Dpyro	France, 2007	8	EF594 359	NS	NS	NS	EF646 421	NS	NS
	Dasypoda riftensis	Drif	Ethiopie, 2011	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Dasypoda sinuata	Dsin	Maroc, 2008	03	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Dasvpoda spinigera	Dspi	Turquie, 2006		EF594	NS		EF594	EF646	EF594	EF599
				-	362 EE504			338 EE504	424	386	284
	Dasypoda suripes	Dsur	Grèce, 2006	-	363	NS	NS	339	425		NS
	Dasypoda toroki	Dtor	Israël, 2010	03	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Dasypoda tubera	Dtub	Turquie, 2001	03		NS					
	Dasypoda visnaga	Dvis	France, 2002	-	AY654 520	DQ067 163	NS	AY585 150	EF646 420	EF646 420	AY945 114
	Dasypoda warnckei	Dwar	Turquie, 2005	03		NS	NS				
	Samba spinosa	Sspi	Afrique du Sud, 2009	8	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Macropis ussuriana	Muss	Russie, 2010	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
sdr	Capicola aliciae	Cali	Afrique du Sud, 2008	S.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
utgro	Eremaphanta iranica	Eira	Oman, 2008	S	GU936 605		NS	GU936 598	NS	NS	NS
0	Promelitta alboclypeata	Palb	Maroc, 2006	8	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Afrodasypoda plumipes	Aplu	Afrique du Sud, 2008	8	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Hesperapis fulvipes	Hful	USA, 2005	S	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

### 2.1.2. Acquisition des données

Les séquences proviennent de quatre origines différentes. Un cinquième des séquences vient directement de Genbank. Environ un quart des données a été séquencé au préalable au Département d'Entomologie de l'Université de Cornell à Ithaca (USA) en 2009. De même, un autre quart des données provient d'un précédent séquençage au Centre de Biologie et de Gestion des Populations (CBGP) situé à Montpellier (France) en 2011.

Enfin, 32 nouvelles séquences ont été extraites, amplifiées et séquencées dans le cadre de ce mémoire. Ne seront détaillées ci-après que les manipulations réalisées pour obtenir ces nouvelles séquences.

Le jeu de données final est constitué de 34 spécimens et de 208 séquences, formant une matrice de 6345 bp. Il est à noter que peu de séquences concernant *Dasypoda chinensis*, *D. japonica*, *D. tubera* et *D. warnckei* sont à notre disposition. L'information phylogénétique de ces espèces sera donc plus incertaine, étant donné qu'elles auront des données manquantes par rapport aux autres espèces.

### 2.1.2.1 Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN s'est effectuée au sein du Laboratoire de Zoologie, en utilisant le kit d'extraction Invisorb® Spin Tissue Mini Kit (STRATEC Molecular GmbH, Berlin, Allemagne). Le protocole utilisé est le suivant :

- Placer au moins 24h avant l'extraction une patte du spécimen dans un eppendorf avec de l'éthanol 95%.
- Poser la patte sur du papier Tork puis l'écraser pour éliminer l'alcool de la patte. Répéter 3X.
- 3. Placer la patte traitée dans un eppendorf et le jeter dans l'azote liquide.
- 4. Broyer la patte au pilon.
- 5. Ajouter 400 µl de Lysis Buffer G + 40 µl de Protéinase K. Vortexer.
- 6. Incuber à 52°C durant une nuit.
- 7. Vortexer puis centrifuger à vitesse maximum 2 min.
- 8. Transférer dans un nouvel eppendorf (non fourni).
- 9. Ajouter 200µl de Binding Buffer T.
- 10. Placer la suspension sur les colonnes. Incuber 1min.
- 11. Centrifuger (12.000 rpm, 2 min).
- 12. Jeter le filtrat. Replacer la colonne.
- 13. Ajouter 550µl de Wash Buffer.
- 14. Centrifuger (12.000 rpm, 1 min).
- 15. Jeter le filtrat. Replacer la colonne.
- 16. Répéter de 13 à 15.
- 17. Centrifuger « à vide » (12.000 rpm, 2 min).
- 18. Placer la colonne dans un nouvel eppendorf (fourni).
- 19. Ajouter 100µl d'Elution Buffer D. Incuber 3 min.
- 20. Centrifuger (9.500 rpm, 2min).
- 21. Jeter la colonne, récupérer le tube contenant l'ADN et le conserver au congélateur.

### 2.1.2.2 Amplification et séquençage des gènes

Les amplifications ont été réalisées au sein du Laboratoire de Biologie des Organismes Marins et Biomimétisme (BOMB), tandis que le séquençage a été effectué par la firme StarSEQ®GmbH, située en Allemagne.

Nous avons analysé sept gènes, parmi lesquels cinq gènes nucléaires caractérisés par un faible taux de mutation (Danforth *et al.* 2006a, b ; Michez *et al.* 2009a). Ces gènes ont déjà été utilisés lors d'études phylogénétiques chez les abeilles à différents niveaux, notamment au niveau du genre (Kawakita *et al.* 2004 ; Michel-Salzat *et al.* 2004 ; Hines *et al.* 2006 ; Larkin *et al.* 2006 ; Danforth *et al.* 2006a, b ; Michez *et al.* 2009a) et des espèces (Estoup *et al.* 1996 ; Pedersen 2002 ; Cameron *et al.* 2007 ; Michez *et al.* 2010 ; Lecocq *et al.* 2011). Les gènes analysés sont les suivants :

<u>28S</u> : Il s'agit du gène nucléaire codant pour la sous-unité ribosomiale. Il est impliqué dans la traduction des protéines mais ne code donc pas pour une protéine. La partie séquencée correspond à la région D2-D3 du gène, comportant 652 bp [dont 169 bp PIC (*parsimony-informative characters*)], ayant déjà utilisée dans des études phylogénétiques de Melittidae s.l. (Danforth *et al.* 2006a, b ; Michez *et al.* 2009a, 2010).

<u>CAD</u>: Il s'agit du gène nucléaire codant pour la protéine à domaine ATPasique conservé, qui intervient dans la biosynthèse de la pyrimidine. Le fragment analysé correspond à une région de 910 pb (dont 259 bp PIC) couvrant deux exons et un intron, et dont les amorces ont été mises au point par Danforth *et al.* (2006a) et déjà utilisées par Praz *et al.* (2008) et Michez *et al.* (2010).

<u>COI</u>: Il s'agit d'un gène mitochondrial codant pour la sous-unité 1 de la cytochrome oxydase. Cette protéine transmembranaire située dans la mitochondrie a un rôle clé dans la chaîne respiratoire de transport d'électrons. Le fragment analysé est constitué de 705 bp (dont 338 bp PIC) et les amorces utilisées ont été élaborées d'après Former *et al.* (1994).

<u>EF-1a</u>: Il s'agit d'un gène nucléaire codant pour le facteur d'élongation 1 alpha. Il fait partie d'un ensemble de protéines impliquées dans la translation du ribosome sur l'ARNm pendant la traduction. Chez les abeilles, il existe deux copies du gène EF-1a (Danforth & Ji 1998) mais seul un fragment de la copie F2, constitué de 1528 bp (dont 338 bp PIC) et comportant deux introns, a été considérée dans cette étude. Cette partie du gène a déjà servi dans des études antérieures (Danforth *et al.* 2006b ; Michez *et al.* 2009a, 2010)

#### Thayse W. - Révision des abeilles du genre Dasypoda : Phylogénie, biogéographie et choix floraux - 2013

<u>NaK</u>: Il s'agit du gène nucléaire codant pour la pompe sodium-potassium ou Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase. Elle joue un rôle dans le maintien du potentiel de repos des cellules musculaires et nerveuses, et permet le rétablissement de l'équilibre initial après un potentiel d'action. Le fragment de 1050 bp (dont 295 bp PIC) inclus dans cette analyse provient de la région sans intron codant pour la sous-unité alpha de la partie liante de la pompe transmembranaire Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>. Les amorces ont été élaborées d'après Michez *et al.* (2009a).

<u>Opsine :</u> Il s'agit du gène nucléaire codant pour la rhodopsine à longue longueur d'onde (Rh LW). Ce pigment protéique est impliqué dans la phototransduction au niveau de la membrane des cellules photosensibles. La région séquencée ici comporte 596 bp (dont 263 bp PIC) et deux introns, et a déjà été étudiée à plusieurs reprises (Danforth *et al.* 2006b ; Michez *et al.* 2009a, 2010).

<u>Pol II :</u> Il s'agit du gène codant pour les deux grandes sous-unités protéiques de l'ARN polymérase II, qui est impliquée dans la synthèse des ARNm. Ce gène de 904 bp (dont 227 bp PIC) sans intron a été utilisé dans de nombreuses études phylogénétiques, notamment chez les arthropodes, grâce à sa facilité d'amplification et d'alignement due aux nombreuses régions hautement conservées (Danforth *et al.* 2006a, b ; Michez *et al.* 2009a, 2010).

Les amorces utilisées ainsi que les différents paramètres de la PCR proviennent des études de Michez *et al.* (2009a, 2010), Danforth *et al.* (2006a, b) et Former *et al.* (1994).

### <u>28S</u>

Amorces Bel	5' - AGA GAG AGT TCA AGA GTA CGT G - 3'
Mar	5' - TAG TTC ACC ATC TTT CGG GTC CC - 3'
Conditions de la PCR	94°C/3min ; 94 °C/1min; 65 °C/1min; 72 °C/1min. 35 cycles

### <u>CAD</u>

Amorces	apCadfor4	5'- TG	G AAR	GAR	GTB (	GAR '	TAC	GAR	GTG	GTY	CG- 3'
	Ap835rev1am	nel	5'- GC (	CATY	YAC	YTC I	KCC	YAC	GCT	YTT (	CAT- 3
Condition	ns de la PCR	94°C/3	3min ; 94	↓ °C/1	min; 5	58 °C/	1min;	; 72 ° <b>(</b>	C/1mi	n. 35 d	cycles.

### COI

Amorces LCO	5'- GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG-G - 3'
НСО	5'- TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA - 3'
Conditions de la PCR	94°C/3min; 94°C/1min; 48°C/1min30sec; 72°C/1min. 40 cycles.

# <u>EF-1α</u>

Amorces HaF2For1	5'- G GGY AAA GGW TCC TTC AAR TAT GC- 3'
F2rev1	5'- 5'-A ATC AGC AGC ACC TTT AGG TGG- 3'
Conditions de la PCR	94°C/4min; 94°C/1min; 54°C/1min; 72°C/1min30sec; 35 cycles.

# <u>NaK</u>

Amorces Nak	for2 5'- 0	GCS TTC TTC TCB ACS AAC GCC GTY GAR GG - 3'
NaK	rev2 5'- A	ACC TTG ATR CCG GCY GAW CGG CAC TTG GC - 3'
Conditions de	<u>la PCR</u> 94°	C/4min; 94°C/1min; 58°C/1min; 72°C/1min30sec; 35 cycles.

# <u>Opsine</u>

Amorces For3mod	5'- TTC GAY AGA TAC AAC GTR ATC GTN AAR GG - 3'
Revmod	5'- ATA NGG NGT CCA NGC CAT GAA CCA - 3'
Conditions de la PCR	94°C/1min; 94°C/1min; 56°C/1min; 72°C/1min. 35 cycles.

# <u>Pol II</u>

<u>Amorces</u>	Polfor2a	5'- AAY AAR CCV GTY ATG GGT ATT GTR CA - 3'
	Polrev2a	5'- AGR TAN GAR TTC TCR ACG AAT CCT CT - 3'
Condition	s de la PCR	94°C/1min; 94°C/1min; 52°C/1min; 72°C/1min. 35 cycles.

### 2.1.3. Analyses phylogénétiques

Les différentes séquences obtenues ont été examinées et éditées à l'aide du logiciel CodonCode Aligner 3.0. Afin de vérifier que l'ADN séquencé est bien celui des abeilles analysées, une vérification avec BLAST 2.2.20 (Zhang et al. 2000;http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi) a été effectuée pour chaque séquence en la comparant aux séquences disponibles sur Genbank. L'alignement des séquences d'un même gène a été réalisé par le logiciel Mafft ver. 6 (Katoh et al. 2002). Par la suite, cet alignement a été vérifié visuellement, et éventuellement corrigé manuellement, à l'aide du logiciel Mesquite 2.6 (Maddison & Maddison 2007). Les échantillons mal séquencés (pollution, problème de PCR, ...) ont été écartés.

Pour les gènes codants, les exons et introns ont été considérés séparément, de même que la position des bases constituant les codons des exons. En effet, le code génétique est dégénéré de telle manière à ce que le changement de la 3<sup>ème</sup> base d'un codon aboutit souvent au même acide aminé lorsque le peptide est produit. A l'inverse, une modification de la 1<sup>ère</sup> base d'un codon a de fortes chances de parvenir à un codon stop. Tenant compte de ceci, il nous a semblé important de considérer différemment les bases selon leur position au sein d'un codon. Le logiciel MacClade 4.08 (Maddison & Maddison 2000) a permis de trouver la position des bases constituant les codons au sein de chaque exon. Le meilleur modèle de substitution a ensuite été établi pour chaque intron, exon et 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> base de codon de chaque gène à l'aide du logiciel jModelTest 0.1.1 (Posada 2008) qui utilise le critère d'information d'Akaike corrigé (AICc, Hurvich & Tsai 1989), c.à.d. adapté au nombre restreint de séquences analysées.

Le critère d'Akaike permet de mesurer la justesse relative de l'ajustement d'un modèle statistique. En effet, l'AICc donne une mesure relative de l'information perdue lorsqu'un modèle donné est utilisé pour décrire la réalité. Les valeurs d'AICc nous permettent donc de sélectionner le modèle qui correspond le mieux à notre jeu de données.

Pour chaque gène, deux cas ont été considérés : prendre un seul modèle de substitution reprenant l'ensemble du fragment considéré, ou utiliser un modèle de substitution différent s'il s'agit de la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> position du codon au sein de ce gène. Si le fragment de gène analysé comportait plusieurs exons (comme c'est le cas du facteur d'élongation 1- $\alpha$  et de la rhodopsine), un troisième mode de partitionnement a également été établi en attribuant un modèle de substitution à chaque intron et chaque exon pris dans son ensemble.

#### Thayse W. - Révision des abeilles du genre Dasypoda : Phylogénie, biogéographie et choix floraux - 2013

Ainsi, deux à trois matrices de données ont été construites pour chaque gène, selon le mode de partitionnement choisi. Etant donné que le test ILD [*Incongruence Length Difference*, Farris *et al.* 1994)] ne dispose que d'un pouvoir limité pour détecter les incompatibilités causées par des différences dans les topologies des arbres (Barker & Lutzoni 2002 ; Darlu & Lecointre 2002), les topologies des arbres générés par les différents gènes ont été comparées visuellement afin de déterminer si un jeu de données reprenant les gènes combinés pouvait être créé.

Deux matrices globales ont ensuite été établies, chacune comprenant les trois modes de partitionnement : une matrice reprenant l'ensemble des taxons et des sept gènes analysés, et une matrice simplifiée où les taxons qui n'étaient pas représentés par au moins trois gènes sur sept ont été enlevés du jeu de données, de même que les données issues du gène COI (voir plus loin).

De cette manière, 21 jeux de données ont été générés. Chacun d'entre eux a alors été soumis à trois méthodes d'inférence phylogénétique différentes, afin de résoudre au mieux et le plus objectivement possible la phylogénie du genre *Dasypoda*.

Les analyses en maximum de vraisemblance (MV) ont été réalisées à l'aide du logiciel Garli 2.0 (Zwickl 2011), en utilisant les modèles de substitution préalablement obtenus par jModelTest. L'analyse débute par la génération aléatoire d'un arbre et est stoppée lorsque l'indice de vraisemblance reste constant pendant 20.000 générations consécutives. En effet, plus l'indice de vraisemblance est élevé, plus la topologie de l'arbre généré est significative. Chaque analyse a été réitérée indépendamment à cinq reprises, de manière à s'assurer que l'indice de vraisemblance retenu ne correspondait pas à un minimum local. Les valeurs de *bootstrap* de chaque branche ont été obtenues en accomplissant 10.000 réplicas non paramétriques (Felsenstein 1985), en utilisant le critère d'arrêt automatique à 10.000 générations. L'arbre consensus des valeurs de *bootstrap* est calculé par le logiciel PAUP 4.0.b10. (Swofford 2002) en utilisant la règle de la majorité à  $\geq$  50 %. Les topologies d'arbre supportées par des valeurs de *bootstrap* supérieures ou égales à 70 % sont considérées comme robustes (Hillis & Bull 1993).

Le logiciel MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2010) a permis de réaliser les inférences bayésiennes (IB). Les modèles de substitution choisis sont identiques à ceux utilisés pour l'analyse en MV, si ce n'est que les modèles sélectionnés qui ne sont pas implémentés dans MrBayes ont été remplacés par le modèle paramétré le plus proche (Huelsenbeck & Rannala 2004). Le nombre de générations est de 20.000.000. Contrairement au MV, l'analyse a été stoppée manuellement, après s'être assuré de la constance des indices de vraisemblance à travers les générations grâce à un graphique donné par le logiciel Tracer 1.5 (Rambaut & Drummond 2007). Les 4.000.000 premières générations sont alors éliminées (= *burn-in*), les probabilités postérieures sont calculées à partir des arbres restants et un arbre consensus basé uniquement sur les arbres les plus probables est ainsi construit, en suivant la règle de la majorité à  $\geq$  50 %. Les topologies d'arbre supportées par des probabilités postérieures supérieures ou égales à 0,95 sont considérées comme robustes (Wilcox *et al.* 2002).

Enfin, les analyses selon le critère du maximum de parcimonie (MP) ont été exécutées par le programme PAUP 4.0.b10 (Swofford 2002). Les *gaps* sont considérés comme des données manquantes dans les séquences. La recherche heuristique a permis d'obtenir des solutions rapprochées de l'arbre optimal en un temps assez rapide, en utilisant l'échange de branches par bissection - reconnection. Enfin, 10.000 réplicas de l'analyse ont été effectués et les résultats ont été compilés en un arbre consensus. Les topologies d'arbre supportées par des valeurs de *bootstrap* supérieures ou égales à 70 % sont considérées comme robustes (Leaché & Reeder 2002).

Au total, 63 arbres ont été conçus au cours de cette étude, en ne tenant pas compte des réplicas générés par Garli et MrBayes. Tous ont été examinés visuellement via le programme Figtree 1.3.1 (Rambaut 2006) et selon leurs paramètres, essentiellement leur -lnL (*log-likelihood*) afin de vérifier la convergence de leurs topologies.

### 2.1.4. Etude biogéographique

### 2.1.4.1. Origine des données

L'aire géographique de chaque espèce a été définie d'après la littérature. Les références consultées lors de cette étude sont Warncke (1973), Michener (1981), Pauly *et al.* (2001), Michez & Patiny (2002), Michez *et al.* (2004 a,b), Michez (2005) et Michez & Pauly (2012), Patiny & Michez (2007).

### 2.1.4.2. Acquisition des données et analyses

Les distributions d'espèces ont été classées en six régions:

1) Europe de l'Ouest ;

2) Europe de l'Est (y compris la Grèce) ;

3) Est Paléarctique ;

4) Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Egypte, Soudan, Mauritanie, Mali, Niger, Tchad) ;

5) Afrique sub-saharienne;

6) Proche et Moyen Orient (Arabie saoudite, Emirats arabes unis, Koweït, Oman, Qatar, Yémen, Bahreïn, Irak, Jordanie, Syrie, Israël).

Le récapitulatif de la distribution des différentes espèces ainsi que leur répartition selon les six régions est présenté dans le **Tableau 3**.

Pour recréer l'histoire biogéographique du genre *Dasypoda*, nous avons utilisé l'analyse S-DIVA (*Statistical Dispersal - Vicariance*) incluse dans le programme RASP 2.0 (Yu *et al.* 2011). Cette méthode reconstruit la répartition géographique ancestrale d'un clade en optimisant une matrice de coûts à trois dimensions. Les distributions ancestrales optimales sont alors celles qui minimisent le nombre d'évènements d'extinction et de dispersion implicites (Ronquist 1997). L'arbre le plus parcimonieux issu de l'analyse MV sur les gènes combinés a été utilisé comme support pour RASP.

### Thayse W. – Révision des abeilles du genre Dasypoda : Phylogénie, biogéographie et choix floraux – 2013

Sous-genres	Espèces	Distribution	<b>Répartition selon les régions</b>
Dasypoda s. str.	D. albipila	Péninsule arabe	Proche et Moyen Orient
	D. chinensis	Chine	Paléarctique Est
	D. cockerelli	Chine	Paléarctique Est
	D. dusmeti	Méditerranée occidentale	Europe de l'Ouest, Afrique du Nord
	D. gusenleitneri	Jordanie	Proche et Moyen Orient
	D. hirtipes	Paléarctique	Europe de l'Ouest, Europe de l'Est, Paléarctique Est, Afrique du Nord
	D. japonica	Japon	Paléarctique Est
	D. litigator	Iran	Paléarctique Est
	D. maura	Maroc	Afrique du Nord
	D. oraniensis	Maghreb	Afrique du Nord
	D. pyriformis	Méditerranée orientale	Europe de l'Est, Est Paléarctique
	D. riftensis	Ethiopie	Afrique sub-saharienne
	D. sichuanensis	Chine	Paléarctique Est
	D. sinuata	Afrique du Nord	Afrique du Nord
	D. syriensis	Syrie	Proche et Moyen Orient
	D. tubera	Anatolie et Syrie	Proche et Moyen Orient, Paléarctique Est
	D. warnckei	Anatolie	Paléarctique Est
Megadasypoda	D. argentata	Europe	Europe de l'Ouest, Europe de l'Est, Paléarctique Est
	D. braccata	Région pontique	Europe de l'Est, Paléarctique Est
	D. frieseana	Péninsule balkanique	Europe de l'Est
	D. intermedia	Iran	Paléarctique Est
	D. longigena	Anatolie	Paléarctique Est
	D. patinyi	Anatolie et Syrie	Proche et Moyen Orient, Paléarctique Est
	D. spinigera	Méditerranée orientale	Europe de l'Est, Paléarctique Est
	D. suripes	Europe orientale	Europe de l'Ouest, Europe de l'Est, Paléarctique Est
	D. toroki	Israël et Syrie	Proche et Moyen Orient
	D. visnaga	Méditerranée	Europe de l'Ouest, Europe de l'Est, Afrique du Nord
Microdasypoda	D. brevicornis	Maghreb	Afrique du Nord
	D. cingulata	Méditerranée occidentale	Europe de l'Ouest, Afrique du Nord
	D. crassicornis	Méditerranée occidentale	Europe de l'Ouest, Afrique du Nord
	D. iberica	Espagne	Europe de l'Ouest
Heterodasypoda	D. albimana	Méditerranée occidentale	Europe de l'Ouest, Afrique du Nord
	D. morotei	Espagne	Europe de l'Ouest
	D. pyrotrichia	Méditerranée	Europe de l'Ouest, Europe de l'Est, Paléarctique Est, Proche et Moyen Orient

Tableau 3. Récapitulatif des aires de distribution des Dasypoda.

### 2.1.5. Etude des choix floraux

### 2.1.5.1. Origine des données

Toutes les données utilisées pour l'étude des choix floraux proviennent d'un précédent travail (Michez *et al.* 2008) portant sur les observations de terrain de 144 espèces de Melittidae s.l., lui-même basé sur des données provenant de spécimens épinglés, de la littérature et d'autres bases de données. Dans le cadre de cette étude, il s'agit de considérer uniquement les données se rapportant aux 34 espèces de *Dasypoda* observées lors des études suivantes (voir **Tableau 4**) : Michez *et al.* (2004 a,b), Michez *et al.* (2008), Michez & Pauly (2012) et Michez & Müller (données non publiées).

Lors de ce même travail (Michez *et al.* 2008), des études palynologiques ont également été menées sur le pollen contenu dans les *scopae* des *Dasypoda* (Michez *et al.* 2008 ; Michez & Muller, données non publiées ; Michez & Timmermann, données non publiées), ce qui a permis la distinction entre les plantes-hôtes servant pour le nectar et celles réservées pour la collecte de pollen.

### 2.1.5.2. Acquisition des données et analyses

Les plantes-hôtes ancestrales ont été déduites en utilisant le critère de parcimonie dans Mesquite 2.75 (Maddison & Maddison 2011). La famille des plantes-hôtes principales (voir **Tableau 4**) a été codée comme état de caractère pour chaque espèce.

L'arbre le plus parcimonieux issu de l'analyse MV sur les gènes combinés a été utilisé comme support pour le *character mapping*.

#### Thayse W. – Révision des abeilles du genre Dasypoda : Phylogénie, biogéographie et choix floraux – 2013

**Tableau 4.** Plantes hôtes des *Dasypoda*. Données de terrain = nombre de spécimens femelles avec des données de terrain ; nombre de localités échantillonnées. Données palynologiques = nombre de spécimens femelles avec des données palynologiques ; nombre de localités échantillonnées. Entre parenthèses, pourcentage de la famille principale de plantes hôtes. \*=Données provenant de Michez & Pauly (2012).

Taxon	Données de terrain	Plantes hôtes principales	Données palynologiques	Plantes hôtes principales	
D. (Dasypoda) albipila	-	-	15;8	Asteraceae (88%)	
D. (D.) cockerelli	-	-	1;1	Asteraceae (100%)	
D. (D.) dusmeti	8;2	Asteraceae (100%)	31;23	Asteraceae (97%)	
D. (D.) hirtipes	152;52	Asteraceae (100%)	66;47	Asteraceae (99%)	
D. (D.) japonica	?	Asteraceae (100%)	2;2	Asteraceae (100%)	
D. (D.) maura	4;1	Asteraceae (100%)	21;8	Asteraceae (99%)	
D. (D.) oraniensis	1;1	Asteraceae (100%)	17;7	Asteraceae (94%)	
D. (D.) pyriformis	-	-	27;16	Asteraceae (100%)	
D. (D.) riftensis	5;1*	Asteraceae (100%) *	-	-	
D. (D.) sinuata	1;1	Asteraceae (100%)	19;15	Asteraceae (95%)	
D. (D.) tubera	-	-	17;11	Asteraceae (100%)	
D. (D.) warnckei	-	-	4;3	Asteraceae (100%)	
D. (Megadasypoda)	101.11			D: (1000()	
argentata	191;41	Dipsacaceae (100%)	54;40	Dipsacaceae (100%)	
D. (M.) braccata	258;18	Dipsacaceae (100%)	38;19	Dipsacaceae (99%)	
D. (M.) frieseana	-	-	4;3	Dipsacaceae (91%)	
D. (M.) longigena	-	-	3;3	Dipsacaceae (100%)	
D. (M.) spinigera	-	-	44;25	Dipsacaceae (100%)	
D. (M.) suripes	3;3	Dipsacaceae (100%)	32;24	Dipsacaceae (100%)	
D. (M.) toroki	1;1	Asteraceae (100%)	1;1	Dipsacaceae (100%)	
D. (M.) visnaga	22;5	Asteraceae (100%)	49;34	Asteraceae (100%)	
D.					
(Heterodasypoda) albimana	3.1	$\mathbf{R}_{0}$	17.9	Cistaceae (13%)	
D (H) morotei	3.1	Cistaceae (100%)	25:12	Cistaceae (88%)	
D (H) pyrotrichia	5.3	Cistaceae (100%)	11:4	Cistaceae (100%)	
D. (Microdasypoda)	5,5		11,7		
cingulata	9;2	Malvaceae (55%)	30;20	Cistaceae (67%)	
D. (Mi) crassicornis	44;23	Asteraceae (36%)	30;22	Cistaceae (81%)	

### 2.2. Forme des ailes

### 2.2.1. Matériel biologique

Lors de la collecte des spécimens utilisés pour l'analyse phylogénétique, il est apparu que toutes les espèces de *Dasypoda* décrites à ce jour ne pourraient pas figurer dans notre jeu de données, et ce pour de multiples raisons (faible disponibilité des spécimens, individus trop âgés pour permettre l'extraction, ...).

C'est pourquoi une méthode alternative a été envisagée afin de résoudre les affinités taxonomiques des *Dasypoda*. Cette méthode consiste en l'analyse de la forme des ailes par morphométrie géométrique. Elle a déjà été utilisée lors d'études visant à discriminer des espèces (Aytekin *et al.* 2007, sur *Bombus*), des sous-espèces (Tofilski *et al.* 2008, sur *Apis mellifera*) ou encore deux populations (Quezada-Euan *et al.* 2007, sur *Melipona beecheii*).

Pour évaluer la diversité et les similarités des formes d'aile de *Dasypoda*, nous avons considéré tous les spécimens à notre disposition, avec un maximum de 20 spécimens par espèce. Ainsi, un total de 203 spécimens a été utilisé lors de cette analyse, parmi lesquels se retrouvent 21 espèces de *Dasypoda* et sept genres de Melittidae s.l. actuels comportant deux cellules cubitales au niveau des ailes antérieures, qui ont été sélectionnés comme groupe de comparaison.

Afin d'éliminer un éventuel effet dû au dimorphisme sexuel (Pretorius 2005), les spécimens étudiés sont toutes des individus femelles.

Les taxons utilisés comme groupes de comparaison sont :

- Samba atra (Michener 1981) et S. griseonigra (Michener 1981), Dasypodaini, Dasypodaidae;
- *Capicola braunsiana* (Friese, 1911), *C. nigerrima* Cockerell, 1932 et *C. flavitarsis* Friese, 1912, Hesperapini, Dasypodaidae ;
- Hesperapis sphaeralceae (Stage 1966), Hesperapini, Dasypodaidae ;
- Eremaphanta dispar (Morawitz 1892), Hesperapini, Dasypodaidae ;
- Afrodasypoda plumipes (Friese 1912), Macropidini, Melittidae s. str.;
- *Macropis europaea* Warncke 1973, *M. fulvipes* (Fabricius 1804), *M. nuda* (Provancher 1882) et *M. ussuriana* (Popov 1936), Macropidini, Melittidae s. str. ;
- Promelitta alboclypeata (Friese, 1900), Macropidini, Melittidae s. str..

### Thayse W. – Révision des abeilles du genre Dasypoda : Phylogénie, biogéographie et choix floraux – 2013

La classification et le nombre de spécimens considérés par espèce est repris dans le **Tableau 5**. La grande majorité des individus analysés proviennent des collections du Laboratoire de Zoologie de l'Université de Mons. Six individus nous ont été prêtés par J. Ortiz-Sanchez de l'Université d'Almeria (Espagne) et sept individus par O. Ozbek de l'Université d'Atatürk (Erzurum, Turquie).

<b>Tableau 5.</b> Jeu de données utilisé pour les	analyses de	morphométrie	géométrique.
---	-------------	--------------	--------------

	Famille	Tribu	Genre	Sous-genre	Espèce	Nombre
	Dasypodaidae	Dasypodaini	Dasypoda	Dasypoda s. str.	albipila	6
				. –	dusmeti	3
					hirtipes	20
					japonica	1
					maura	7
					oraniensis	1
					pyriformis	1
êt					sinuata	1
térí					tubera	3
'int					warnckei	1
b s	Dasypodaidae	Dasypodaini	Dasypoda	Heterodasypoda	albimana	1
èce					morotei	1
spè					pyrotrichia	11
E	Dasypodaidae	Dasypodaini	Dasypoda	Megadasypoda	argentata	20
					braccata	20
					spinigera	7
					suripes	1
					visnaga	8
	Dasypodaidae	Dasypodaini	Dasypoda	Microdasypoda	cingulata	3
					crassicornis	20
				<u> </u>	iberica	1
	Dasypodaidae	Dasypodaini *	Samba	-	atra	5
				-	griseonigra	5
son	Dasypodaidae	Hesperapini *	Capicola	-	braunsiana	2
rais				-	flavitarsis	2
pai				-	nigerrima	6
OM	Dasypodaidae	Hesperapini *	Hesperapis	-	sphaeralceae	15
e c	Dasypodaidae	Hesperapini *	Eremaphanta	-	dispar	4
s dı	Melittidae s. str.	Macropidini *	Afrodasypoda	-	plumipes	2
pe	Melittidae s. str.	Macropidini	Macropis	-	europaea	5
tou				-	fulvipes	5
G				-	nuda	5
				-	ussuriana	5
	Melittidae s. str.	Macropidini *	Promelitta	-	alboclypeata	5

\* D'après Michez et al. (2009a)

### 2.2.2 Acquisition des données

La méthode utilisée dans cette analyse est issue de l'étude d'Aytekin et al. (2007).

Les différentes manipulations réalisées lors de l'étude de la forme de l'aile peuvent se décliner en trois phases : la photographie de l'aile, le positionnement des *landmarks* et leur superimposition.

#### 2.2.2.1 Photographie de l'aile

Chez les spécimens provenant des collections du Laboratoire de Zoologie de l'Université de Mons, l'aile antérieure gauche a été coupée au niveau des *tegulae*, puis mise entre lame et lamelle afin de l'aplanir et d'éviter un biais dû à sa déformation (voir **Figure 8**). Les spécimens qui nous ont été prêtés ont tout d'abord été ramollis pendant trois jours dans un cristallisoir contenant du thymol, puis les ailes ont été directement placées entre lame et lamelle, sans être détachées du corps.

L'appareil utilisé pour les photographies des genres *Dasypoda*, *Capicola, Eremaphanta* et *Hesperapis* est un microscope numérique portable de la marque Celestron, modèle 44302-A. Les photos des genres *Samba*, *Promelitta*, *Afrodasypoda* et *Macropis* ont été réalisées dans le cadre d'une étude précédente (Bouzin 2011). Ces clichés ont été réalisés au moyen d'un binoculaire Olympus SZH10 couplé à un boîtier Nikon D200.



**Figure 8.** Photographie de l'aile antérieure gauche de *Dasypoda argentata* placée entre lame et lamelle (Photo de W. Thayse).

#### Thayse W. – Révision des abeilles du genre Dasypoda : Phylogénie, biogéographie et choix floraux – 2013

Etant donné que les différentes manipulations n'ont pas été effectuées sur le même appareil ni par le même expérimentateur, un soin particulier a été apporté à la mise à l'échelle de chacune des photos. Celle-ci a été réalisée à l'aide d'un papier millimétré placé à côté de l'aile, lors de la digitalisation des photographies (qui elle a bel et bien été effectuée par une seule et même personne).

Les clichés ont ensuite été compilés dans des fichiers tps à l'aide du logiciel tpsUtil (Rohlf 2010), répartis selon trois groupes : les spécimens de *Dasypoda* regroupés par espèce, puis par sous-genre, et enfin les *Dasypoda* combinées aux sept groupes de comparaison.

### 2.2.2.2 Positionnement des landmarks et superimposition

Nous avons sélectionné 15 points de repère, dénommés ci-après *landmarks*, qui ont été placés sur chaque aile antérieure gauche via le logiciel tpsDig2 (Rohlf 2006a). Ceux-ci correspondent à des points anatomiques homologues, fournissant une représentation adéquate de la morphologie, et qui puissent être identifiés de façon répétée et fiable (Zelditch *et al.* 2004). Les nervures et leurs intersections étant des structures homologues au sein des abeilles (Ross 1936), c'est au niveau des intersections des nervures alaires qu'ont été positionnés ces 15 *landmarks* (détaillés dans le **Tableau 6**, voir **Figure 9**).



**Figure 9.** Positionnement des 15 *landmarks* sur l'aile antérieure gauche d'une abeille [d'après une illustration d'aile d'*Eomacropis glaesaria*, (Bouzin, 2011)].

Landmark	Définition
1	Point interne le plus à gauche de la cellule marginale
2	Point interne le plus à droite de la cellule marginale
3	Intersection de la nervure marginale avec la première nervure cubitale transverse
4	Intersection de la nervure marginale avec la deuxième nervure cubitale transverse
5	Intersection de la nervure cubitale avec la deuxième nervure cubitale transverse
6	Intersection de la nervure cubitale avec la deuxième nervure récurrente
7	Intersection de la nervure cubitale avec la première nervure récurrente
8	Intersection de la nervure cubitale avec la première nervure cubitale transverse
9	Intersection de la nervure cubitale avec la nervure basale
10	Intersection de la nervure basale avec la nervure discoïdale
11	Intersection de la nervure discoïdale avec la première nervure récurrente
12	Intersection de la nervure discoïdale avec la nervure subdiscoïdale
13	Intersection de la nervure subdiscoïdale avec la deuxième nervure récurrente
14	Point interne inférieur gauche de la deuxième nervure discoïdale
15	Intersection de la nervure anale avec la nervure médiane transverse

Tableau 6. Définition et typologie des landmarks de l'aile antérieure gauche

Une fois les *landmarks* positionnés, la première étape avant toute analyse consiste en une superimposition des coordonnées cartésiennes des *landmarks* selon la méthode procruste GLS (*generalized least squares*) (Bookstein 1991). Par rapport aux autres types de superimposition, la superimposition procruste minimise les différences entre les configurations des *landmarks* en diminuant au maximum la distance procruste, qui vaut la somme des carrés des distances entre les *landmarks* correspondants. Concrètement, cette méthode correspond à une translation et une rotation des *landmarks*, ainsi qu'à une mise à l'échelle de la forme produite par ces *landmarks*, ce qui permet d'éliminer toutes les variations non-liées à la forme de l'aile. Cette superimposition procruste est effectuée par le logiciel IMP CoordGen6h (Sheets 2003).
### 2.2.3. Analyses statistiques

### 2.2.3.1. Analyses exploratoires et supervisées

Une *relative warps analysis* (RWA) a été effectuée par le logiciel IMP PCAGen6p (Sheets 2005), afin d'observer la similarité des différents groupes dans la forme de l'aile. La RWA est une variante particulière de l'analyse en composantes principales (PCA), mais contrairement à cette dernière qui représente les variations individuelles des coordonnées des *landmarks*, la RWA représente un changement global de la forme construite par les coordonnées alignées des *landmarks* (c.-à-d. après superimposition procruste) (Michez *et al.* 2009b). Cette analyse tient donc compte de la relation entre les différents *landmarks* qui définissent la forme de l'aile.

Ensuite, une CVA (*Canonical Variable Analysis*) a également été effectuée grâce au programme IMP CVAgen60 (Sheets 2001). Cette analyse discriminante compare la variance intergroupe à la variance intragroupe au sein d'individus répartis dans des groupes définis *a priori*. Dans notre cas, l'*a priori* de groupement est l'espèce, le sous-genre ou le genre de chaque spécimen, déterminés au préalable par des personnes compétentes. Cette analyse permet de déterminer la valeur diagnostique de la forme des ailes, que ce soit au sein des *Dasypoda* ou en utilisant les sept groupes de comparaison.

Tout comme la PCA, cette analyse crée un nouveau système de coordonnées et détermine les scores de tous les individus sur cet axe. La principale différence est que la CVA utilise les schémas de variation intra-groupe pour mettre à l'échelle les axes du nouveau système de coordonnées. Cela signifie qu'en plus d'effectuer une rotation du système de coordonnées originel, les distances dans ce nouveau référentiel ne sont pas les mêmes que dans le système de coordonnées originel.

Par ailleurs, le logiciel IMP CVAgen60 (Sheets 2001) a également permis d'effectuer des tests d'assignement des spécimens, afin d'évaluer la capacité de classification des différents individus à partir d'un *a priori* de groupement. Ce test consiste à retirer un individu du jeu de données, puis à lui réassigner un groupe d'appartenance déterminé statistiquement par la CVA sur base de la variance des spécimens. En réalité, cette méthode détermine la probabilité qu'un spécimen soit plus proche de la moyenne du groupe auquel il a été attribué *a priori* que de la moyenne d'un autre groupe, grâce au calcul des distances de Mahalanobis. Ce test permet de vérifier que les groupes déterminés *a priori* sont bel et bien distincts, et permet également de déterminer la valeur diagnostique de la forme des ailes.

### 2.2.3.2. Méthodes de groupement

Diverses méthodes de groupement ont été employées pour reconstruire les relations phénétiques entre les différents groupes basées sur les similarités de la forme des ailes, et ont été réalisés par le logiciel R 2.11.1 (*The R Foundation for Statistical Computing* 2010). Les données alignées ont été préalablement obtenues via tps-RelW (Rohlf 2006b). La matrice de distance est calculée par la distance procruste et les groupements entre individus sont réalisés par la méthode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*), des liens complets et du NJ (*Neighbour Joining*). Ces trois méthodes de construction d'arbre ont été réalisées afin d'évaluer de manière qualitative le signal phylogénétique de la forme des ailes.

L'algorithme UPGMA associe les deux éléments séparés par la plus faible distance et les remplace par un élément consensus. Ensuite, les nouvelles distances entre cet élément consensus et les éléments restants dans la matrice sont recalculées en utilisant la moyenne des deux objets nouvellement assemblés. Les deux éléments les plus proches sont à nouveau groupés, et ainsi de suite jusqu'à l'obtention d'un arbre complet.

Dans le cas des liens complets, la distance entre deux groupements est calculée comme la distance maximum entre deux éléments faisant parties de deux groupes différents. Ainsi, à chaque étape, un individu (ou un groupe d'individus) va être associé au groupe dont l'individu le plus éloigné est néanmoins le plus proche de notre individu par rapport aux autres groupes.

Enfin, le *Neighbour Joining* est également une méthode d'élaboration d'arbres, mais celle-ci présente la particularité de tenir compte des différences de vitesse d'évolution entre les différentes branches de l'arbre. Elle assemble les différents groupes de façon à réduire au maximum la longueur de l'arbre, et fournit au final un arbre non enraciné (à la différence des deux méthodes précédentes).

D'autres dendrogrammes ont été réalisés sur les différentes espèces de *Dasypoda*, cette fois non plus selon les distances procrustes mais bien au sein d'un espace discriminant, sur base des distances de Mahalanobis. La méthode de groupement utilisée est également le NJ, qui est en principe la méthode la plus fiable dans le cas d'analyses phénotypiques (Demeulemeester *et al.* 2012).

## 2.2.3.3. Analyses de corrélation

Un test de Mantel a ensuite été employé afin de comparer les arbres obtenus par les méthodes morphologiques et moléculaires. Cette méthode statistique évalue la corrélation entre deux matrices de distance (dans notre cas la matrice de distance morphologique et la matrice de distance génétique), représentée par la *p-value* (Mantel 1967).

Les distances génétiques ont été calculées en utilisant le MCL (*Maximum Composite Likelihood*) implémenté dans Mega 4.0.1 (Tamura *et al.* 2007). Les distances morphologiques ont été précédemment calculées au cours des analyses de groupement.

Outre le test de Mantel, dont la limitation a été soulignée par Lengendre et Fortin (2010), une db-RDA (*Distance-Based ReDundancy Analysis*) a également été réalisée (Legendre & Anderson 1999). Cette méthode est plus puissante que le test de Mantel pour évaluer la relation entre deux matrices, mais elle nécessite quelques analyses supplémentaires.

Une PCoA (*Principal COordinates Analysis*) a donc été utilisée au préalable pour transformer les matrices de distance en données utilisables pour la db-RDA, en calculant la décomposition des coordonnées principales des matrices de distance génétique et morphologique. Ensuite, afin de vérifier la fiabilité des résultats obtenus par la db-RDA, un test de permutation (*ANOVA like*) a été réalisé au moyen de 1.000 permutations. La valeur du « R<sup>2</sup> » obtenue démontre la précision de l'ajustement du modèle aux données analysées. La valeur de « F » donne quant à elle une idée générale de la « qualité » du modèle linéaire.

Afin de comparer efficacement les matrices génétiques et morphologiques, celles-ci ont été modifiées au préalable afin de ne reprendre que les 19 espèces de *Dasypoda* présentes à la fois dans deux analyses (moléculaires et morphologiques).

# 3. Résultats

# 3.1. Phylogénie moléculaire

# 3.1.1. Résultats phylogénétiques

Les modèles de substitution choisis pour chaque système de partitionnement et pour chaque gène sont représentés dans le **Tableau 7**. Le jeu de données reprenant l'ensemble des données (taxons et gènes) résulte de la concaténation des sept gènes étudiés, et les modèles de substitution de cette matrice correspondent aux différents modèles de chaque gène mis bout à bout lors de l'encodage des arbres.

			<u>285</u>	<u>CAD</u>	<u>COI</u>	<u>EF</u>	<u>NaK</u>	<u>Opsin</u>	<u>Pol II</u>
Gène entier			GTR+G	TPM3+G	GTR+I+G	TIM3+I+G	TrN+I+G	TVM+I+G	TIM3+G
Exon /									
intron	Exon 1					TIM+I+G		GTR+G	
	Intron 1					TPM1uf+G		TVM+I+G	
	Exon 2					TrN+I+G		K80+G	
	Intron 2					TrN+G		TPM3uf+G	
	Exon 3					Tmef		TPM3uf+I+G	
Position									
codon	Exon 1	Base1		TIM2+I+G	TIM2+G	TIM+I+G	TrN+I+G	TPM2+I	TIM3+I+G
		Base2		TIM2+G	GTR+I	F81+I	TVM+I+G	TPM1uf	НКҮ
		Base3		TrN+I+G	TIM2+I+G	TPM3uf+G	TVM+G	TIM+I	TPM2uf+G
	Exon 2	Base1				TrN+I		TPM+G	
		Base2				JC+I		TVM+I+G	
		Base3				TPM1uf+I+G		TVM+G	
	Exon3	Base1				TIM3+I+G		K80+I	
		Base2				K80		TPM2uf	
		Base3				НКҮ+І		TIM3ef	

 Tableau 7. Modèles de substitution utilisés lors de l'analyse des différents gènes.

De manière générale, les topologies des réplicas d'une même méthode d'inférence (IB et MV), ainsi que les arbres générés selon les trois systèmes de partitionnement (gène entier, exon/intron et position des codons) pour chaque gène convergent vers la même topologie. Cela se justifie par les valeurs très proches des -lnL, qui décrivent quantitativement la topologie des arbres, mais également visuellement. Les clades impliquant des spécimens dont la position diffère d'une topologie d'arbre à l'autre ne sont généralement pas bien supportés.

De même, les analyses MV et IB effectuées sur chaque gène indépendamment présentent des topologies très semblables, au moins pour les clades bien soutenus. Par contre, les arbres générés par MP présentent généralement une topologie différente, contenant plus d'incertitudes et dont les valeurs de *bootstrap* sont globalement moins élevées que dans les méthodes probabilistes. Les arbres inférés à partir de chaque gène indépendamment sont repris dans les annexes (**Annexes 1-7**).

Concernant les gènes pris séparément, tous ne permettent pas une bonne résolution de la phylogénie entre espèces. Pour les arbres générés à partir des séquences de COI, six espèces de *Dasypoda* sont incluses dans les *outgroups* et *Eremaphanta iranica* a été associée aux *Dasypoda* (voir **Annexe 3**). Le gène COI présente une topologie fortement incohérente par rapport aux autres gènes, et n'a dès lors pas été pris en compte dans la construction de l'arbre global.

Les gènes qui génèrent des arbres comportant le plus de supports de branches robustes sont l'EF-1 $\alpha$  et l'opsine (voir **Annexes 4 et 6**). Ces gènes sont également les seuls du jeu de données à comporter des introns, ce qui augmente la probabilité de variation des nucléotides et permet dès lors une meilleure résolution de la phylogénie des *Dasypoda*. A l'inverse, le CAD et le 28S présentent des arbres avec des branches faiblement supportées (voir **Annexes 1 et 2**). Cela peut s'expliquer par le fait que ces gènes sont très conservés et ne présentent donc pas suffisamment de variabilité pour permettre une séparation claire des différents sousgenres et espèces de *Dasypoda*.

En parcourant l'ensemble des arbres générés pour chaque gène, deux groupes sont récurrents et fortement supportés : d'une part les espèces de *Microdasypoda* et *Heterodasypoda*, d'autre part les *Megadasypoda* et *Dasypoda s. str*. Dans le premier cas, les deux sous-groupes sont toujours bien distincts, tandis que les *Megadasypoda* et *Dasypoda s. str*. s'entremêlent sans séparation apparente, excepté pour les gènes EF-1 $\alpha$ , NaK et Pol II où les *Megadasypoda* semblent former un groupe séparé (si l'on excepte *D. visnaga* au vu de sa position extrêmement variable).

La **Figure 10** présente l'arbre issu des analyses MV reprenant l'ensemble des gènes combinés (excepté le COI), et dont les espèces pour lesquelles les données moléculaires étaient manquantes pour au moins trois gènes sur sept ont été éliminées. Ce faisant, les espèces *D. chinensis*, *D. tubera* et *D. warnckei* ne figurent pas dans cet arbre simplifié, mais leur position phylogénétique peut néanmoins être examinée selon les gènes séparés.



**Figure 10.** Arbre enraciné basé sur six gènes (28S, CAD, NaK, Ef-1 $\alpha$ , Opsine, Pol II). Les valeurs situées en haut à gauche de la branche représentent les valeurs de *bootstrap* générées par le maximum de vraisemblance. Les valeurs situées en haut à droite de la branche sont les probabilités postérieures générées par l'inférence bayésienne. Les valeurs entières situées sous la branche représentent les valeurs de *bootstrap* générées par le maximum de parcimonie. Nombres bleus = valeurs supérieures au seuil de robustesse généralement admis pour chacune des méthodes d'inférence. Nombres rouges = groupements non significatifs pour chacune des méthodes d'inférence. Rectangle rouge = *outgroups* ; rectangle jaune = *Microdasypoda* ; rectangle vert = *Heterodasypoda* ; rectangle bleu = *Megadasypoda* ; rectangle gris = *Dasypoda s. str*.

L'ensemble des *Dasypoda* forme un groupe monophylétique bien supporté dans les trois analyses.

Le premier groupe à se distinguer est l'ensemble formé par les *Microdasypoda* et les *Heterodasypoda*, supporté par des valeurs très élevées de *bootstrap* et de probabilités postérieures. Bien que les *Microdasypoda* forment un groupe monophylétique bien supporté par les trois analyses, les *Heterodasypoda* sont rendues paraphylétiques par *D. albimana*.

Le deuxième groupe visible est formé par les *Megadasypoda* et les *Dasypoda s. str.*, également supporté par des valeurs robustes. Les *Megadasypoda* sont rendues paraphylétiques par *D. visnaga*. A l'inverse, les *Dasypoda s. str.* forment un groupe monophylétique bien supporté, bien que les relations entre ses membres soient moins bien définies. En effet, les associations des espèces sont variables d'une analyse à l'autre, et les clades formés sont supportés par de faibles valeurs.

La phylogénie inférée est compatible avec certains aspects de la classification actuelle. Au sein des *outgroups*, les espèces sont associées selon leur tribu (telle qu'établie par Michez *et al.* 2009a) et les groupes formés sont tous supportés par des valeurs élevées de supports de branche (voir **Figure 10**). De même, certaines espèces sont étroitement associées (et bien supportées) dans plusieurs analyses, comme *D. hirtipes* et *D. japonica* (*Dasypoda s. str.*), *D. suripes* et *D. frieseana* (*Megadasypoda*), *D. morotei* et *D. pyrotrichia* (*Heterodasypoda*) ou encore *D. crassicornis* et *D. brevicornis* (*Microdasypoda*).

#### 3.1.2. Etude biogéographique

Les résultats de l'étude biogéographique sont présentés à la **Figure 11**. Les *Microdasypoda* et *Heterodasypoda* comportent des espèces rencontrées dans l'ouest du bassin méditerranéen. L'origine de ces deux groupes se situe très probablement en Europe de l'Ouest (voir nœud 53).

L'origine géographique des espèces de *Dasypoda s. str.* et des *Megadasypoda* est plus variée. Les *Megadasypoda* ont une distribution centrée sur le pourtour est du bassin méditerranéen. L'origine de ce groupe semble être à la jointure de l'Europe de l'Est, du Proche Orient et de l'Asie (voir nœud 45).

Enfin, les *Dasypoda s. str.* se retrouvent principalement sur le côté ouest du bassin méditerranéen. Notons que des espèces issues de régions éloignées (comme *D. albipila*, *D. japonica*, *D. riftensis* et *D. pyriformis*) sont phylogénétiquement proches d'espèces européennes et nord-africaines. L'origine des *Dasypoda s. str.* est très difficile à déduire (voir nœud 39).

Finalement, les résultats suggèrent une origine centrée sur le bassin méditerranéen pour le genre *Dasypoda*, avec une probabilité plus grande pour l'Europe de l'Ouest (voir nœud 54). Les espèces arabes, asiatiques, sub-sahariennes et d'Europe plus continentale dériveraient donc de ces espèces méditerranéennes. Il y aurait donc eu un évènement majeur de dispersion de l'ouest de la Méditerranée vers l'est, qui aurait débouché sur les espèces du genre *Megadasypoda*. Deux migrations auraient également eu lieu parmi les *Dasypoda s. str.*, au départ de l'ouest de la Méditerranée et qui auraient donné naissance d'une part aux espèces sub-sahariennes (ici *D. riftensis*) et d'autre part aux espèces asiatiques (seule *D. japonica* est représentée dans notre jeu de données).



Figure 11. Arbre issu des analyses MV reprenant l'ensemble des gènes étudiés, auquel les données biogéographiques ont été ajoutées.

#### 3.1.3. Etude des choix floraux

#### Les résultats du character mapping sont présentés à la Figure 12.

Les *Dasypoda s. str.* sont toutes oligolectiques, spécialisées sur Asteraceae. Les Asteraceae correspondent donc au choix floral ancestral. Les *Megadasypoda* sont également oligolectiques, mais spécialisée sur Dipsacaceae (mis à part *D. toroki* qui visite également les Asteraceae). Le choix floral ancestral de ce groupe est donc les Dipsacaceae. Par conséquent, il y a eu un changement alimentaire des Asteraceae vers les Dipsacaceae entre l'ancêtre commun des deux sous-genres et les *Megadasypoda* actuels.

Les *Heterodasypoda* butinent sur les Cistaceae, bien que *D. albimana* visite également les Rosaceae. Les Cistaceae correspondent donc au choix floral ancestral. Malgré les données manquantes concernant les choix floraux de certaines espèces de *Microdasypoda*, les deux espèces dont nous disposons visitent toutes deux les Cistaceae. L'ancêtre commun de ces deux sous-genres semble dès lors privilégier les Cistaceae. Il y aurait donc eu un changement alimentaire qui aurait débouché vers des espèces polylectiques dans les deux sous-genres actuels, bien qu'étroitement associées aux Cistaceae.

Le choix floral des *Dasypoda* se porte sur des familles présentant des fleurs actinomorphes. La plante-hôte constituant la ressource florale ancestrale du genre n'est pas résolue (voir **Figure 12**) car le changement plante-hôte qui s'est effectué entre les *Dasypoda s. str* et *Megadasypoda* d'une part, et les *Microdasypoda* et *Heterodasypoda* d'autre part, s'est produit entre des plantes qui sont phylogénétiquement indépendantes et morphologiquement différentes. En effet, les espèces des sous-genres *Dasypoda s. str.* et *Megadasypoda* pollinisent des fleurs présentant des inflorescences en capitule, tandis que les espèces des sous-genres *Heterodasypoda* et *Microdasypoda* visitent préférentiellement des fleurs simples. De même, l'analyse n'a pas réussi à favoriser un comportement généraliste par rapport à un régime spécialisé sur Asteraceae ou Cistaceae pour l'ancêtre du genre *Dasypoda*.



**Figure 12.** *Character mapping* des choix floraux des *Dasypoda* sur base du critère de parcimonie, portés par l'arbre issu des analyses MV reprenant l'ensemble des gènes étudiés.

## 3.2. Forme des ailes

#### 3.2.1. Relative Warp Analysis



Figure 13. Représentation des deux premiers axes de la RWA menée sur les *Dasypoda* et les groupes de comparaison.

Les individus sont regroupés par genre. Le premier axe ne permet de séparer que trois groupes : les *Dasypoda*, les *Macropis* et les autres genres, tandis que le deuxième axe ne permet de distinguer clairement que les *Eremaphanta*. Parmi les genres analysés, remarquons toutefois que les tribus ne sont pas distinctes. Les individus appartenant aux genres *Samba* (Dasypodaini), *Hesperapis* (Hesperapini), *Promelitta* (Macropidini), *Afrodasypoda* (Macropidini) et *Capicola* (Hesperapini) forment un groupe dont il est relativement difficile de distinguer correctement les différents genres. Seules les *Macropis* (Macropidini) et les *Eremaphanta* (Hesperapini) forment des ensembles distincts et isolés. A cela s'ajoute le fait que le groupe le plus proche des *Dasypoda* semble être le genre *Samba*, ce qui est cohérent avec les études phylogénétiques.

En ce qui concerne les *Dasypoda*, les sous-genres *Megadasypoda* et *Heterodasypoda* sont bien séparés le long de l'axe deux. Cependant, il y a beaucoup de chevauchements entre les différents sous-genres. Les deux premiers axes de la RWA expliquent 75% de la variance totale du jeu de données.



Figure 14. Représentation du premier et du troisième axe de la RWA menée sur les *Dasypoda* et les groupes de comparaison.

Les *Dasypoda* sont également bien séparées des groupes de comparaison. Ces derniers semblent mieux séparés les uns des autres par l'axe trois. De plus, l'axe trois semble mieux respecter les tribus. En effet, suivant cet axe apparaissent les *Samba* (Dasypodaini), puis les membres de la tribu des Macropidini et enfin la tribu des Hesperapini, bien distincte des précédentes. A l'inverse, les *Dasypoda* sont associées sans distinction de sous-genre. De même qu'à la **Figure 13**, quelques individus s'écartent assez fortement du centre du groupe des *Dasypoda* selon les deux axes. Les axes un et trois de la RWA expliquent 60% de la variance totale du jeu de données.

Sur les deux représentations, le premier axe permet de distinguer le genre *Dasypoda* des groupes de comparaison. Afin de se rendre compte si la RWA permet également de distinguer les sous-genres, l'analyse a été à nouveau lancée en ne tenant compte cette fois que des quatre sous-genres de *Dasypoda*. Les résultats obtenus sont illustrés dans la **Figure 15**.



Figure 15. Représentation des deux premiers axes de la RWA menée sur les sous-genres de Dasypoda.

Les sous-genres ne sont séparés que par le premier axe. Les *Megadasypoda* sont relativement bien isolées des autres sous-genres. De plus, quelques espèces se distinguent de l'ensemble des individus : *D. spinigera* et *D. suripes* en bas à gauche, et *D. braccata* et *D. argentata* au centre de la **Figure 15**.

Les *Heterodasypoda* semblent se regrouper vers la droite du premier axe. Néanmoins, certains individus sont très proches des *Microdasypoda* ou des *Dasypoda s. str.* et ne permettent pas d'obtenir une distinction claire de ce sous-genre. Quant aux *Microdasypoda* et aux *Dasypoda s.str.*, la grande majorité des individus se chevauchent. Par conséquent, il est impossible de distinguer clairement ces deux sous-genres. Les deux premiers axes de la RWA expliquent 66% de la variance totale du jeu de données.

La représentation du premier et du troisième axe de la RWA, non illustrée ici, ne permet pas une meilleure séparation des quatre sous-genres. Le troisième axe quant à lui n'explique que 7% de la variance totale du jeu de données.

## 3.2.2 Canonical Variable Analysis

En partant du même jeu de données après superimposition procruste, une CVA a également été réalisée. La **Figure 16** reprend les résultats de la comparaison des sous-genres de *Dasypoda* avec les genres proches.



**Figure 16.** Représentation des deux premiers axes de la CVA menée sur les *Dasypoda* et les groupes de comparaison.

Cette fois encore, les individus d'un même genre sont clairement regroupés et les *Dasypoda* sont bien séparées des groupes de comparaison. Le premier axe permet la séparation des *Dasypoda*, *Afrodasypoda* et *Macropis* des autres genres. Le deuxième axe permet la séparation des *Hesperapis* et *Promelitta*. Comme dans la RWA, les tribus ne sont pas groupées et il y a de nombreux chevauchements au niveau des genres.

En ce qui concerne les *Dasypoda*, les deux axes ne permettent pas de distinguer les quatre sous-genres. En effet, ceux-ci sont très proches les uns des autres et de nombreux individus se chevauchent. Les deux premiers axes de la CVA expliquent 63% de la variance totale du jeu de données.





**Figure 17.** Représentation du premier et du troisième axe de la CVA menée sur les *Dasypoda* et les groupes de comparaison.

Sur la **Figure 17**, les groupes de comparaison semblent mieux séparés par le troisième axe, et celui-ci semble mieux respecter les tribus. En effet, suivant cet axe apparaissent les *Eremaphanta, Capicola, Hesperapis* (Hesperapini), puis les *Promelitta* (Macropidini) et enfin les *Samba* (Dasypodaini). A l'inverse, les *Dasypoda* sont associées sans distinction de sousgenre, tout comme dans la **Figure 16**. Les axes un et trois de la CVA expliquent 62% de la variance totale du jeu de données.

Sur les deux représentations, le premier axe permet de distinguer correctement le genre *Dasypoda* des groupes de comparaison. Pour s'assurer que la CVA permet également de distinguer les sous-genres, l'analyse a été à nouveau lancée en ne tenant compte cette fois-ci que des quatre sous-genres de *Dasypoda*. Les résultats obtenus sont illustrés dans la **Figure 18**.





Figure 18. Représentation des deux premiers axes de la CVA menée sur les sous-genres de Dasypoda.

A nouveau, les *Megadasypoda* sont bien isolées des autres groupes, de même que les *Dasypoda s.str*. Cette fois, ce sont les *Heterodasypoda* et les *Microdasypoda* qui se chevauchent à tel point qu'il est impossible de distinguer clairement ces deux sous-genres. Cependant, il n'y a que 15% de la variance totale du jeu de données qui est expliquée par les deux premiers axes, ce qui est très peu.





Figure 19. Représentation du premier et du troisième axe de la CVA menée sur les sous-genres de Dasypoda.

Le troisième axe permet une nette différenciation des *Microdasypoda* et *Heterodasypoda*, qui étaient inextricablement mêlés à la **Figure 18**.

Enfin, afin de voir si la CVA permet la différenciation des espèces, l'analyse a été lancée en codant séparément toutes les espèces de *Dasypoda*. Les résultats sont présentés dans la **Figure 20**.





Figure 20. Représentation des deux premiers axes de la CVA menée sur les espèces de Dasypoda.

Toutes les espèces ne sont pas bien séparées et de nombreux individus se chevauchent. En revanche, certaines espèces forment des groupes bien distincts. Certaines espèces se retrouvent dans la RWA, telles que *D. spinigera*, *D. suripes*, *D. braccata* et *D. argentata*, tandis que certaines espèces n'ont pu être isolées qu'avec la CVA, comme *D. maura*, *D. cingulata*, *D. crassicornis* et *D. visnaga*. Certaines espèces semblent donc être plus caractéristiques que d'autres, néanmoins l'analyse discriminante ne permet pas de séparer toutes les espèces.

## 3.2.3. Tests d'assignement

Afin de voir si la forme des ailes est bel et bien un critère diagnostique pour les *Dasypoda*, des tests d'assignement ont été réalisés pour chaque méthode de groupement. En ce qui concerne l'ensemble des *Dasypoda* et des groupes de comparaison, tous les individus ont été réattribués au groupe auquel ils étaient censés appartenir (voir **Annexe 8**). Cette constatation est également valable pour les quatre sous-genres de *Dasypoda* pris à part (voir **Tableau 8**).

**Tableau 8.** Résultats du test d'assignement correspondant à l'analyse discriminante des quatre sous-genres

 de Dasypoda avec un a priori de groupement basé sur le sous-genre.

Groupe déterminé	Groupe déterminé par CVA						
a priori	Dasypoda s. str.	Megadasypoda	Heterodasypoda	Microdasypoda			
Dasypoda s. str.	46	0	0	0			
Megadasypoda	0	61	0	0			
Heterodasypoda	0	0	13	0			
Microdasypoda	0	0	0	27			

Enfin, il y a eu une seule erreur d'affectation d'espèce sur les 148 spécimens de *Dasypoda* analysés (voir **Annexe 9**) : un individu ayant été identifié comme *D. hirtipes* a été attribué au groupe des *D. dusmeti* par le test d'assignement. Après vérification morphologique, le spécimen douteux était bel et bien un *D. hirtipes*. Cet individu présentait visiblement une plus forte variation de l'aile antérieure gauche.

#### 3.2.4. Dendrogrammes

Afin de voir si les similarités dans la forme des ailes constituent un bon signal phylogénétique, des groupements phénétiques ont été établis sur base de cet unique critère. Comme pour les analyses précédentes, celle-ci a d'abord été effectuée en incluant les groupes de comparaison, afin de pouvoir comparer le dendrogramme obtenu à l'arbre de phylogénie moléculaire, puis en ne considérant que les quatre sous-genres de *Dasypoda*, et enfin au niveau spécifique de ces dernières. Etant donné que seule la méthode du NJ a généré des topologies de dendrogrammes pertinentes, seules celles-ci seront présentées ci-dessous (**Figures 21, 22, 23**), les autres se trouvant en annexe (**Annexe 10a, b et c**).



**Figure 21.** Dendrogrammes générés par la méthode *neighbour joining* incluant les *Dasypoda* et les groupes de comparaison. A gauche : les arbres générés selon les distances procrustes. A droite : les arbres générés selon les distances de Mahalanobis.

Les deux dendrogrammes ne présentent pas la même topologie, bien que tous deux regroupent les quatre sous-genres de *Dasypoda*. La principale différence survient au niveau du placement des *Samba*. En effet, l'analyse discriminante les place parmi les autres groupes de comparaison, tandis que l'analyse procruste les regroupe avec les *Dasypoda* de manière à reformer la tribu des *Dasypodaini* au complet. Par ailleurs, les groupes formés par l'analyse procruste correspondent aux trois tribus taxonomiques, c.à.d. les Dasypodaini, les Hesperapini et les Macropidini, ce qui n'est pas le cas pour le second dendrogramme.

Une autre différence réside dans la position des *Eremaphanta*, qui sont regroupées avec les *Capicola* dans l'analyse procruste mais pas dans l'analyse discriminante.



**Figure 22.** Dendrogrammes générés par la méthode *neighbour joining* incluant les sous-genres de *Dasypoda*. A gauche : les arbres générés selon les distances procrustes. A droite : les arbres générés selon les distances de Mahalanobis.

Les deux dendrogrammes ont la même topologie. Il y a une nette séparation entre les *Megadasypoda* et *Dasypoda s. str.* d'une part, et les *Microdasypoda* et *Heterodasypoda* d'autre part.



**Figure 23.** Dendrogrammes générés par la méthode *neighbour joining* incluant les espèces de *Dasypoda*. A gauche : les arbres générés selon les distances procrustes. A droite : les arbres générés selon les distances de Mahalanobis.

Aucun des dendrogrammes ne respecte les groupements des quatre sous-genres. Les trois espèces du sous-genre *Heterodasypoda*, à savoir *D. morotei*, *D. pyrotrichia* et *D. albimana*, sont regroupées dans les deux dendrogrammes, mais *D. cingulata* leur est à chaque fois associée.

A l'exception de *D. visnaga* (qui est associée aux *Dasypoda s. str.* dans les deux analyses), les *Megadasypoda* (c.à.d. *D. braccata*, *D. suripes* et *D. spinigera*) sont bien groupées dans les deux dendrogrammes. Quant aux espèces de *Microdasypoda*, *D. cingulata* est associée aux *Heterodasypoda*, et les deux autres espèces présentes dans le jeu de données (à savoir *D. iberica* et *D. crassicornis*) sont séparées et associées aux *Dasypoda s. str.* 

Quelques espèces sont associées dans les deux analyses, comme *D. albipila* et *D. iberica*, *D. tubera* et *D. pyriformis*, ou encore *D. maura*, *D. sinuata* et *D. oraniensis*. Cependant, les topologies des deux analyses sont clairement différentes.

Sur l'ensemble des dendrogrammes, les *Megadaypoda* se différencient fortement des autres genres (excepté *D. visnaga*), les *Heterodasypoda* sont bien associées mais groupées avec *D. cingulata*, et les *Microdasypoda* sont séparées et réparties parmi les *Dasypoda* s. *str*.

Aucune des deux méthodes de groupement ne permet de retrouver les mêmes associations que lors de la phylogénie moléculaire. Etant donné que la topologie d'arbre la plus vraisemblable a été générée par la méthode du *neighbour joining* selon les distances procrustes, c'est cette matrice de distance morphologique qui sera comparée à la matrice de distance génétique, calculée sur base des distances euclidiennes, dans les analyses suivantes.

## 3.2.5. Comparaison des arbres phylogénétiques et des dendrogrammes

Afin de vérifier les similarités entre les topologies de l'arbre phylogénétique et du dendrogramme généré par la morphométrie géométrique, le signal phylogénétique de la forme alaire a été évalué quantitativement. Les matrices morphologique et génétique ont été préalablement modifiées afin de ne plus contenir que les 19 taxons communs.

La relation entre les deux matrices de distance est représentée par le test de Mantel et la db-RDA dans la **Figure 24**.





La variante du test de Mantel utilisée ici est le test de Monte-Carlo.

```
Observation = 0,1996901
Nbre de réplicats = 999
p-value simulée = 0.099
```

Les résultats du test de Mantel entre les distances génétique et morphologique montrent qu'il n'y a pas de corrélation entre ces deux matrices de distance (*p*-value > 0,05).

```
Répartition de la variance dans la db-RDA
Inertie totale = 0,0022787
Proportion expliquée par l'axe RDA1 = 0,55138
Proportion expliquée par l'axe RDA2 = 0,09716
R^2 = 0,8333045
R^2 ajusté = 0,4999135
```

```
Test de permutation

F = 2,4995

Nbre Perm = 999

Pr (>F) = 0,019
```

L'inertie totale correspond en réalité à la variance exprimée par la totalité des axes. La variance exprimée par les deux premiers axes de la RDA est de 65%. La valeur du R<sup>2</sup> ajusté correspond à la précision de l'ajustement de la droite de régression sur notre jeu de données (voir **Figure 24b**). Elle est positivement corrélée à hauteur de 0,5.

La db-RDA indique une corrélation entre les distances génétique et morphologique (p-value < 0.05).

D'après l'ensemble de ces résultats, il semblerait qu'il y ait bel et bien un signal phylogénétique contenu dans la forme des ailes, bien que celui-ci reste relativement faible : seulement 0,2% de la variation de la relation entre la distance génétique et phénotypique est expliquée par la db-RDA.

# **4. Discussion**

# 4.1. Phylogénie moléculaire

#### 4.1.1. Etude cladistique et implications taxonomiques

Les gènes employés dans cette étude ont déjà été utilisés pour résoudre la phylogénie de plusieurs groupes d'abeilles (Mardulyn & Cameron 1999 ; Cameron & Mardulyn 2001 ; Kawakita *et al.* 2004 ; Michel-Salzat *et al.* 2004 ; Hines *et al.* 2006 ; Danforth *et al.* 2004, 2006a, b ; Larkin *et al.* 2006 ; Pratz *et al.* 2008 ; Michez *et al.* 2009a, 2010). Dans notre cas, les nouveaux gènes par rapport aux études précédentes sont le CAD et le COI, mais ce dernier n'a cependant pas permis d'obtenir une topologie d'arbre satisfaisante. Ce gène est probablement trop variable pour refléter la phylogénie au niveau générique. Cette constatation a déjà été formulée par Cameron *et al.* (2007), qui remarquaient que les gènes mitochondriaux étaient particulièrement utiles pour résoudre les « pointes » du phylogramme (c.-à-d. du sousgenre à l'espèce) mais pas pour les relations intersubgénériques ou intergénériques. Cela peut expliquer pourquoi des *Dasypoda* ont été intégrées aux *outgroups* et inversement.

Sur l'arbre global reprenant l'analyse des six gènes combinés, le premier groupe à se distinguer est l'ensemble formé par les *Microdasypoda* et les *Heterodasypoda*. Ces deux groupements sont identiques à ceux générés par la phylogénie sur base de caractères morphologiques effectuée par Michez *et al.* (2004b) et confirment les résultats préliminaires obtenus par Michez *et al* (2009a) sur base de données moléculaires et morphologiques. Néanmoins, la différence majeure avec ces études précédentes est que *D. albimana* rend les *Heterodasypoda* paraphylétiques.

Le deuxième groupe robuste est formé par les *Megadasypoda* et les *Dasypoda s. str*. Une fois encore, ces deux groupements sont identiques à ceux générés par la phylogénie sur base de caractères morphologiques effectuée par Michez *et al.* (2004b) et confirment les résultats préliminaires obtenus par Michez *et al* (2009a) sur base de données moléculaires et morphologiques. Tout comme dans le cas précédent, la nouveauté ici est que *D. visnaga* rend les *Megadasypoda* paraphylétiques.

De manière globale, il ressort de cette analyse les mêmes sous-groupes que ceux établis par Michez *et al.* (2004b, 2009a), si ce n'est que deux espèces rendent leurs sous-genres respectifs clairement paraphylétiques. Nous proposons donc de ramener le nombre de sousgenres de *Dasypoda* à deux. Selon les règles de taxonomie, il est obligatoire qu'un des sousgenres proposés porte le nom du genre étudié. Ainsi, les deux sous-genres *Megadasypoda* et *Dasypoda s. str.* ne formeraient plus qu'un seul genre dénommé *Dasypoda s. str.* 

En ce qui concerne les *Microdasypoda* et les *Heterodasypoda*, la meilleure suggestion serait que l'appellation *Heterodasypoda* s'étende désormais à l'ensemble des deux groupes. En effet, le terme « Microdasypoda » faisait référence à la petite taille des espèces de ce sousgenre, mais il ne sera plus adapté si des espèces de plus grande taille sont incluses dans ce groupe. A l'inverse, le terme « Heterodasypoda » s'adaptera très bien aux nouvelles espèces qui lui seront adjointes et qui rendront ce groupe encore plus hétéroclite.

L'autre option de classification possible consistait à définir deux sous-genres supplémentaires, l'un pour *D. albimana* et l'autre pour *D. visnaga*. Etant donné que cela impliquait de n'avoir qu'une seule espèce pour ces deux sous-genres, il nous a paru plus pertinent de rassembler des groupes plutôt que d'en créer.

Par ailleurs, les *Microdasypoda* et les *Heterodasypoda* partagent déjà des caractères en commun, notamment le palpe maxillaire de longueur subégale à la galéa, la marge de la galéa comportant des soies sur toute sa longueur, ou encore la ponctuation superficielle et clairsemée de la galéa (Michez et al. 2004a, b). A l'inverse, les *Dasypoda s. str.* et les *Megadasypoda* partagent les caractères suivants : le palpe maxillaire nettement plus court que la galéa, la marge de la galéa glabre sur sa partie basale et la ponctuation de la galéa par des points serrés et profonds (Michez et al. 2004a, b).

Au niveau spécifique, les espèces nouvelles incluses dans ce travail complètent la résolution de la phylogénie des *Dasypoda* proposée par à Michez *et al.* (2009a). Chacune de ces espèces nouvellement analysées est allée rejoindre le sous-genre auquel elle était censée appartenir d'après les analyses morphologiques (Michez *et al.* 2004b). Néanmoins, les relations précises entre espèces ne sont pas toujours bien résolues. Cela se remarque fortement chez les *Dasypoda s. str.*, où les groupes formés ne sont pas bien supportés, voire différents selon la méthode d'inférence utilisée.

A l'intérieur des différents clades, nos résultats précisent quelques ambiguïtés relevées dans la littérature, à commencer par *D. visnaga*. Sa position à la base du groupe des *Megadasypoda*, établie par les analyses morphologiques de Michez et al (2004b) a été infirmée par les analyses morphologiques et moléculaires de Michez et al. (2009a), qui plaçait cette espèce à la base des *Dasypoda s. str*. Cette étude apporte une réponse encore différente des précédentes. En effet, d'après l'arbre global reprenant les six gènes analysés, *D. visnaga* n'appartiendrait à aucun des deux sous-genres mais se placerait à leur base. Cette hypothèse est grandement appuyée par les valeurs très élevées de support de branche dans les trois analyses (IB, MV, MP) au niveau de ce nœud, ce qui nous a menés à la proposition de changement taxonomique évoquée plus haut.

Le cas de *D. mixta* est également intéressant. Cette espèce a été mise en synonymie avec *D. suripes* par Warncke (1973). Cependant, lors de notre analyse, *D. mixta* et *D. suripes* n'ont été directement assemblées que par le gène COI. Or, le classement qui découle de ce gène est assez suspect, étant donné qu'il ne permet pas de différencier correctement les genres (voir plus haut). *D. suripes* est associée à *D. frieseana* selon quatre gènes, et *D. mixta* se rapproche plus de *D. spinigera*, *D. argentata* et *D. braccata* selon cinq gènes. Notons aussi que le groupe *D. suripes* – *D. frieseana* se retrouve également dans l'analyse de Michez *et al.* (2009a), avec un support de branche très élevé. Il semblerait donc que *D. mixta* soit une espèce à part entière.

Enfin, examinons en détails l'espèce *D. riftensis*. En effet, cette espèce récemment découverte en Ethiopie n'avait pas été prise en compte dans l'analyse phylogénétique de Michez *et al.* (2004b), par conséquent son appartenance aux *Dasypoda s. str.* était uniquement basée sur des caractères morphologiques. Son affiliation à ce sous-genre est maintenant confirmée, étant donné que les arbres regroupant l'ensemble des espèces formant les *Dasypoda s. str.*, à savoir les arbres correspondant aux gènes EF-1 $\alpha$ , NaK et Pol II, incluent tous trois *D. riftensis*. De plus, le gène CAD, bien que scindant les *Dasypoda s. str.* en deux parties, inclut également *D. riftensis* dans un de ces deux sous-groupes. Finalement, l'arbre reprenant l'ensemble des données étudiées place définitivement *D. riftensis* parmi les *Dasypoda s. str.*, avec un support de branche extrêmement élevé.

### 4.1.2. Etude biogéographique

Dans l'hypothèse formulée par Michez (2007), les familles de Melittidae s.l. seraient apparues dans les zones arides de l'Afrique, puis auraient colonisé secondairement la région paléarctique. Parmi les genres de Melittidae s.l. les plus proches des *Dasypoda* étudiés dans le cadre de ce travail, quatre sont endémiques d'Afrique (*Samba, Capicola, Afrodasypoda, Promelitta*) (Michez 2007, Michez *et al.* 2008, 2010, Michez & Patiny 2006, Bouzin 2011). Etant donné que selon nos données les *Dasypoda* auraient une origine méditerranéenne et que leur plus proche parent, le genre *Samba*, soit d'origine africaine (de même que trois autres genres proches), il est probable qu'il y ait eu une dispersion géographique de l'Afrique vers le bassin méditerranéen au moment de la séparation des *Samba* et des *Dasypoda*. Par ailleurs, n'oublions pas que le genre *Dasypoda* détermine la limite nord des Dasypodaidae et qu'il est le seul genre de cette famille rencontré dans les zones tempérées du Paléarctique (Michez *et al.* 2004a).

Danforth *et al.* (2006b) ont déjà émis l'hypothèse d'une origine africaine pour les Melittidae s.l., mais leur hypothèse a été principalement basée sur des évidences de distribution, car la plupart des lignées de Melittidae s.l. sont endémiques d'Afrique, et une phylogénie robuste manquait à l'époque. Nos résultats montrent une origine méditerranéenne pour le genre *Dasypoda*, mais avec une incertitude sur la zone précise. Il y aurait cependant eu une dispersion de l'ouest de la Méditerranée vers l'est, puis vers l'est de l'Asie, et enfin une autre migration de l'ouest de la Méditerranée vers l'Afrique sub-saharienne.

De manière globale, les sous-genres présentent un centre de richesse spécifique en Espagne, dans la péninsule balkanique et au Maghreb. La richesse spécifique diminue rapidement lors de l'éloignement de ces centres. Elle n'est plus que de cinq espèces dans l'Est de l'Asie, dont quatre endémiques, ce qui appuie l'hypothèse selon laquelle les *Dasypoda* ont une origine méditerranéenne. D'après Michez *et al.* (2004b), l'apparition des sous-genres serait liée aux événements glaciaires que la région ouest paléarctique a connus au cours du Quaternaire.

Au niveau spécifique, le cas de *D. riftensis* est particulièrement digne d'intérêt. En effet, cette espèce a une localisation particulièrement différente des autres, étant donné qu'elle est la seule *Dasypoda* rencontrée au sud du Sahara. Par ailleurs, il apparaît qu'elle s'intègre bien aux *Dasypoda s. str.* Ce taxon dériverait donc très probablement des espèces nord africaines telles que *D. maura*, *D. sinuata* et *D. oraniensis*. Cela signifie que dans les temps anciens où le désert du Sahara ne formait pas une barrière infranchissable, la distribution du genre *Dasypoda* s'étendait probablement jusqu'en Ethiopie (Patiny *et al.* 2009). Par la suite, lorsque les conditions climatiques ont forgé le désert du Sahara, certaines espèces de *Dasypoda s. str.* se seraient retrouvées isolées et auraient donc subi un phénomène de spéciation menant à l'apparition de *D. riftensis*, qui serait restée inféodée à cette région où elle se rencontre encore actuellement.

### 4.1.3. Etude des choix floraux

Les interactions avec les angiospermes ont souvent été citées comme facteurs importants de la diversification chez les insectes phytophages, car des changements de plante-hôte peuvent être associés à des évènements de spéciation (Farrel 1998). Cependant, la plupart des genres d'abeilles sont soit exclusivement généralistes (par exemple le genre *Bombus*, Kleijn & Raemakers 2008) ou des espèces spécialistes (par exemple le genre *Macropis*, Michez *et al.* 2008), avec un faible nombre de genres incluant à la fois des espèces généralistes et spécialistes (par exemple le genre *Colletes*, Müller & Kuhlmann 2008) (Weislo & Cane 1996).

Chez les abeilles spécialisées, les changements de plante-hôte se produisent rarement, et les nouvelles plantes-hôtes sont généralement morphologiquement semblables à la plante-hôte ancestrale (Müller 1996 ; Michez *et al.* 2004b ; Sipes & Tepedino 2005 ; Sedivy *et al.* 2008). Notre étude confirme ce pattern : il y a eu très peu de changements de plantes-hôtes au cours de l'évolution des *Dasypoda* (6 changements pour 24 espèces).

Le genre *Dasypoda* est similaire au genre *Melitta* au sens où il comprend à la fois des espèces généralistes (par exemple *D. crassicornis*) et des espèces spécialistes (par exemple les *Dasypoda s. str.*), butinant sur des plantes-hôtes morphologiquement différentes.

Toutes les familles de plantes principalement visitées par les *Dasypoda* sont actinomorphes, ce qui laisse penser que la plante hôte ancestrale des *Dasypoda* était probablement une fleur à symétrie radiaire. Parmi les genres d'abeilles les plus proches des *Dasypoda* étudiés dans le cadre de ce travail, la plupart d'entre eux (exceptés les genres *Promelitta* et *Macropis*) comportent la famille des Asteraceae parmi les familles de plantes majoritairement visitées par les femelles. Par contre, l'ensemble de ces sept genres butine sur des fleurs à symétrie radiaire (Michez 2007 ; Michez *et al.* 2008, 2010 ; Michez & Patiny 2006 ; Bouzin 2011).

Etant donné l'isolement géographique de *D. riftensis*, il était envisageable de s'attendre à ce qu'un phénomène de spéciation alimentaire particulier soit apparu. Or, il apparaît que son choix alimentaire s'aligne parfaitement sur celui de ses proches parents. Il faut néanmoins souligner que les paramètres de choix floraux de cette espèce ne reposent que sur les observations de cinq femelles (Michez & Pauly 2012) et qu'il faudrait confirmer cette hypothèse par des études palynologiques.

# 4.2. Forme des ailes

#### 4.2.1. Caractère diagnostique de la forme des ailes

Selon nos deux analyses (RWA et CVA), la forme des ailes semble bel et bien être un critère diagnostique au niveau du genre *Dasypoda* et des groupes de comparaison. Cette hypothèse est confirmée par le résultat du test d'assignement, qui a correctement replacé chaque individu dans le groupe auquel il était censé appartenir.

Au niveau des sous-genres, la CVA montre des difficultés à séparer distinctement les *Microdasypoda* et les *Heterodasypoda*. La faible part de variance expliquée par les axes principaux indique que la valeur diagnostique des formes d'aile de ces ceux sous-genres est médiocre, et que la morphologie de leurs ailes est très semblable, ce qui confirme les résultats obtenus par la phylogénie moléculaire. Néanmoins, le test d'assignement a correctement affecté l'ensemble des individus analysés dans les sous-genres auxquels ils étaient censés appartenir, ce qui montre qu'il existe pourtant une valeur diagnostique de la forme des ailes.

Le test d'assignement a permis, à une exception près, de replacer chaque individu analysé dans le bon groupe d'espèce. A ce stade, nous pouvons poser l'hypothèse que le test d'assignement fonctionne parfaitement pour identifier le genre et le sous-genre d'une espèce inconnue à deux cellules cubitales. De plus, ce test aiguillonne considérablement lors de l'identification de l'espèce, même s'il ne faut pas négliger une vérification visuelle par un entomologiste compétent. La forme de l'aile semble donc être un caractère discriminant sur lequel on peut s'appuyer lors de l'identification d'une espèce inconnue.

### 4.2.2. Phylogénie moléculaire versus morphométrie géométrique

Il apparait clairement que la forme des ailes des *Dasypoda* ne reflète pas la phylogénie. Les quelques études qui ont comparé les hypothèses systématiques basées sur la forme des ailes et la phylogénie ont également démontré des différences entre la phylogénie et les groupements phénétiques (Michez *et al.* 2009b ; Demeulemeester *et al.* 2012). Par ailleurs, différentes études ont montré que la variation de la forme de l'aile des abeilles permet clairement la discrimination de taxons à différents niveaux, mais ne permettent pas d'évaluer le signal phylogénétique contenu dans la forme des ailes (Demeulemeester *et al.* 2012). Les caractères morphologiques peuvent évoluer à des vitesses différentes des caractères moléculaires et amener ainsi à des topologies de groupement discordantes.

Par conséquent, la principale difficulté à laquelle l'expérimentateur est confronté lorsqu'il utilise la méthode de morphométrie géométrique est d'arriver à quantifier la qualité du signal phylogénétique traduit par la forme de l'objet (Klingenberg & Gidaszewski 2010). Ce signal peut être défini comme le degré avec lequel la parenté phylogénétique entre les taxons est associée à leurs similitudes phénotypiques (Blomberg *et al.* 2003 ; Cardini & Elton 2008). Dans notre cas, il est intéressant de s'interroger quant à la qualité de ce signal phylogénétique contenu dans la forme de l'aile.

En se référant à la littérature, la forme de l'aile des abeilles n'est probablement pas un caractère neutre. En effet, la forme de l'aile définit en partie les performances de vol, et donc le succès de l'alimentation (Hepburn *et al.* 1998). De nombreuses études ont mis en évidence le polymorphisme de la forme des ailes, souvent poussé par des pressions environnementales (Alpatov 1929 ; Verma *et al.* 1994 ; Hepburn *et al.* 2000 ; Hepburn *et al.* 2001 ; Radloff *et al.* 2005a, b ; Tan *et al.* 2008), la sélection sexuelle (Radloff *et al.* 2003) ou encore des facteurs abiotiques tels que la température (Soose 1954) et la saison (Mattu & Verma 1984). Dans notre cas, il semble qu'il y ait une certaine logique entre les groupements de la morphométrie géométrique et la distribution géographique des taxons. Il serait intéressant d'investiguer dans ce sens lors de prochaines études.

Les résultats de la db-RDA démontrent quantitativement que la forme de l'aile contient bel et bien un signal phylogénétique. Ces résultats sont néanmoins à considérer avec précaution, étant donné que la *p-value* satisfait aux conditions du seuil choisi à 0.05, mais n'est pas valable si on choisit un seuil plus strict de 0.01.

# **5.** Conclusions

L'apport de nouvelles séquences génétiques, que ce soit au niveau du gène ou du taxon, a permis de compléter la phylogénie du genre *Dasypoda*. L'ajout de ces nouvelles données a mis en évidence d'une part la distinction d'une espèce, *D. mixta*, et d'autre part la paraphylie de deux sous-genres précédemment admis par Michez *et al.* (2004). En conséquence, nous proposons de ramener le nombre de sous-genres de *Dasypoda* à deux : *Dasypoda s. str.* et *Heterodasypoda*.

Les données biogéographiques dont nous disposons viennent confirmer cette proposition. Les *Heterodasypoda* (comprenant également les espèces de *Microdasypoda*) se rencontrent principalement dans l'Ouest du bassin méditerranéen. L'origine de ce groupe semble se situer en Europe occidentale. La plupart des *Dasypoda s. str.* se retrouvent également du côté Ouest de la Méditerranée, d'où elles auraient migré pour donner les espèces de l'ancien sous-genre *Megadasypoda*, vivant actuellement à l'Est de la Méditerranée. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que le genre *Dasypoda* ait une origine méditerranéenne.

Les choix floraux viennent également étayer la proposition de deux sous-genres, de par la nette différence de régime alimentaire entre les deux groupes : d'un côté les *Dasypoda s. str.* (y compris les *Megadasypoda*) oligolectiques et butinant sur des fleurs en capitule (Asteraceae et Dipsacacae), de l'autre les *Heterodasypoda* (et *Microdasypoda*) majoritairement polylectiques mais avec une préférence pour les Cistaceae (fleur simple).

Par ailleurs, les analyses de morphométrie géométrique basées sur la forme des ailes sont assez puissantes pour discriminer le genre, les sous-genres et les espèces de *Dasypoda* au moyen des tests d'assignement, qui constituent dès lors un outil non négligeable à l'identification de spécimens inconnus. La forme de l'aile est donc bel et bien un caractère diagnostique pour les *Dasypoda*.

Toutefois, le regroupement morphométrique sur base de la forme des ailes et la phylogénie moléculaire ne donnent pas de groupements similaires. La morphométrie géométrique de la forme des ailes ne deviendra dès lors probablement pas un égal à la phylogénie moléculaire lors de l'étude des affinités au sein des abeilles. Il semblerait néanmoins que ce caractère contienne un signal phylogénétique faible mais bien présent, et l'hypothèse selon laquelle la forme des ailes serait corrélée à la distribution géographique mérite d'être explorée.

# **6. Perspectives**

Tout d'abord, afin de résoudre finement les liens de parenté entre espèces du sous-genre *Dasypoda s. str.*, il serait tentant d'ajouter un gène à taux de mutation élevé à notre jeu de données. Etant donné que le COI avec les amorces LCO-HCO n'a pas fonctionné de façon optimale dans notre cas, il serait possible d'utiliser un autre type d'amorces (par exemple Jerry-Pat) ou encore de retravailler les séquences de ces amorces afin qu'elles s'adaptent mieux aux espèces de *Dasypoda*.

Par la suite, il serait intéressant d'un point de vue systématique de réaliser une phylogénie moléculaire comprenant plus de taxons asiatiques. En effet, étant donné leur isolement géographique, il est fort probable qu'ils soient plus proches entre eux que de leurs parents européens et africains. Cela permettrait de mieux comprendre les mécanismes de spéciation et de migration à partir du bassin méditerranéen.

De même, il serait bon d'obtenir des données supplémentaires concernant les choix floraux des *Dasypoda*, essentiellement les *Heterodasypoda* (et *Microdasypoda*), car l'inférence qui a été réalisée dans cette étude comporte un certain nombre de données manquantes, et donc d'incertitudes. Cela permettrait de mieux comprendre le changement de choix alimentaire entre les deux nouveaux sous-genres.

Par ailleurs, l'apport de taxons supplémentaires à l'analyse de morphométrie géométrique constituerait un intérêt non négligeable afin de confirmer la présence d'un signal phylogénétique dans la forme des ailes, mais aussi pour vérifier la performance de la morphométrie géométrique en tant qu'outil de discrimination des espèces de *Dasypoda*.

Enfin, il serait intéressant d'effectuer des études complémentaires à ce travail afin de vérifier si la différence entre la phénétique basée sur la forme des ailes et la phylogénie moléculaire est due à une ou plusieurs pressions de sélection environnementales, ou à une évolution neutre non parallèle entre les gènes séquencés et les caractéristiques morphologiques mesurées.

# 7. Bibliographie

Alcock J., Barrows E.M., Gordh G., Hubbard L.J., Kirkendall C., Pyle D.W., Ponder T.L. & Zalom F.G. 1978 – The ecology and evolution of male reproductive behaviour in bees and wasps – *Zoological Journal of the Linnean Society* **64**: 293-326.

Alpatov, W. W. 1929 - Biometrical studies on variation and races of the honey bee *Apis mellifera* L. - *Quarterly Review of Biology*, **4**, 1–58.

Alexander B.A. & Michener C.D. 1995 – Phylogenetics studies of the families of shorttongued bees (Hymenoptera : Apoidea) – *The University of Kansas Science Bulletin*, **55** : 377-424.

**Ayasse M., Paxton R.J., Tengö J. 2001** – Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera – *Annual Review of Entomology* **46**: 31-78.

Aytekin, A.M., M. Terzo, P. Rasmont, & N. Cagatay 2007 - Landmark based geometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille) - *Annales de la Societe entomologique de France (n. s.)*, **43**: 95-102

**Baker D.B. 2002** – A provisional annotated list of the nominal taxa assigned to the genus *Dasypoda* Latreille, 1802, with the description of an additional species (Hymenoptera, Apoidea, Milittidae) – *Deutsche entomologische Zeitschrift*, **49** : 89-103.

**Barker FK, Lutzoni FM. 2002** - The utility of the incongruence length difference test - *Systematic Biology* **51**, 625-637.

**Bergmark L., Borg-Karlson A.-K., Tengö J. 1984** – Female characteristics and odour cues in mate recognition in *Dasypoda altercator* (Hym., Melittidae) – *Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsaliensis* **5**: 137-143.

**Blagovestchenskaya N.N. 1963** – Giant colony of the solitary bee *Dasypoda plumipes* (Pz) (Hymenoptera, Melittidae) – *Revue d'entomologie de l'U.R.S.S.* **12**: 115-117.

Blomberg, S.P., T. Jr. Garland, & A.R. Ives, 2003 - Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile - *Evolution*, **57**: 717-745

**Bookstein, F.L. 1991 -** Morphometric tools for landmark data: Geometry and biology -Cambridge University Press ed, Cambridge. 435 p.
**Bouzin M. 2011** – Phylogénie, biogéographie et evolution des choix floraux des Macropidini (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae) – Master thesis, Laboratoire de zoologie, Université de Mons, Belgique.

Cameron, S.A. & P. Mardulyn, 2001 - Multiple molecular data sets suggest independent origins of highly eusocial behavior in bees (Hymenoptera: Apinae) - *Systematic Biology*, 50: 194-214

Cameron SA, Hines HM, Williams PH 2007 - A comprehensive phylogeny of the bumble bees (*Bombus*) - *Biological Journal of the Linnean Society* **91**, 161-188.

**Cane J.H. & Sipes S.D. 2006** – Characterizing floral specialization by bees: analytical methods and a revised lexicon for oligolecty – *Specialization and Generalization in Plant-Pollinator Interactions* (ed. by N. M. Waser and J. Ollerton), pp. 99–122. University of Chicago Press, Chicago.

Cardini, A., & S. Elton, 2008 - Does the skull carry a phylogenetic signal? Evolution and modularity in the guenons - *Biological Journal of the Linnean Society*, 93: 813-834

**Ceballos G., Dusmet y Alonso M. & Del Junco y Reves J. 1956** – Catalogo de los himenopteros de España – *Consejo superior de investigaciones científicas*, Madrid, 554pp.

Celary W. 2002 – The ground-nesting solitary bee, *Dasypoda thoracica* Baer, 1853 (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae) and its life history – *Folia biologica* **50**: 191-198.

**Celary W. 2005** – Melittidae (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila) of Poland : Their Biodiversity and Biology – Institute of Systematics and Evolution of Animals, Polish Academy of Sciences, 177p.

Chmurzynski J.A., Kieruzel M., Krysztofiak A., Krysztofiak L. 1998 – Long-distance homing ability in *Dasypoda altercator* (Hymenoptera, Melittidae) – *Ethology* 104: 421-429.

**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, S. D. Sipes, & A. Pearson 2004 - Single-copy nuclear genes recover Cretaceous-age divergences in bees - *Systematic Biology*, **53**: 309-

**Danforth, B.N., J. Fang, & S.D. Sipes 2006a.** Analysis of family-level relationships in bees (Hymenoptera: Apiformes) using 28S and two previously unexplored nuclear genes: CAD and RNA polymerase II - *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **39:** 358-372

**Danforth B.N., Sipes S.D., Fang J. & Brady S.G. 2006b** – The history of early bee diversification based on five genes plus morphology – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103** (41), 15118–15123.

Danforth B.N., Cardinal S., Praz C., Almeida E. & Michez D. 2013 – The impact of molecular data on our understanding of bee phylogeny and evolution – *Annu. Rev. Entomol.* 58:57-78.

**Darlu P. & Lecointre G. 2002** - When Does the Incongruence Length Difference Test Fail? - *Mol Biol Evol* **19**(4) : 432-437.

**Dellicour S., Lecocq T., Kuhlmann M., Mardulyn P., Michez D. 2013** – Molecular phylogeny, biogeography and host plant shifts in the bee genus *Melitta* (Hymenoptera : anthophila) – En préparation

**Demeulemeester T., Michez D., Aytekin AM, Danforth BN 2012** – Taxonomic affinity of halectic bee fossils (Hymenoptera : Anthophila) based on geometric morphometrics analyses of wing shape – *Journal of Systematic Paleonthology* [sous presse]

**Eickwort G.C., Ginsberg H.S. 1980** – Foraging and mating behavior in Apoidea – *Annu. Rev. Entomol.* **25** : 421–446.

**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.

Estoup A, Solignac M, Cornuet J-M, Goudet J, Scholl A. 1996 - Genetic differentiation of continental and island populations of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Europe - *Molecular Ecology* 5, 19-31.

**Farrell, B.D. 1998** – "Inordinate fondness" explained: Why are there so many beetles? - *Science* **281**(5376), 555-559.

**Felsenstein J. 1985** - Phylogenies and the comparative method - *The American Naturalist* **125**, 1-15.

Habermannova J, Bogusch P, Straka J 2013 - Flexible Host Choice and Common Host
Switches in the Evolution of Generalist and Specialist Cuckoo Bees (Anthophila: Sphecodes)
- *PLoS ONE* 8(5): e64537. doi:10.1371/journal.pone.0064537

Hepburn, H. R., Youthed, C., Illgner, P., Radloff, S. E. & Brown, R. E. 1998 -Production of aerodynamic power in mountain honeybees (*Apis mellifera*) -*Naturwissenschaften*, **85**, 389–390.

Hepburn, H. R., Radloff, S. E. & Oghiakhe, S. 2000 - Mountain honeybees of Africa - *Apidologie*, **31**(2), 205–221.

Hepburn, H. R., Radloff, S. E., Verma, S. & Verma, L. R. 2001 - Morphometric analysis of *Apis cerana* populations in the southern Himalayan region - *Apidologie*, 32(5), 435–447.

Hillis DM, Bull JJ. 1993 - An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis - *Systematic Biology* **42**, 182-192.

Hines, H.M., S.A. Cameron, & P.H. Williams, 2006 - Molecular phylogeny of the bumble bee subgenus *Pyrobombus* (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*) with insights into gene utility for lower-level analysis - *Invertebrate Systematics*, 20: 289-303

Huelsenbeck JP, Rannala B 2004 - Frequentist properties of bayesian posterior probabilities of phylogenetic trees under simple and complex substitution models - *Systematic Biology* 53, 904-913.

Hurvich CM, Tsai C-L. 1989 - Regression and time series model selection in small samples - *Biometrika* 76, 297-307.

Jaenike J. 1990 – Host specialization in phytophagous insects – Annu. Rev. Ecol. Syst. 21 : 243–273.

Katoh K, Misawa K, Kuma K-I, Miyata T 2002 - MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform - *Nucleic Acids Research* 30, 3059-3066.

Kawakita, A., T. Sota, M. Ito, J. S. Ascher, H. Tanaka, M. Kato, & D. W. Roubik, 2004. Phylogeny, historical biogeography, and character evolution in bumble bees (*Bombus*:

Apidae) based on simultaneous analysis of three nuclear gene sequences - *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **31:** 799-804

Kleijn, D., Raemakers, I. 2008 - A retrospective analysis of pollen host plant use by stable and declining bumble bee species - *Ecology* 89, 1811-1823.

Klingenberg, C.P., & N. A. Gidaszewski, 2010 - Testing and Quantifying Phylogenetic Signals and Homoplasy in Morphometric Data - *Systematic Biology*, **53**: 245-261

Larkin, L.L., J.L. Neff, & B.B. Simpson, 2006 - Phylogeny of the *Callandrena* subgenus of *Andrena* (Hymenoptera: Andrenidae) based on mitochondrial and nuclear DNA data: polyphyly and convergent evolution - *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **38**: 330-343

Larkin L., Neff J.L., Simpson B.B. 2008 – The evolution of specificity: Pollen host choice and diet breadth of *Andrena* bees – *Apidologie* [in press]

Leaché A. & Reeder T. 2002 – Molecular Systematics of the Esastern Fence Lizard (Sceloporus undulates) : A Comparison of Parsimony, Likelihood and Bayesian Approaches – Syst. Biol. 51(1) : 44-68.

Lecocq T, Lhomme P, Michez D, et al. 2011 - Molecular and chemical characters to evaluate species status of two cuckoo bumblebees: *Bombus barbutellus* and *Bombus maxillosus* (Hymenoptera, Apidae, Bombini) - *Systematic Entomology* **36**, 453-469.

Legendre P, Andersson MJ 1999 - Distance-based redundancy analysis: Testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments - *Ecological Monographs* 69, 1-24.

**Legendre P, Fortin M 2010** - Comparison of the Mantel test and alternative approaches for detecting complex multivariate relationships in the spatial analysis of genetic data -*Molecular Ecology Resources* **10**, 831-844.

**Lind H. 1968** – Nest provisioning cycle and daily routine of behavior in *Dasypoda* plumipes – Entomologiske Meddelelser **36**: 343-372.

Linsley E.G. 1958 – The ecology of solitary bees – *Hilgardia* 27 : 543–599.

Maddison W. & Maddison D. 2000 - McClade

Maddison W. & Maddison D. 2007 - Mesquite: A Modular System for Evolutionary Analysis.

Mantel N. 1967 - The detection of disease clustering and a generalized regression approach - *Cancer Research* 27 (2): 209–220.

Mardulyn, P. & S.A. Cameron, 1999. The major opsin in bees (Insecta: Hymenoptera): a promising nuclear gene for higher level phylogenetics - *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12: 168-176

Maruyama K. 1953 – Bionomical notes on *Dasypoda japonica* Cockerell (Hymenoptera) – *Kontyû* 20: 45-48.

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

Michel-Salzat, A., S.A. Cameron, & M.L. Oliveira, 2004 - Phylogeny of the orchid bees (Hymenoptera: Apinae: Euglossini): DNA and morphology yield equivalent patterns - *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **32**: 309-323

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

**Michener C.D. 1981** – Classification of the bee family Melittidae with a review of species of Meganomiinae – *Contribution of the American Entomological Institute*, **18** : 1-135.

Michener C.D. 2000 – The bees of the world. – Baltimore – The Johns Hopkins University Press, 913 p.

Michener C.D. 2007 – The bees of the world, second edition – The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 913 pp.

Michez D. 2002a – Discussion morphologique et biogéographique sur le complexe subspécifique de *Dasypoda hirtipes* (Fabricius 1793) sensu Warncke (1973) – *Notes Fauniques de Gembloux*, **49**: 35-45.

**Michez D. 2002b** – *Dasypoda patinyi* sp. nov. (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae), espèce nouvelle récoltée en Syrie – *Linzer biologische Beiträge* **34** (1) : 737-742.

Michez D. & Patiny S. 2002 – West-Palaearctic *Dasypoda* Latreille, 1802 biogeography (Apoidea, Melittidae) – *Beiträge der Hymenopteren-Tagung in Stuttgart*, 48-50.

Michez D., Patiny S., Gaspar C. 2003 – *Dasypoda albimana* Pérez, 1905 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae), espèce nouvelle pour la France et le Maroc. – *Bulletin de la Société entomologique de France*, 108 : 61-64.

Michez D., Terzo M., Rasmont P. 2004a – Révision des espèces ouest-paléarctiques du genre *Dasypoda* Latreille 1802 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae) – *Linzer Biologische Beiträge*, **36** : 847-900.

Michez D., Terzo M., Rasmont P. 2004b – Phylogénie, biogéographie et choix floraux des abeilles oligolectiques du genre *Dasypoda* Latreille 1802 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae), *Ann. Soc. Entomol. Fr. (n. s.)* 40 : 421–435.

Michez D. 2005 – *Dasypoda (Megadasypoda) intermedia* sp. nov. (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae), new species from Iran – *Zoologische Mededelingen*, **79** (6), 123–127.

**Michez D. & 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 – *Ann. Soc. Entomol. Fr.* (n.s.) **41** (1) : 15-28.

Michez D. & Patiny S. 2006 – Review of the bee genus *Eremaphanta* Popov 1940 (Hymenoptera : Melittidae), with the description of a new species – *Zootaxa* **1148**:47-68.

Michez D. 2007. Monographic revision of the Melittidae *s.l.* (Hymenoptera: Apoidea: Dasypodaidae, Meganomiidae, Melittidae), *Laboratoire de Zoologie*, 50.

Michez D. & Eardley C. 2007 – Monographic revision of the bee genus *Melitta* Kirby 1802 (Hymenoptera : Apoidea : Melittidae) – *Ann. Soc. Entomol. Fr.* (n.s.) **43** (4) : 379-440.

Michez D., Else GR & Roberts SPM. 2007 – Biogeography, floral choices and redescription of *Promelitta alboclypeata* (Friese 1900) (Hymenoptera :Apoidea :Melittidae) – *African Entomology* **15**(1) : 197-203.

Michez D., Patiny S., Rasmont P., Timmermann K. & Vereecken N.J. 2008 – Phylogeny and host-plant evolution in Melittidae *s.l.* (Hymenoptera: Apoidea) – *Apidologie*, **39** (1), 146–162.

Michez D., Patiny S. & Danforth B.N. 2009a – Phylogeny of the bee family Melittidae (Hymenoptera: Anthophila) based on combined molecular and morphological data – *Systematic Entomology*, **34**, 574–597.

Michez D., De Meulemeester T., Rasmont P., Nel A. & Patiny S. 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., Eardley, C.D., Kuhlmann, M., Timmerman K. & Patiny, S. 2010 – The bee genera *Haplomelitta* and *Samba* (Hymenoptera, Melittidae): phylogeny, biogeography and host–plants – *Invertebrate Systematics*, 24 : 327–347.

Michez D. & Pauly A. 2012 – A new species of the palaearctic genus *Dasypoda* Latreille 1802 (Hymenoptera: Dasypodaidae) from the Great Rift Valley in Ethiopia – *Zootaxa*, **3181**, 63-68.

Michez D., Kuhlmann, M. Ivanov, S. P. & Radchenko V. G. 2012 - Description of four new species in the bee genus *Melitta* Kirby, 1802 (Hymenoptera: Melittidae) - *Zootaxa*, 3337, 57-67.

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

Müller A. 1996 – Host-plant specialization in Western Palearctic anthidiine bees (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae) – *Ecological Monographs* 66: 235-257.

Müller, A., Kuhlmann, M. 2008 - Pollen hosts of western palaearctic bees of the genus *Colletes*, Hymenoptera: Colletidae): the Asteraceae paradox - *Biological Journal of the Linnean Society* **95**, 719-733.

**Ornosa C. & Martinez M.D. 1995** – Apoidea de Extremadura (Oeste de España). II. Familias Melittidae y Megachilidae (Hymenoptera) – *Boletin de la Asociacion española de Entomologia* **19** (1-2) : 267-279.

**Ornosa C. & Martinez M.D. 1996** – Apoidea de la Cuenca Occidental Alta del Duero (España). Familias Melittidae, Megachilidae y Apidae (Hymenoptera) – *Boletin de la Asociacion española de Entomologia* **20** (3-4) : 93-106.

**Ornosa C. & Ortiz-Sánchez F.J. 1998a** – Contributión al conomimiento de los melítidos ibéricos (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae) – *Boletin de la Asociacion española de Entomologia* **22** (3-4) : 181-202.

**Ornosa C. & Ortiz-Sánchez F.J. 1998b** – Nuevos datos sobre la hembra de *Dasypoda albimana* Pérez 1905, y *Dasypoda dusmeti niveocincta* Noskiewicz 1959 syn. nov. (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae) – *Zoologica baetica* **9** : 131-136.

**Packer L. 2003** – Comparative morphology of the skeletal parts of the sting apparatus of bees (Hymenoptera: Apoidea) – *Zoological Journal of the Linnean Society*, **138**, 1–38

Patiny S. & Michez D. 2007 - Biogeography of bees (Hymenoptera, Apoidea) in Sahara and the Arabian deserts - *Insect Systematics & Evolution* 38: 19-34.

Patiny S, Michez D., Kuhlmann M., Pauly A & Barbier Y. 2008 – Factors limitings the sepcies richness of bees in Saharan Africa – *Bulletin of Entomological Research*, 10p.

Patiny S, Baldock D, Michez D. 2013 – Systematics of the subgenus Systropha (Austrosystropha) (Hymenopetra:Halictidae) : Description of a new species and proposal of a new sex association – *Zootaxa* 3647 (4) : 577-584.

Pauly, A., Brooks, L., Nilsson, A., Pesenko, Y. A., Eardley, C. D., Terzo, M., Griswold, T., Schwarz, M., Patiny, S., Munzinger, J. & Barbier, Y. 2001 - *Hymenoptera Apoidea de Madagascar et des îles voisines* - Musée royal de l'Afrique centrale, Tervuren.

**Pedersen BV 2002** - European bumblebees (Hymenoptera: Bombini) - Phylogenetic relationships inferred from DNA sequences - *Insect Systematics and Evolution* **33**, 361-386.

**Pesenko Y.A. 1995** – Synopsis of the bee fauna (Hymenoptera : Apoidea) of Russia and the neighbouring countries, with a list of oligolectic species – dans BANASZAK J. : *Changes in Fauna of Wild Bees in Europe* : 45-52.

**Pérez J. 1890** – Catalogue des mellifères du Sud-Ouest – *Actes de la Société linéenne de Bordeaux* **44** : 1-200.

**Pérez J. 1895** - Espèces nouvelles de mellifères de Barbarie (diagnose préliminaire) – *Gounouilhou éd. Bordeaux*, 64p.

Posada D. 2008 - jModelTest: Phylogenetic model averaging - Molecular Biology and

Evolution 25, 1253-1256.

**Pouvreau A., Loublier Y. 1995** - Observations sur la biologie de *Dasypoda hirtipes* (F., 1973) - *Annales de la Société entomologique de France (n. s.)* **31**: 237-248.

Praz, C.J., A. Muller, B. N. Danforth, T. L. Griswold, A. Widmer, & S. Dorn, 2008 -Phylogeny and biogeography of bees of the tribe Osmiini (Hymenoptera: Megachilidae) -*Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**: 185-197

**Pretorius, E. 2005** - Using geometric morphometrics to investigate wing dimorphism in males and females of Hymenoptera – a case study based on the genus *Tachysphex* Kohl (Hymenoptera: Sphecidae: Larrinae) - *Australian Journal of Entomology*, **44**, 113–121.

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.

Quilis M. 1928 – Estudio monogràfico de las *Dasypoda* Latreille – *E.O.S.* 4 : 173-241.

**R Development Core Team 2010 -** 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. 1987** – Nesting of *Dasypoda braccata* Eversmann (Hymenoptera, Melittidae) in the southwestern Ukraine – *Entomological review* **67**: 57-60.

**Radchenko V.G. & Pesenko A. 1989** – A key to the bees of the genus *Dasypoda* Latreille (Hymenoptera, Melittidae) of the European part of the USSR, with a designation of lectotypes – USSR Academy of Sciences, Proceedings of the zoological institute **188** : 114-121. [en russe]

Radloff, S. E., Hepburn, H. R. & Koeniger, G. 2003 - Comparison of flight design of Asian honeybee drones - *Apidologie*, **34**, 253–358.

Radloff, S. E., Hepburn, H. R., Hepburn, C., Fuchs, S., Otis, G.W., Sein, M. M., Aung, H. L., Pham, H. T., Tam, D. Q., Nuru, A. M. & Ken, T. 2005a - Multivariate morphometric analysis of *Apis cerana* of southern mainland Asia - *Apidologie*, **36**(1), 127–139.

Radloff, S. E., Hepburn, R.&Fuchs, S. 2005b - The morphometric affinities of *Apis cerana* of the Hindu Kush and Himalayan regions of western Asia - *Apidologie*, **36**(1), 25–30.

Rambaut A. 2006 - Figtree.

Rambaut A. & Drummond A. 2007 - Tracer.

**Rasmont P. 1988** – Monographie écologique et biogéographique des bourdons de France et de Belgique (Hymenoptera, Apidae, Bombinae) – Unpubl. Ph-D dissertation, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Gembloux.

**Robertson C. 1925** – Heterotrophic bees – Ecology **6** : 412–436.

**Rohlf, F. 2006a** - tpsDig, version 2.10 - Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook.

**Rohlf, J. F, 2006b -** tpsRELW Version 1.44 - Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New-York.

**Rohlf, F. 2010** - tpsUtil program, Version 1.46 - Department of Ecology & Evolution, State University of New York.

**Ronquist, F. 1997** - Dispersal–vicariance analysis: a new approach to the quantification of historical biogeography - *Systematic Biology* **46**, 195–203.

Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. 2003 - MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models - *Bioinformatics* 19, 1572-1574.

**Ross, H.H. 1936** - The ancestry and wing venation of the Hymenoptera - *Annals of the Entomological Society of America*, **29:** 99-111

**Rozen J.G. & McGinley R.J. 1974** – Phylogeny and Systematics of Melitidae Based on the Mature Larvae (Insecta, Hymenoptera, Apoidea) – *American Museum Novitates*, **2545** : 1-31.

**Rozen J.R. 1986** – Survey of the number of ovarioles in various taxa of bees (Hymenoptera : Apoidea) – *Proceedings of the entomological society of Washington*, **88** (4) : 707-710.

**Saunders E. 1881** – Notes on the Entomology of Portugal. VI. Hymenoptera Aculeata, collected by the Rev. A.E. Eaton in 1880 – *Entomologist's Monthly Magazine* **18** : 165-171.

**Saunders E. 1908** – Note on the nesting habits of *Dasypoda hirtipes* Latr. – *Entomologist's Monthly Magazine* **44**: 235.

Scheuchl E. 1996 – Illustrierte Bestimmungstabellen der Wildbienen Deutschlands und Österreichs. Band II : Schlüssel der Arten der Familien Megachilidae und Melittidae. – Velden : Privately published, 116 p.

Sedivy C, Praz C., Müller A., Widmer A., Dorn S. 2008 – Patterns of host-plant choice in bees of the genus *Chelostoma* : the constraint hypothesis of host-range evolution in bees -*Evolution* 62 (10), pp. 2487-2507

Sedivy C., Piskorski R., Müller A., Dorn S. 2012 - Too low to kill: Concentration of the secondary metabolite ranunculin in buttercup pollen does not affect bee larval survival - *Journal of Chemical Ecology* 38 (8), pp. 996-1002

Sheets, H.D., 2001 - CVAGen60 - New York: Canisius College, Buffalo, http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm

Sheets, H.D., 2003 – *CoordGen6h* - New York: Canisius College, Buffalo, http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm

**Sheets, H.D., 2005 -** *PCAGen6p* - New York: Canisius College, Buffalo, http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm

Sipes S.D., Wolf P.G. 2001 – Phylogenetic relationships within *Diadasia*, a group of specialist bees – *Mol. Phylogenet. Evol.* 19 : 144–156.

**Sipes S.D., Tepedino V. 2005** – Pollen-host specificity and evolutionary patterns of host switching in a clade of specialist bees (Apoidea: *Diadasia*) – *Biol. J. Linn. Soc.* **86** : 487–505.

**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 - Ph-D thesis, University of California: Berkley, USA.

**Steiner K.E. & Whitehead V.B. 1991** – Oil flowers and oil bees: further evidence for pollinator adaptation – *Evolution*, **45**, 1493–1501.

**Swofford DL. 2001** - PAUP\* Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods) - Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Tan, K., Hepburn, H. R., Radloff, S. E., Fuchs, S., Fan, X., Zhang, L. J. & Yang, M.
X. 2008 - Multivariate morphometric analysis of the *Apis cerana* of China - *Apidologie*, 39(3), 343–353.

**Tofilski, A., 2008.** Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies, *Apidologie*, **39:** 558-563

**Thorp R.W. 1979** – Structural behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen – *Annals of the Missouri Botanical Garden* **66**: 788-812.

**Thorp R.W. 2000** – The collection of pollen by bees – *Plant Systematics and Evolution* **222** : 211-223.

Vereecken N., Toffin E., Michez D. 2006 – Observations relatives à la biologie et à la nidification de quelques abeilles sauvages psammophiles d'intérêts en Wallonie 2. Observations estivales et automnales – *Parcs et réserves* 61: 12-20.

**Verma, L. R., Mattu, V. K. & Daly, H. V. 1994** - Multivariate morphometrics of the Indian honeybee in the northwest Himalayan region - *Apidologie*, **25**, 203–223.

Warncke K. 1973 – Die westpaläarktische Arten der Bienen Familie *Melittidae* (*Hymenoptera*) – *Polskie Pismo Entomologiczne*, 43 : 97-126.

Wappler T., Demeulemeester T., Aytekin Murat A., Michez D. & Engel MS. 2012 -Geometric morphometric analysis of a new Miocene bumble bee from the Randeck Maar of southwestern Germany (Hymenoptera: Apidae) – *Systematic Entomology*, **37**, 784-792

Westrich P. 1990 – Die Wildbienen Baden-Württembergs – Ulmer, Stuttgart.

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

Wilcox TP, Zwickl DJ, Heath TA, Hillis DM 2002 - Phylogenetic relationships of the

dwarf boas and a comparison of Bayesian and bootstrap measures of phylogenetic support - *Molecular Phylogenetics and Evolution* **25**, 361-371.

Wu Y.R. 2000 – Hymenoptera, Melittidae & Apidae. – Beijing : Academia Sinica, 442 p.

**Yu, Y., Harris, A.J., He, X.J., 2011** - RASP, Reconstruct Ancestral State in Phylogenies 2.0b - Available from http://mnh.scu.edu.cn/soft/blog/RASP.

Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD, Fink WL 2004 - Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. – Elsevier Academic Press, New York and London, 437p.

**Zhang Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W 2000** - A greedy algorithm for aligning DNA sequences - *Journal of Computational Biology* **7**, 203-214.

**Zwickl DJ. 2006** - Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criteria - PhD Thesis, The University of Texas at Austin.



8. <u>Annexes</u>

Annexe 1. Arbres enracinés basés sur le gène 28S avec les valeurs de support de branche. A gauche, l'arbre généré par l'IB. A droite, l'arbre généré par le MP. En bas, l'arbre généré par le MV.



Annexe 2. Arbres enracinés basés sur le gène CAD avec les valeurs de support de branche. A gauche, l'arbre généré par l'IB. A droite, l'arbre généré par le MP. En bas, l'arbre généré par le MV.



Annexe 3. Arbres enracinés basés sur le gène COI avec les valeurs de support de branche. A gauche, l'arbre généré par l'IB. A droite, l'arbre généré par le MP. En bas, l'arbre généré par le MV.



**Annexe 4.** Arbres enracinés basés sur le gène EF-1α avec les valeurs de support de branche. A gauche, l'arbre généré par l'IB. A droite, l'arbre généré par le MP. En bas, l'arbre généré par le MV.



Annexe 5. Arbres enracinés basés sur le gène NaK avec les valeurs de support de branche. A gauche, l'arbre généré par l'IB. A droite, l'arbre généré par le MP. En bas, l'arbre généré par le MV.



Annexe 6. Arbres enracinés basés sur le gène Opsine avec les valeurs de support de branche. A gauche, l'arbre généré par l'IB. A droite, l'arbre généré par le MP. En bas, l'arbre généré par le MV.



Annexe 7. Arbres enracinés basés sur le gène Pol II avec les valeurs de support de branche. A gauche, l'arbre généré par l'IB. A droite, l'arbre généré par le MP. En bas, l'arbre généré par le MV.

Groupe déterminé		Groupe déterminé par CVA														
a priori		Dasy	vpoda		Groupes de comparaison											
	Dasypoda s. str.	Megadasypoda	Heterodasypoda	Microdasypoda	Samba	Capicola	Hesperapis	Eremaphanta	Afrodasypoda	Macropis	Promelitta					
Dasypoda s. str.	46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Megadasypoda	0	61	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Heterodasypoda	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0					
Microdasypoda	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0					
Samba	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0					
Capicola	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0					
Hesperapis	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0					
Eremaphanta	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0					
Afrodasypoda	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0					
Macropis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0					
Promelitta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5					

Annexe 8. Résultats du test d'assignement correspondant à l'analyse discriminante des sous-genres de Dasypoda et des groupes de comparaison.

Groupe déterminé	Groupe déterminé par CVA																				
a priori	Dalbim	Dalbip	Darg	Dbra	Dcin	Dcra	Ddus	Dhir	Dibe	Djap	Dmau	Dmor	Dora	Dpyri	Dpyro	Dsin	Dspi	Dsur	Dtub	Dvis	Dwar
Dalbim	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dalbip	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Darg	0	0	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dbra	0	0	0	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dcin	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dcra	0	0	0	0	0	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ddus	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dhir	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dibe	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Djap	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dmau	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dmor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dora	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Dpyri	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0
Dpyro	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Dsin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
Dspi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Dsur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
Dtub	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0
Dvis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Dwar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Annexe 9. Résultats du test d'assignement correspondant à l'analyse discriminante des espèces de Dasypoda.



Annexe 10. Dendrogrammes générés par les méthodes de groupements selon les liens complets et UPGMA. a-b. Analyse menée sur les *Dasypoda* et les groupes de comparaison. c-d. Analyse menée sur les quatre sous-genres de *Dasypoda*. e-f. Analyse menée sur les espèces de *Dasypoda*.