

UNIVERSITE DE MONS
FACULTE DES SCIENCES
LABORATOIRE DE ZOOLOGIE

**Phylogénie, biogéographie et évolution des choix floraux des
Macropidini (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae)**

Directeur de mémoire
Dr. Denis Michez

Mémoire de fin d'Etudes
Présenté par **Mathias Bouzin**
En vue de l'obtention du grade
de **Maître en Sciences Biologiques**

Année académique 2010-2011



Extrait de « C'est lui, c'est moi », LeChat, P. Geluck

Bouzin, M., 2011. *Phylogénie, biogéographie et évolution des choix floraux des Macropodini (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae)*, 77 p.

Résumé : Les Macropidini forment une tribu appartenant à la famille des Melittidae. La tribu regroupe trois genres contemporains, *Afrodasympoda*, *Promelitta* et *Macropis*, ainsi que deux genres fossiles, *Eomacropis* et *Paleomacropis*. L'originalité de cette tribu s'illustre dans le comportement alimentaire des *Macropis*. Ces abeilles présentent la particularité de collecter de l'huile sécrétée par un genre particulier de plantes, les lysimaques (Myrsinaceae). Actuellement, aucune phylogénie moléculaire regroupant l'ensemble des genres actuels n'a été publiée. La phylogénie des *Macropis* est également inconnue. De manière à combler ces lacunes, des analyses moléculaires basées sur quatre gènes (28S, Opsin, RNAP et EF-1 α) ont été effectuées sur un jeu de données comprenant un maximum d'espèces et recouvrant les trois genres.

D'autre part, la position systématique des fossiles au sein de la tribu n'est pas résolue. De plus, *Paleomelitta*, un genre fossile appartenant à la famille des Paleomelittidae, présente certaines ressemblances morphologiques avec les Macropidini, ce qui pourrait le convertir en un troisième genre fossile pour la tribu. Afin d'éclaircir ces différentes zones d'ombres, nous avons utilisé une méthode récente et performante, la morphométrie géométrique appliquée à la forme de l'aile.

Enfin, l'oligolectisme des *Macropis* sur le genre *Lysimachia* n'a été montré que par des observations de terrain. Nous avons procédé à des analyses microscopiques afin de confirmer ce comportement alimentaire.

Il en ressort que le genre *Afrodasympoda* est à la base des Macropidini, tandis que *Promelitta* et *Macropis* forment un groupe monophylétique. Le genre *Macropis* est un groupe qui s'est probablement diversifié rapidement et l'oligolectisme de ces abeilles est confirmé. La position systématique du genre *Paleomelitta* est redéfinie, le fossile s'avérant être un Macropidini. Nos résultats nous permettent de discuter de l'évolution des choix floraux au sein des Melittinae ainsi que de la biogéographie des Macropidini.

Mots-clés : Macropidini - *Paleomelitta* - Morphométrie géométrique - Biogéographie - Choix floraux

Remerciements

Je tiens à remercier via ces quelques mots celles et ceux qui ont rendu possible la réalisation de ce travail. Comme beaucoup d'ouvrages scientifiques, ce projet est le fruit d'une collaboration étroite, d'un échange d'idées à différents niveaux entre plusieurs personnes.

Je remercie chaleureusement le professeur Pierre RASMONT pour m'avoir accueilli au sein du service de Zoologie et m'avoir fourni la logistique nécessaire à l'élaboration de ce projet.

Ce mémoire doit sans doute plus à Denis MICHEZ qu'à moi-même. Je ne lui serai jamais assez reconnaissant pour m'avoir initié à la cause des Macropidini, pour m'avoir sans cesse épaulé durant l'année écoulée. Je n'oublie pas non plus ses précieux conseils lors des moments cruciaux de ce cursus de cinq années.

Un grand merci à David G. NOTTON du Département d'Entomologie du Musée d'Histoires Naturelles de Londres pour m'avoir généreusement prêté une partie de son matériel de collection.

Je remercie particulièrement Thibaut DE MEULEMEESTER et Thomas LECOCQ pour leurs aides techniques concernant la manipulation des différents logiciels, ainsi que les autres membres du laboratoire pour leurs nombreux conseils.

Cette année n'aurait surement pas été si joyeuse sans la complicité des camarades de classe, Gaëlle CARRAUX, Elodie LEQUEU, Romain MOERMAN, Gaëtan PALMERI, ainsi que les visites pour « l'heure du thé » d'Arthur DANHIEZ et Thomas LECLERCQ. Je salue également tous les biologistes de ma promotion, avec un clin d'œil particulier à Bud et Kaibeuth.

Si ces cinq années d'études devaient porter un nom, elles s'appelleraient Kaouthar. Merci à toi, niña.

« Merci » est un mot bien trop simple que pour le destiner à mes proches ; il n'existe pas de terme approprié pour exprimer la reconnaissance que je leur dois.

Je remercie sincèrement les membres du jury pour la lecture de ce travail.

Enfin, que toutes les personnes qui n'ont pas été citées et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail sachent que je les remercie chaleureusement.

Table des matières

1. Introduction	7
1.1. Systématique des abeilles	8
1.2. La famille des Melittidae	12
1.2.1. Phylogénie.....	12
1.2.2. Biologie	13
1.2.3. La tribu des Macropidini	14
1.2.3.1. Paléontologie.....	15
<u>1.2.3.1.1. <i>Eomacropis glaesaria</i> Engel 2001</u>	15
<u>1.2.3.1.2. <i>Paleomacropis eocenicus</i> Michez 2007</u>	15
1.2.3.2. Néontologie	17
<u>1.2.3.2.1. <i>Macropis</i> Panzer 1809</u>	17
<u>1.2.3.2.2. <i>Afrodasyпода</i> Engel 2005</u>	18
<u>1.2.3.2.3. <i>Promelitta</i> Warncke 1977</u>	18
1.2.4. <i>Paleomelitta nigripennis</i>	19
1.3. Evolution des choix floraux	20
1.3.1. Oligolectisme vs polylectisme.....	20
1.3.2. Les abeilles récolteuses d'huile	21
1.3.2.1. Les abeilles.....	21
1.3.2.2. La plante	21
1.3.2.3. Variabilité et évolution du système <i>Lysimachia/Macropis</i>	22
1.4. Morphométrie géométrique	24
1.4.1. Aperçu	24
1.4.2. Définition et typologie des <i>Landmarks</i>	25
1.4.3. Morphométrie géométrique appliquée aux ailes	25
1.5. Objectifs.....	26
2. Matériel et méthode	27
2.1. Morphométrie géométrique	27
2.1.1. Matériel.....	27
2.1.2. Méthode.....	29
2.1.2.1. Photographie de l'aile	29
2.1.2.2. Positionnement des <i>landmarks</i>	30
2.1.2.3. Analyses statistiques	32
2.2. Phylogénie moléculaire.....	34

2.2.1. Matériel.....	34
2.2.2. Méthode.....	35
2.2.2.1. Extraction de l'ADN.....	35
2.2.2.2. Gènes amplifiés.....	36
2.2.2.3. PCR.....	37
2.2.2.4. Séquençage.....	38
2.2.2.5. Analyses phylogénétiques.....	39
2.3. Analyses palynologiques.....	41
3. Résultats	42
3.1. Morphométrie géométrique.....	42
3.1.1. <i>Relative warps analysis</i>	42
3.1.2. Histogramme.....	46
3.1.3. Dendrogramme.....	46
3.2. Phylogénie moléculaire.....	49
3.3. Palynologie.....	53
4. Discussion	54
4.1. Méthode de phylogénie moléculaire.....	54
4.2. Morphométrie géométrique <i>vs</i> phylogénie moléculaire.....	55
4.3. Systématique des Macropidini.....	57
4.3.1. <i>Eomacropis glaesaria</i>	57
4.3.2. <i>Paleomacropis eocenicus</i>	58
4.3.3. <i>Paleomelitta nigripennis</i>	58
4.4. Origines multiples des structures adaptées à la collecte d'huile.....	59
4.5. Biogéographie des Macropidini.....	61
4.5.1. La transition Afrique-Eurasie.....	61
4.5.2. Connexions Paléarctique-Néarctique au début du Tertiaire.....	61
4.5.3. Apparition et dispersion du genre <i>Macropis</i>	63
4.5. Oligolectisme des <i>Macropis</i>	65
5. Conclusion	66
6. Perspectives	67
7. Bibliographie	68

1. Introduction

L'entomologie est une science qui passionne les hommes depuis des millénaires. Bien qu'abritant des domaines aussi diversifiés que complexes, l'étude des insectes fut souvent matérialisée par l'abeille domestique *Apis mellifera* L. Son intime relation avec l'homme remonte à la genèse de notre civilisation, où l'homme exerçait sa dextérité primitive en représentant la récolte du miel (Fig1). Plus tard, ce lien se renforça par la domestication de l'abeille par les Egyptiens, et les premières études virent le jour. Ainsi, Aristote fut le premier à décrire l'organisation d'une ruche dans *Histoire des animaux* (d'Aguillar, 2006). Plus tard, au XVII^{ème} siècle, l'abeille mellifère fut l'un des premiers insectes examinés et décrit au microscope par Frederigo Cesi.

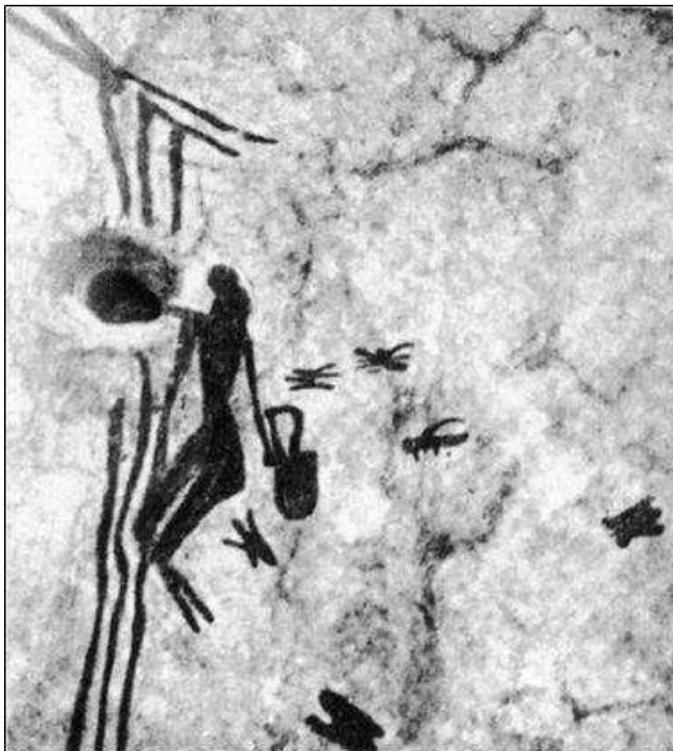


Figure 1. Peinture néolithique rupestre de la Cueva de la Araña (Valence, Espagne ; -5000 av. J.-C.) représentant la "cueillette" du miel par une silhouette féminine.

Cependant, d'autres raisons ont conduit l'homme à s'intéresser aux abeilles. En effet, au-delà de leurs apports culinaires, ces dernières jouent un rôle crucial dans la pollinisation des plantes à fleurs. Les marchés liés à la production des fruits et légumes sont directement dépendants de l'activité pollinisatrice des abeilles, à tel point que leur impact économique a été estimé à 153 milliards d'euros (Gallai *et al.*, 2009). Il en ressort de cet intérêt croissant que les abeilles renferment une diversité et une complexité dans plusieurs aspects de leur biologie qui sont restées longtemps insoupçonnées.

1.1. Systématique des abeilles

L'étude systématique est une étape pionnière lorsque l'on s'intéresse au vivant. Il est en effet essentiel de connaître le groupe auquel se rattache le taxon que l'on étudie. Cette science est complémentaire de la phylogénie, qui étudie les relations entre les groupes définis par la systématique. Aristote et sa *Scala Naturae* montrait déjà la volonté de classer, d'ordonner le monde vivant. Au fil du temps, cette discipline s'est développée selon plusieurs courants, souvent influencés par les idéologies religieuses du moment. De nos jours, les progrès accomplis dans le domaine de la biologie moléculaire ont permis de définir une nouvelle ligne de conduite en matière d'analyses systématiques. Il devient dès lors intéressant de se servir de ces nouvelles techniques afin de redéfinir les relations partagées par l'ensemble des organismes qui nous entourent.

Qu'est-ce qu'une abeille ?

L'ensemble des abeilles appartient à la superfamille des Apoïdea, au groupe des Aculéates, au sous-ordre des Apocrites et à l'ordre des Hyménoptères. Michener (2007) estime le nombre actuel d'abeilles dans le monde à 17.000 espèces réparties dans 1.200 genres. La plupart des abeilles sont solitaires, tandis qu'une minorité affiche des degrés plus ou moins élevés de socialisation.

Les abeilles se retrouvent sur l'ensemble des continents, excepté l'Antarctique (Michener, 1979 ; Roubik, 1989). Le plus grand nombre d'espèces se rencontre dans les régions xériques et tempérées (Michener, 1979 ; Ayala *et al.*, 1993). Les abeilles sont phytophages, elles se nourrissent de nectar et récoltent du pollen pour nourrir leurs larves. Leur apparition durant le mi-crétacé (~ 110 millions d'années) ainsi que leur diversification sont étroitement liées à l'essor des angiospermes (Soltis *et al.*, 2005).

Histoire de la systématique des abeilles

Reflétant la complexité de ce groupe, la systématique des abeilles a connu plusieurs changements, et englobe aujourd'hui encore de nombreuses zones d'ombres.

Une première approche est proposée en 1802 par Latreille. *Apis mellifera* y occupe une position centrale. Tout au long du XIXème et XXème, l'abeille domestique maintient un statut de supériorité au sein de la classification.

Michener (1944) publie la première classification moderne (Fig.2). L'abeille domestique y conserve toujours une position élevée. Cette classification se base sur l'étude morphologique de la langue, aussi appelée glosse, et il en ressort que les Colletidae, abeilles à langue courte, occupent une position basale. Cette position se justifie par les similitudes morphologiques de la glosse entre les Colletidae et les Sphecidae, abeilles fouisseuses ancestrales. Les abeilles à langue longue sont considérées comme évoluées, et les Melittidae *s.l.* représentent un groupe intermédiaire entre le caractère primitif et le caractère évolué.

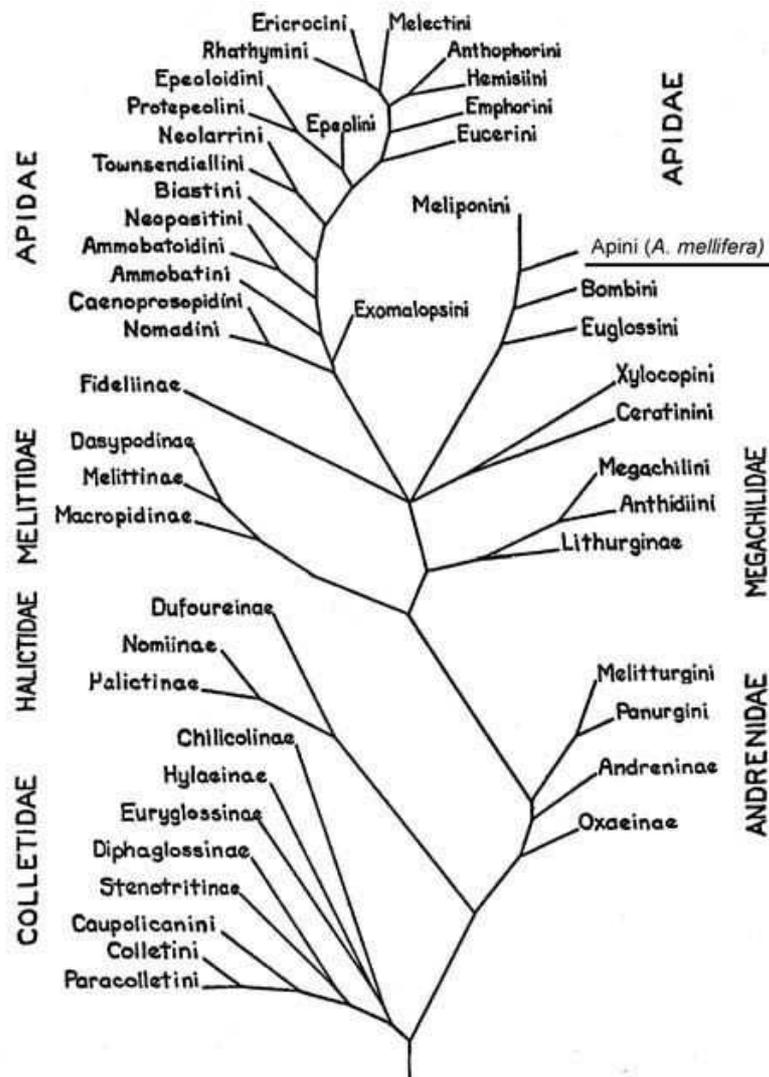


Figure 2. Phylogénie des Apoidea Apiformes basée sur la morphologie des adultes (d'après Michener, 1944).

Danforth *et al.* (2006a, b) publient une classification basée sur des caractères morphologiques et moléculaires. Cette dernière bouleverse les théories dominantes concernant l'évolution des abeilles. Les abeilles à langue courte ne sont plus considérées comme ancestrales (Danforth *et al.*, 2006a, b) ; les caractéristiques de la glosse seraient dues à une convergence évolutive. Les Melittidae *s.l.* se retrouvent à présent à la base des Apoïdes Apiformes, et leurs caractéristiques permettent de formuler des hypothèses concernant l'apparition et l'évolution de caractères tels que les choix floraux.

Systématique actuelle

Il est actuellement reconnu que les Apoïdes Apiformes forment un groupe monophylétique, dont les caractères communs ancestraux sont la présence de poils plumeux, le régime alimentaire phytophage, le basitarse postérieur élargi ou encore la plaque basitibiale (Alexander, 1992 ; Michener *et al.*, 1994 ; Michener, 2000). La classification actuelle dénombre sept familles : Andrenidae, Colletidae, Halictidae, Melittidae *s.l.* et Stenotritidae, à langue courte, ainsi qu'Apidae et Megachilidae, à langue longue. Suite à des études récentes basées notamment sur une étude plus fine de la structure de la glosse, la classification des abeilles se retrouve remodelée (Fig.3) (Rozen & McGinley, 1974; Michener & Greenberg, 1980; Michener, 1981; Radchenko & Pesenko, 1994; Alexander, 1992; Roig-Alsina & Michener, 1993; Alexander & Michener, 1995).

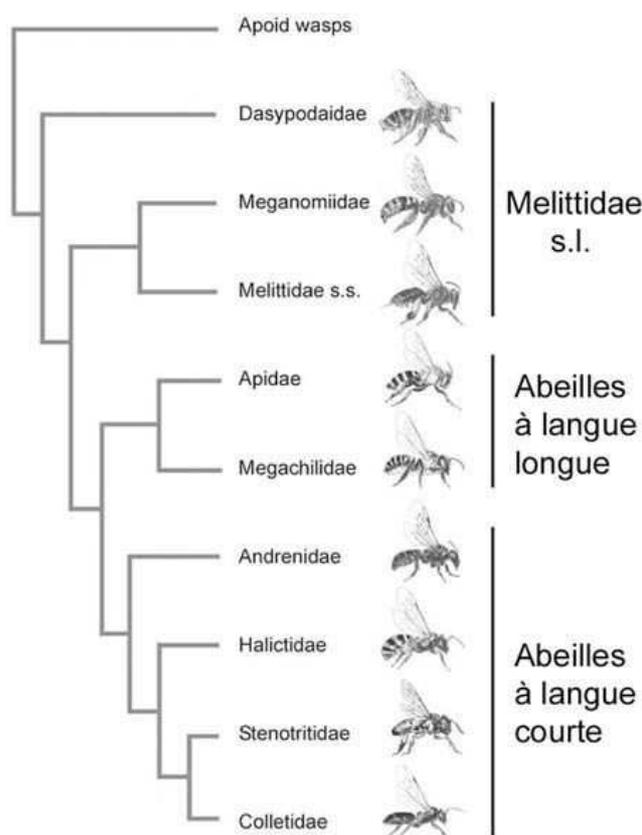


Figure 3. Phylogénie des Apoidea Apiformes basée sur la morphologie des adultes et le séquençage de 5 gènes (d'après Danforth *et al.* 2006b).

Les abeilles à langue courte dériveraient d'un groupe paraphylétique formé par les Melittidae *s.l.* et les abeilles à langue longue. La structure de la glosse bifide des Colletidae ne serait pas une plésiomorphie partagée avec les sphécides, mais plutôt une convergence évolutive. L'abeille domestique, longtemps considérée comme « supérieure », se fonde à présent dans le clade. La position basale des Melittidae *s.l.* propose de nouvelles hypothèses concernant la genèse des abeilles. En effet, les Melittidae *s.l.* semblent être originaires d'Afrique et sont majoritairement spécialistes. L'ancêtre des abeilles serait donc spécialiste et proviendrait d'Afrique. Cette théorie, dite des « Melittidae basaux », a été fortement consolidée par Danforth *et al.* (2006a, b), qui s'est appuyé sur des arguments morphologiques et moléculaires. L'intérêt d'étudier les Melittidae *s.l.* prend à présent une tout autre dimension.

1.2. La famille des Melittidae

1.2.1. Phylogénie

Le statut des trois familles des Melittidae *s.l.* est controversé (Michez *et al.*, 2009b). Certaines études soutiennent la monophylie des Melittidae (Engel, 2001), considérant alors les trois sous-familles Dasypodainae, Meganomiidae et Melittinae. D'autres études défendent la paraphylie des Melittidae *s.l.* (Alexander & Michener, 1995 ; Danforth *et al.*, 2006). Dans ce cas, trois familles sont considérées : Dasypodaidae, Meganomiidae et Melittidae *s.str.*. Face à ces incertitudes, j'utiliserai dans ce travail la « terminologie » traditionnellement reconnue, qui est de considérer les trois sous-familles (Michez *et al.*, 2009b). Une étude récente basée sur des données morphologiques et moléculaires (Michez *et al.*, 2009b) définit les statuts de tribu au sein des Melittidae (Fig.4).

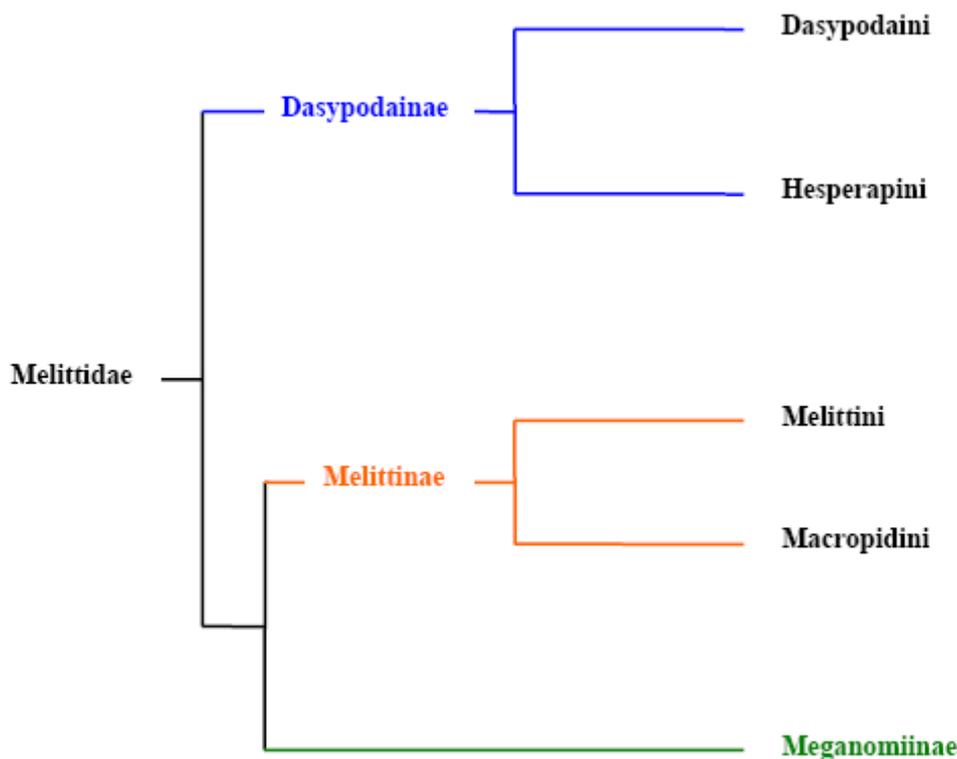


Figure 4. Phylogénie des sous-familles et des tribus de Melittidae, obtenue par maximum de vraisemblance et par méthodes Bayésiennes (d'après Michez *et al.*, 2009b).

1.2.2. Biologie

Il s'agit d'un des plus petits groupes parmi les sept reconnus¹, comptant 200 espèces décrites, réparties en 16 genres (Michez, 2007 ; Michez *et al.*, 2009b). A l'instar de la majorité des abeilles, les Melittidae sont solitaires. En fait, seules les familles des Apidae et des Halictidae renferment des abeilles au comportement social (Michener, 2007). La famille des Melittidae *s.l.* est majoritairement composée d'individus oligolectiques (Michez *et al.* 2004, 2007a ; Michez & Patiny, 2005, 2006). Ces abeilles sont univoltines et nichent exclusivement dans le sol (Fig.5). Elles se retrouvent dans les régions tempérées, xériques et méditerranéennes de l'Ancien Monde et du Néarctique (Michener, 1979 ; Michez *et al.*, 2009b). Leur taille varie selon les groupes : les représentants du genre *Macropis* sont petits et glabres (Michez & Patiny, 2005 ; Michez, 2007), tandis que ceux du genre *Dasypoda* sont robustes et velus (Michez, 2007).

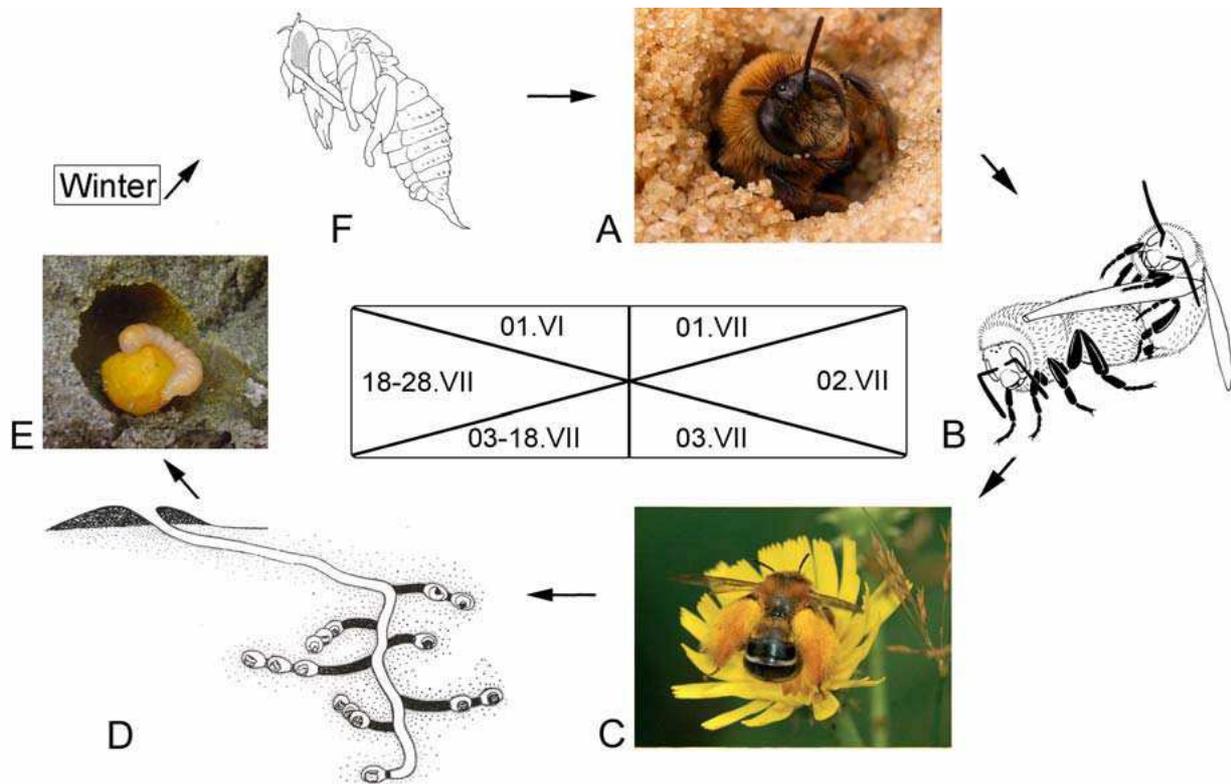


Figure 5. Cycle du développement d'un Melittidae *s.l.*. **A.** Emergence d'une femelle de *Dasypoda hirtipes* (photo N.J. Vereecken). **B.** Abeilles copulant (dessin M. Terzo). **C.** *D. hirtipes* récoltant du pollen sur *Hypochoeris radicata* L. (photo N.J. Vereecken). **D.** Nid de *Dasypoda braccata* (d'après Radchenko, 1987). **E.** Larve de *D. hirtipes* (photo M. Gosselin) **F.** Puppe de *Hesperapis trochanterata* (d'après Rozen, 1987).

¹ Le plus petit groupe étant la famille des Stenotritidae

1.2.3. La tribu des Macropidini

Le terme “Macropidini” fut défini par Robertson en 1904 et désignait alors la sous-famille (avec le suffixe « -inae ») comprenant le genre *Macropis*. Engel (2001) y ajoute à la sous-famille le genre fossile *Eomacropis*. Michez *et al.* (2007b) annexent un nouveau genre, également fossile, *Paleomacropis*. Récemment, une révision phylogénétique basée sur des arguments morphologiques et moléculaires définit le statut actuel de la tribu des Macropidini (Michez *et al.*, 2009b). Elle appartient à la sous-famille des Melittinae.

Sur base de ces travaux, l’hypothèse phylogénétique concernant la tribu des Macropidini est représentée à la figure 6. Cependant, cette phylogénie a été réalisée à partir d’un échantillonnage où les données moléculaires d’*Afrodasyroda plumipes* sont manquantes. De plus, seules trois espèces du genre *Macropis* (*M. nuda*, *M. europaea* et *M. fulvipes*) ont été incluses dans le jeu de données.

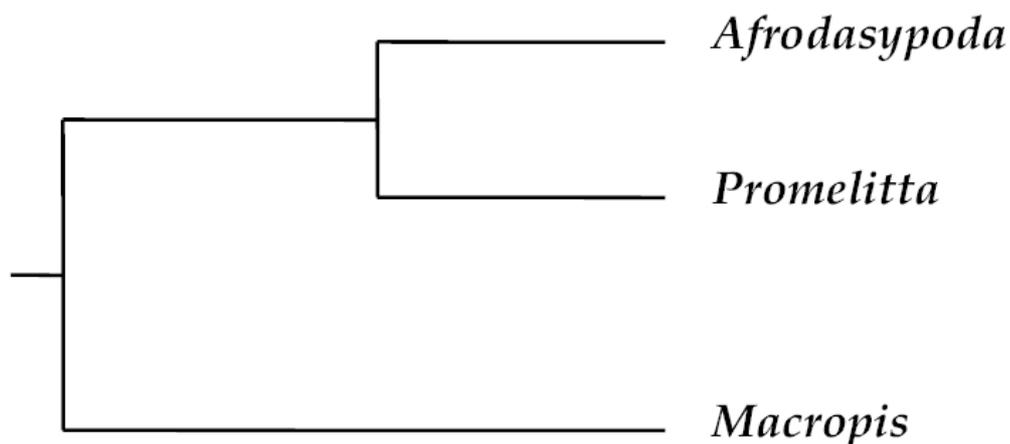


Figure 6 : Phylogénie de la tribu des Macropidini, d’après Michez *et al.* (2009).

La tribu comprend 20 espèces réparties en cinq genres : *Afrodasyroda*, *Macropis* et *Promelitta*, contemporains ; ainsi qu’*Eomacropis* et *Paleomacropis*, genres fossiles.

Le clypeus des mâles est maculé de blanc ou de jaune. L’aile comprend deux cellules cubitales, contrairement à la plupart des autres melittides. L’apex de la cellule marginale est pointu. Le gonostyle des mâles est long et flexible, articulé ou soudé au gonocoxite. Les Macropidini se retrouvent dans l’aire Holarctique et en Afrique (Michez *et al.*, 2009b).

1.2.3.1. Paléontologie

Deux fossiles ont récemment été décrits comme appartenant à la tribu des Macropidini (Michez *et al.*, 2009b) avec lesquels ils partagent certaines caractéristiques, telles que la présence de deux cellules cubitales. La position phylogénétique de ces fossiles est inconnue.

1.2.3.1.1. *Eomacropis glaesaria* Engel 2001

Le spécimen correspond à une femelle retrouvée dans de l'ambre de la Baltique et date de 45 millions d'années.

Le genre *Eomacropis* fut dans un premier temps placé dans une tribu spécialement créée pour lui, Eomacropidini (Engel, 2001) en raison de l'absence complète de structures adaptées à la collecte d'huile. Suite à des analyses morphologiques, Michez *et al.* (2009b) replacent le fossile dans la tribu des Macropidini. Il est possible qu'*Eomacropis glaesaria* présentait un régime oligectique. En effet, la femelle étudiée présente une glosse d'une longueur atypique, caractéristique qui pourrait être une adaptation à une plante hôte spécifique.

Son environnement était probablement similaire aux forêts de pins que l'on peut retrouver au sud de la côte est des Etats-Unis. A faible altitude, on retrouvait une forêt mélangée de pins et palmiers, associée à un climat paratropical. Certaines zones étaient plus ouvertes et comprenaient des habitats variés (Weitschat & Wichard, 2010 ; Michez *et al.*, sous presse).

1.2.3.1.2. *Paleomacropis eocenicus* Michez 2007

Le spécimen correspond à une femelle retrouvée dans de l'ambre de l'Oise et date de 53 millions d'années (Fig.7A).

Paleomacropis eocenicus est décrit comme appartenant aux melittides, avec lesquelles il partage les caractéristiques suivantes : langue courte, coxa médian complètement exposé, absence de foveae faciaux ou de sutures subantennaires paires, lobe jugal plus court que le lobe vannal (Michez *et al.*, 2007b). En suivant les descriptions des sous-familles de Melittidae d'Engel (2001), ce fossile s'apparente aux Macropidini. Il diffère des *Macropis* par l'absence de denses soies plumeuses sur chaque côté du protarse, et des genres *Macropis* et *Eomacropis* par des soies du trochanter courbées et par l'absence de plaque basitibiale.

Paleomacropis eocenicus est caractérisé par des soies plumeuses denses sur les surfaces internes et externes du mesobasitarse (Fig.7B) ainsi que par de longues soies dressées sur le metasome. Ces caractéristiques se retrouvent également chez les *Macropis*, et pourraient être liées à la collecte d'huile. Cette hypothèse est d'autant plus plausible qu'il existait déjà depuis l'Eocène des plantes productrices d'huile, telles que les Malpighiaceae (Davis *et al.*, 2002).

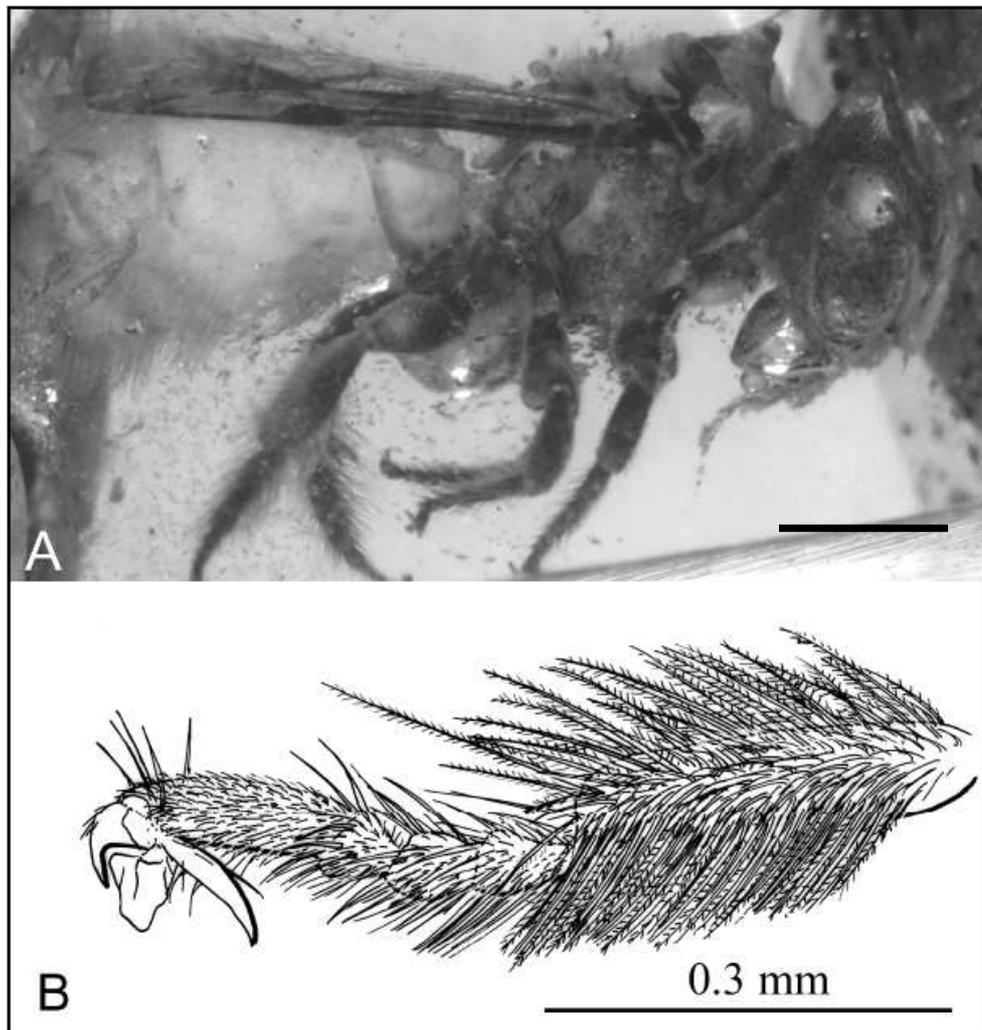


Figure 7. A. Femelle de *Paleomacropis eocenicus* retrouvée dans un gisement d'ambre, dans l'Oise (France). B. Détail des soies sur les surfaces internes et externes du mesobasitarse, structures apparentées à la collecte d'huile. (Illustrations d'après Michez *et al.*, 2007b).

L'environnement de *Paleomacropis eocenicus* était probablement constitué d'une forêt semi-déciduée, associée à des habitats plus secs (De Franceschi & De Ploëg, 2003).

1.2.3.2. Néontologie

Le genre *Macropis* est le plus représenté parmi les Macropidini ; on dénombre 16 espèces appartenant à ce genre contre une espèce pour les genres *Afrodasyopoda* et *Promelitta*.

1.2.3.2.1. *Macropis* Panzer 1809

Le genre *Macropis* se caractérise par la présence de marques jaunes sur le clypéus des individus mâles, ainsi que par le développement remarquable de la plaque pygidiale. Cependant, l'aspect le plus saillant de ce genre concerne ses choix floraux : les *Macropis* sont spécialisés sur le genre *Lysimachia* L. 1753 (Cane *et al.*, 1983; Rozen & Jacobson, 1980; Vogel, 1976; Michez & Patiny, 2005; Renner & Schaefer, 2010). Ces plantes, appartenant à la famille des Myrsinaceae, ont la particularité de produire non pas du nectar, mais de l'huile. Cette huile, collectée par les *Macropis*, est utilisée pour imperméabiliser les conduits du nid, tapisser les cellules et, mélangée au pollen, constitue le régime alimentaire des larves. Chez d'autres abeilles, les sécrétions de la glande de Dufour sont utilisées pour le tapissage des cellules et imperméabiliser le nid. Chez les *Macropis*, cette glande est atrophiée, ces dernières utilisant exclusivement l'huile produite par les élaïophores des lysimaques. Pour leur alimentation propre, les adultes visitent d'autres plantes afin de s'approvisionner en nectar (Buchmann, 1987; Pekkarinen *et al.*, 2003 ; Celary, 2004; Michez & Patiny, 2005).

Les *Macropis* ont une distribution holarctique, on les retrouve dans des milieux tempérés. Les 16 espèces de *Macropis* sont réparties en trois sous-genres : *Macropis s.str.*, *Paramacropis* Popov & Guiglia 1936 et *Sinomacropis* Michener 1981, contenant respectivement dix, une et cinq espèces. Le sud-est asiatique est la région du monde affichant la plus grande diversité, les trois sous-genres y étant représentés. L'Ouest-Paléarctique et le Néarctique n'abritent qu'un seul sous-genre, *Macropis s.str.*.

La distribution peut être résumée de la manière suivante : deux espèces sont présentes dans l'ouest paléarctique (Warncke, 1973) : *M. europaea* Warncke 1973 et *M. frivaldszkyi* Mocsary 1878. *M. fulvipes* (Fabricius 1805) est présente dans toute l'Eurasie (Pekkarinen *et al.*, 2003) ainsi que dans le nord de l'Afrique (Michez & Patiny, 2005). Quatre espèces sont répertoriées dans le nord de l'Amérique (Snelling & Stage, 1995) : *M. ciliata* Patton 1880, *M. nuda* (Provancher 1882), *M. patellata* Patton 1880 et *M. steironematis* Robertson 1891. Dans l'Est-Paléarctique, Yasumatsu & Hirashima (1956) recensent deux espèces au Japon : *M. tibialis* Yasumatsu &

Hirashima 1956 et *M. dimidiata* Yasumatsu & Hirashima 1956. En chine, Wu (2000) relève 7 espèces : *M. dimidiata* Yasumatsu & Hirashima 1956, *M. hedini* Alfken 1936, *M. immaculata* Wu 1965, *M. kiangsuensis* Wu 1978, *M. micheneri* Wu 1992, *M. omeiensis* Wu 1965 et *M. ussuriana* (Popov 1936). Récemment, une nouvelle espèce est décrite au Laos, *M. orientalis* Michez & Patiny 2005 (Michez & Patiny, 2005).

1.2.3.2.2. *Afrodasyopoda* Engel 2005

Ce genre ne compte qu'une seule espèce, *A. plumipes* (Friese 1912). La rareté de cette espèce justifie le peu de connaissance concernant sa biologie. Elle se retrouve dans le sud de l'Afrique, au nord-ouest de la province du cap. *A. plumipes* fréquente des milieux xériques et butinerait exclusivement des représentants de la famille des Asteraceae (Michez, commentaire personnel).

A. plumipes occupe probablement une position basale dans la tribu des Macropidini (Michez *et al.*, 2009b).

1.2.3.2.3. *Promelitta* Warncke 1977

A l'instar du genre *Afrodasyopoda*, *Promelitta* ne comprend qu'une espèce, *P. alboclypeata* (Friese 1900). Les caractéristiques morphologiques de cette espèce sont les suivantes (Michez *et al.*, 2007c) : longueur du lobe jugal correspond environ à la moitié de celle du lobe vannal ; le tergite metasomal présente des bandes de soie à sa base tandis que l'apex est glabre ; chez les mâles, le clypeus est maculé de blanc.

P. alboclypeata se rencontre dans le nord de l'Afrique. Sa distribution est constituée de deux populations assez éloignées, localisées au Maroc et à la frontière égypto-soudanaise. Au Maroc, ces abeilles fréquentent des milieux xériques et sub-sahariens. Cette espèce semble être polylectique. Des analyses palynologiques ont montré que l'abeille visite les familles des Resedaceae et Brassicaceae (Michez, données non publiées). En outre, un mâle a été collecté sur une représentante de la famille des Convolvulaceae (Michez *et al.*, 2007c).

1.2.4. *Paleomelitta nigripennis*

Paleomelitta nigripennis Engel 2001 est un fossile découvert dans l'ambre de la Baltique (-45 millions d'années) décrit par Engel en 2001. Cette abeille à langue courte occupe une position systématique incertaine (Fig.8). L'auteur le distingue des Melittidae en raison du lobe jugal allongé. Cependant, *P. nigripennis* possède le mesocoxa complètement exposé, caractéristique typique des Melittidae et des abeilles à langue longue. De ce fait, ce fossile est plus proche des Melittidae que des autres familles d'abeilles à langue courte, et pourrait être considéré comme étant la sous-famille basale des Melittidae. En outre, l'aile de *P. nigripennis* comptant 2 cellules cubitales, il pourrait exister un lien entre ce fossile et les Macropidini.

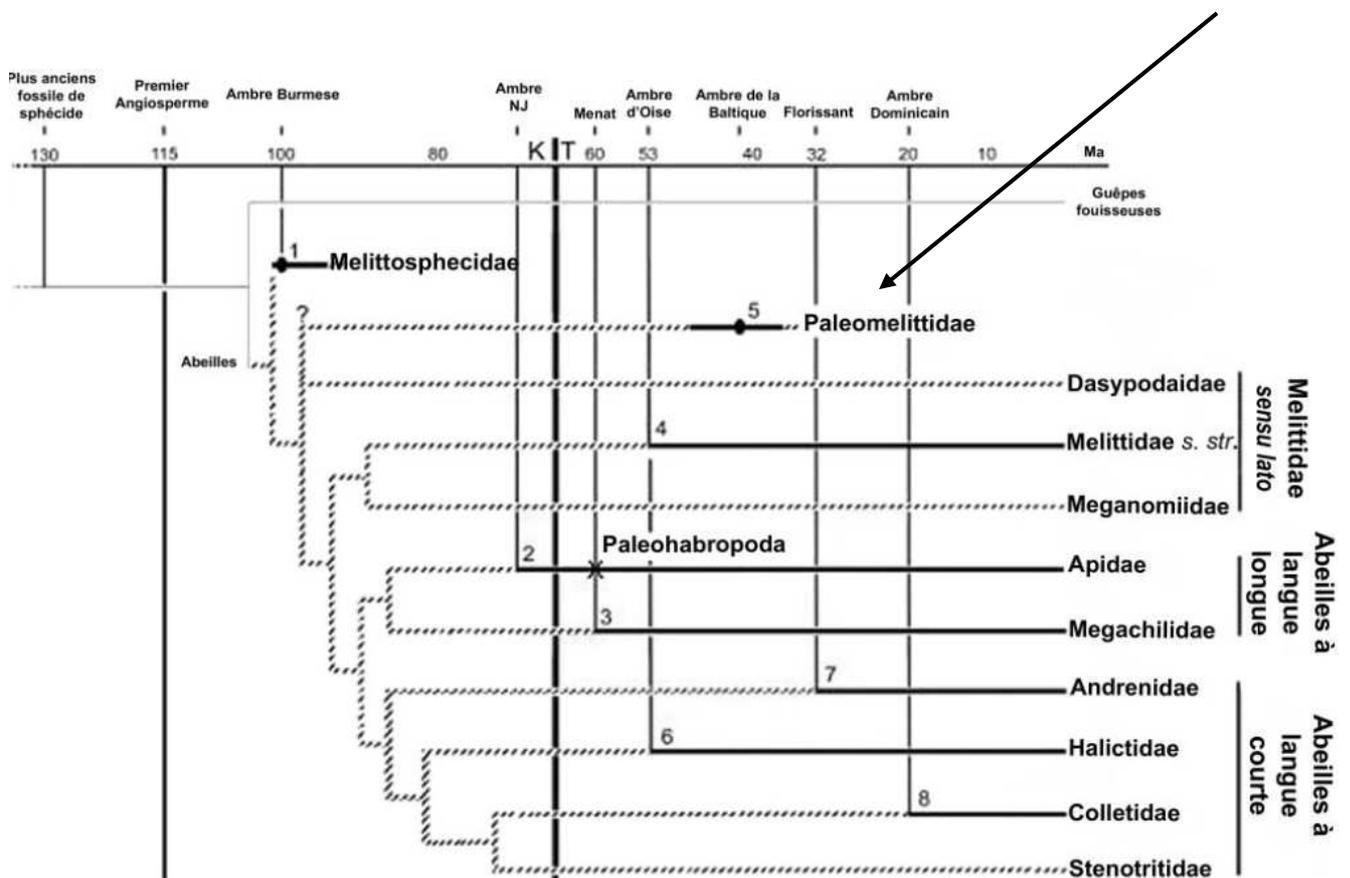


Figure 8. Position systématique de *Paleomelitta nigripennis* (d'après Michez *et al.*, 2009a).

1.3. Evolution des choix floraux

1.3.1. Oligolectisme vs polylectisme

Les Angiospermes représentent le groupe le plus diversifié parmi les métaphytes (Soltis & Soltis, 2004). La plus grande majorité des angiospermes dépendent des insectes pour leur reproduction. Les insectes pollinisateurs étant phytophages, ceux-ci sont également tributaires des ressources alimentaires octroyées par les angiospermes. Ce mutualisme a tracé les contours d'une évolution mutuelle entre les angiospermes et leurs pollinisateurs, et ce, depuis l'émergence des plantes à fleurs à l'aube du Crétacé (Soltis *et al.*, 2005). Les ressources alimentaires fournies par la fleur peuvent être utilisées à différents moments de la vie de l'insecte. Chez les Vespidae, par exemple, les adultes sont phytophages tandis que les larves sont carnivores (Chinery, 2005). Les abeilles se nourrissent de pollen et de nectar aussi bien durant leur stade larvaire que durant leur stade adulte. Pour cette raison, elles représentent le groupe de pollinisateurs le plus important (Praz *et al.*, 2008b). Probablement apparues durant le Crétacé (Danforth *et al.*, 2004), les abeilles partagent une longue histoire évolutive avec les Angiospermes.

Selon les définitions proposées par Müller & Kuhlmann (2008), certaines espèces sont oligolectiques, c'est-à-dire qu'elles ne visitent qu'un nombre restreint de plantes. Au contraire, les espèces polylectiques butinent sur une grande variété de plantes. Tandis que le polylectisme réduit la dépendance des abeilles vis-à-vis d'un nombre limité de plantes hôtes (Moldenke, 1975 ; Eickwort & Ginsberg, 1980), l'oligolectisme s'expliquerait comme une adaptation face à la nécessité d'optimiser les capacités de récolte. En effet, les abeilles spécialistes collectent le pollen de manière plus rapide et plus efficace que les abeilles généralistes. La plupart des abeilles oligolectiques sont solitaires et présentent un cycle de vie éphémère ; leur défi consiste par conséquent à collecter un maximum de nutriments dans un intervalle de temps restreint. Il semble donc que l'oligolectisme confère à l'abeille un avantage en terme de potentiel reproducteur, ce qui se traduit par l'approvisionnement d'un plus grand nombre de cellules larvaires par unité de temps (Lovell, 1912, 1913, 1914 ; Heinrich, 1976 ; Strickler, 1979).

Malgré qu'il ait existé des transitions d'un état polylectique vers un état oligolectique, comme par exemple chez le genre *Lasioglossum* (Halictidae) (Danforth *et al.*, 2003), l'hypothèse actuelle indique que l'oligolectisme semble être un caractère plésiomorphe. Cette hypothèse se confirme chez les Melittidae, famille basale où l'on retrouve essentiellement des espèces oligolectiques (Danforth *et al.*, 2006a, b ; Michez *et al.*, 2008).

1.3.2. Les abeilles récolteuses d'huile

1.3.2.1. Les abeilles

Bien qu'il soit traditionnellement admis que le pollen et/ou le nectar constituent les uniques productions florales destinées aux insectes, la fleur sécrète néanmoins d'autres substances qui sont exploitées par les visiteurs, telles que des lipides ou des cires (Buchmann, 1987). Plusieurs genres d'abeilles se sont spécialisés sur la collecte d'huile produite par les élaïophores de plantes particulières. Ces genres se retrouvent dans deux familles : les Melittidae et les Apidae. Ces abeilles récolteuses d'huile se retrouvent dans l'Ancien et le Nouveau monde, mais la diversité la plus importante est enregistrée dans les régions tropicales et subtropicales de l'Amérique du Nord et du Sud (Buchmann, 1987). Chez les Melittidae, on dénombre deux genres récolteurs d'huile : *Rediviva*, abeille du sud de l'Afrique et récolteuse d'huile sur plusieurs familles de plantes (Renner & Schaefer, 2010), et *Macropis*, à distribution holarctique et spécialiste sur le genre *Lysimachia* (Myrsinaceae).

Contrairement à beaucoup d'abeilles spécialistes qui n'affichent pas d'adaptations morphologiques particulières, comme par exemple les spécialistes sur Asteraceae, la spécialisation sur les plantes à huile nécessite des adaptations morphologiques assez élevées (Vogel, 1974; Cane *et al.*, 1983; Buchmann, 1987; Michez & Patiny, 2005). Ces modifications se traduisent généralement au niveau de la structure cuticulaire ainsi que celle des soies. Les *Macropis*, par exemple, possèdent au niveau des tarse des pattes médianes et antérieures, un duvet de soies spatulées associé à des soies serrées à la manière des poils d'un feutre. L'huile est collectée principalement par l'action capillaire alors que les pattes sont apprimées aux élaïophores de la fleur de lysimaque (Vogel, 1986).

1.3.2.2. La plante

Le genre *Lysimachia* L. 1753, qui comporte 191 espèces, était anciennement inclus dans la famille des Primulaceae (Cronquist, 1981 ; Takhtajan, 1997). Suite à de récentes études moléculaires, le genre est à présent classé dans la famille des Myrsinaceae (Anderberg & Ståhl, 1995 ; Anderberg *et al.*, 1998, 2002, 2007 ; Källersjö *et al.*, 2000, Hao *et al.*, 2004). La plupart des espèces se rencontrent dans les régions tempérées et subtropicales de l'hémisphère nord. Quelques espèces sont représentées dans le sud de l'Amérique et de l'Afrique (Hao *et al.*, 2004). Le maximum de diversité du genre *Lysimachia* se retrouve en Asie, dans la région du sud-ouest de la Chine

(Hu, 1994 ; Hu & Kelso, 1996), tout comme pour le genre *Macropis*. La plus ancienne trace du genre *Lysimachia* consiste en des graines retrouvées dans le Jutland, au Danemark (Hao *et al.*, 2004). Renner & Schaefer (2010) estiment la datation approximative de ce fossile allant de 28 à 53 Ma. 78 espèces de ce genre sont productrices d'huile (Vogel, 1986), et leur distribution coïncide, à quelques exceptions près², avec la distribution des *Macropis*. Leurs fleurs sont jaunes et possèdent des élaïophores trichomatiques. En Europe occidentale, on y retrouve *Lysimachia vulgaris*, *L. nummularia* et *L. punctata*. Hormis aux U.S.A., ces plantes à huile sont visitées par une étroite guildes d'abeilles, dont les plus dépendantes et probablement les pollinisateurs les plus efficaces sont les abeilles du genre *Macropis* (Buchmann, 1987). Cependant, la relation entre les lysimaques et les *Macropis* n'est pas mutuellement dépendante. En effet, si les *Macropis* nécessitent l'huile de lysimaque pour nourrir leurs larves, les lysimaques peuvent assurer leur reproduction au moyen (i) de propagations végétatives, (ii) de possibles autogamies et/ou (iii) de pollinisateurs généralistes, tels que les Halictidae (Cane *et al.*, 1983).

1.3.2.3. Variabilité et évolution du système *Lysimachia/Macropis*

Comme déjà cité au point 1.2.3.2.1 et ci-dessus, les *Macropis* sont oligolectiques sur le genre *Lysimachia*. Cependant, il existe une différence dans le choix du sous-genre entre les espèces américaines et les espèces paléarctiques (Fig.9). Ces dernières sont spécialisées sur le sous-genre *Lysimachia s.str.*, tandis que les espèces nord-américaines sont spécialistes du sous-genre *Seleucia*, et ce, malgré que ces deux sous-genres soient sympatriques en Amérique du nord (Michez *et al.*, 2008). Ceci laisse suggérer qu'il existe une influence biogéographique dans le choix de la plante hôte chez les *Macropis*.

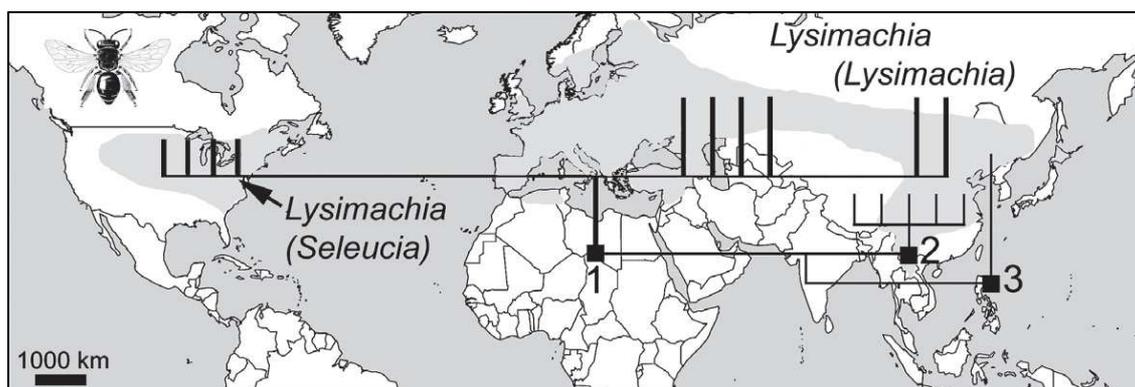


Figure 9. Distribution, phylogénie et associations des plantes hôtes chez les *Macropis* (d'après Michez & Patiny, 2005 et Michez *et al.*, 2008). 1 = sous-genre *Macropis s.str.*; 2 = sous-genre *Sinomacropis*; 3 = sous-genre *Paramacropis*.

² Lysimaques du Sri Lanka et d'Australie

Le système *Lysimachia/Macropis* est probablement très ancien (Michez *et al.*, 2008 ; Renner & Schaefer, 2010). En effet, *Paleomacropis eocenicus*, un fossile vieux de 53 Ma, est également caractérisé par la présence de soies apparentées à la collecte d'huile, ce qui suggère que les *Macropis* forment le groupe frère de ce fossile (Michez *et al.*, 2007b). Le genre *Lysimachia* est probablement trop récent pour avoir été une plante hôte de *Paleomacropis eocenicus*. Néanmoins, certaines familles de plantes productrices d'huile, telles que les Malpighiaceae (Davis *et al.*, 2002), sont connues comme datant de l'Eocène. Ces familles pouvaient donc être potentiellement les plantes hôtes de *Paleomacropis eocenicus*. Quoi qu'il en soit, la proximité entre l'apparition du genre *Lysimachia* et la période d'existence du probable ancêtre des *Macropis* rend plausible le fait que *Macropis* et *Lysimachia* aient co-évolué depuis leurs apparitions respectives (Renner & Schaefer, 2010).

Enfin, il serait intéressant de connaître la position du fossile au sein de la tribu des Macropidini, afin de pouvoir discuter quant à l'ancestralité du caractère « collecteur d'huile » au sein des Macropidini, mais également au sein de la sous famille des Melittinae. En effet, s'il s'avère que *Paleomacropis eocenicus* est le groupe frère des *Macropis*, le scénario le plus parcimonieux serait que l'ancêtre des Melittinae n'était pas collecteur d'huile et que ce caractère soit apparu indépendamment à deux reprises et disparu à une reprise (Fig.10) (Michez *et al.*, 2009b).

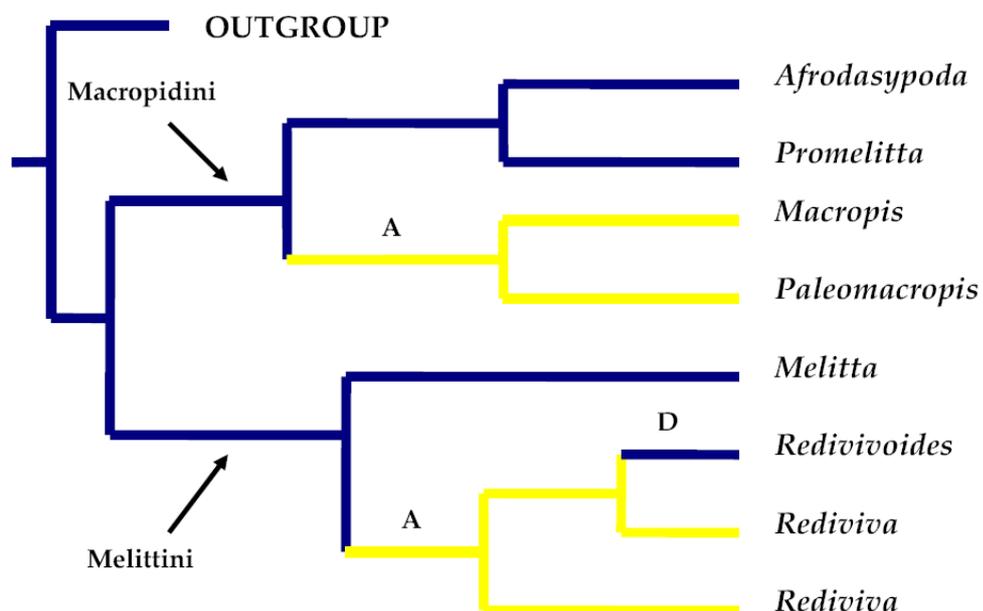


Figure 10. Evolution du caractère « collecteur d'huile » chez les Melittinae, dans le cas où *Paleomacropis eocenicus* serait le groupe frère des *Macropis*, d'après Michez *et al.*, (2009). Bleu = non collecteur d'huile ; jaune = collecteur d'huile ; A = apparition du caractère ; D = disparition du caractère.

1.4. Morphométrie géométrique

1.4.1. Aperçu

La systématique actuelle se définit en deux grands axes, selon la méthode utilisée. Pendant de nombreuses années, les systématiciens ont basé leurs analyses sur des caractères morphologiques. Ces caractères - comme par exemple la couleur des soies, l'absence ou présence de telle ou telle structure, etc...- étaient mal définis et souvent trop subjectifs. De plus, les phénomènes de convergences évolutives venaient biaiser considérablement les analyses effectuées.

Plus récemment, une méthode s'appuyant sur l'analyse des caractères génétiques s'est développée et est à présent largement répandue. Elle présente l'avantage d'étudier un seul caractère (la séquence génétique), et qui compte 5 états (A, C, G, T, -) clairement définis. Cet outil permet donc d'établir des liens entre différents groupes. Les mutations étant le moteur de l'évolution, deux individus dont les séquences sont hautement similaires seront phylogénétiquement plus proches entre eux que d'un tiers. Cependant, cette méthode exige que l'on dispose d'échantillons ADN pour chaque individu que l'on désire étudier. Elle se révèle donc inapte lorsqu'on s'intéresse à des spécimens fossiles. Une technique récente, la morphométrie géométrique, s'avère très utile dans ce dernier cas de figure.

La morphométrie géométrique est une méthode performante et de plus en plus utilisée en systématique, notamment chez les abeilles (Aytekin *et al.*, 2003, 2007 ; Fransisco *et al.*, 2008 ; Tofilski, 2008 ; Bischoff *et al.*, 2009 ; Michez *et al.*, 2009a ; De Meulemeester *et al.*, sous presse). Contrairement à d'autres techniques de morphométrie classique, la morphométrie géométrique se base sur la forme des objets (Bookstein, 1991). En effet, en morphométrie classique, les relations géométriques entre les variables ne sont pas préservées et par conséquent, certains aspects de la forme sont perdus (Adams *et al.*, 2004). La forme d'un objet se définit comme toute l'information géométrique qui subsiste lorsque les effets de localisation, d'échelle et de rotation sont extraits de l'objet (Kendall, 1977). Cette analyse est capable de regrouper différents taxons en fonction de leurs similarités morphométriques. Il existe différentes techniques de morphométrie géométrique, comme la technique des « *outlines* », qui se base sur le contour de l'objet, ou encore la technique basée sur des *landmarks*. Cette dernière méthode est celle utilisée dans notre étude. Elle fonde son analyse sur un ensemble de coordonnées cartésiennes (en deux ou trois dimensions) des *landmarks*.

1.4.2. Définition et typologie des *Landmarks*

Les *landmarks* représentent des points clefs dans la forme de l'objet. Zelditch *et al.* (2004) définissent ces derniers de la manière suivante : idéalement, les *landmarks* correspondent à (i) des points anatomiques homologues, dont (ii) la position topologique n'est pas modifiée par d'autres *landmarks*, (iii) qui fournissent une représentation adéquate de la morphologie, (iv) qui puissent être identifiés de manière répétée et fiable et enfin, qui (v) se situent dans un même plan. Les *landmarks* sont classés en trois catégories selon la typologie de Bookstein (1991). La première catégorie (I) correspond aux « juxtapositions discrètes de tissus ». Ils sont définis par la rencontre de trois structures - telles que les os, les nervures alaires, les artères, les nerfs, etc...- ou par le centre d'une inclusion préférentiellement convexe et suffisamment petite pour être correctement définie, comme par exemple l'œil d'un vertébré. Ce sont les *landmarks* les plus faciles à localiser précisément et donc les plus fiables. La deuxième catégorie (II) de *landmark* est décrite comme un « maximum de courbure ». Ils correspondent au sommet d'une évagination ou à la base d'une invagination. La dernière catégorie (III) est définie comme des « points extrêmes ». Ils sont beaucoup moins utilisés lors d'analyses que les deux autres catégories. La troisième catégorie de *landmarks* n'a pas été employée lors de cette étude.

1.4.3. Morphométrie géométrique appliquée aux ailes

La morphométrie géométrique peut s'appliquer à n'importe quelle forme, et donc à n'importe quelle structure, pour autant que les conditions d'utilisation des *landmarks* soient respectées. Dans notre étude, nous avons appliqué cette méthode à la forme de l'aile. Cet organe présente de multiples avantages comme par exemple sa structure en deux dimensions, sa rigidité ou encore son haut degré de conservation au sein des spécimens fossiles (Pavlinov, 2001). De plus, les veines et leurs intersections sont clairement homologues à travers les différents groupes d'abeilles (Ross, 1936). Enfin, la forme de l'aile a déjà été utilisée lors d'études visant à discriminer des espèces (*e.g.* Aytakin *et al.*, 2007) ou pour mesurer l'affinité de spécimens fossiles avec des espèces contemporaines (*e.g.* De Meulemeester *et al.*, sous presse).

1.5. Objectifs

Les objectifs de ce travail sont :

- (i) Etudier l'affinité systématique entre trois spécimens fossiles et les représentants actuels de la tribu des Macropidini, par la méthode de morphométrie géométrique appliquée à la forme de l'aile.
- (ii) Compléter la phylogénie des Macropidini avec de nouvelles données moléculaires.
- (iii) Confirmer l'oligolectisme des abeilles du genre *Macropis* grâce aux analyses microscopiques des charges scopales.

Les résultats obtenus nous permettront de discuter sur l'évolution du caractère « collecteur d'huile » au sein de la tribu des Macropidini et de formuler des hypothèses à propos du comportement alimentaire ancestral. Concernant l'aspect biogéographique de cette étude, le jeu de données étudié nous éclairera sur le mode de colonisation de l'aire de distribution de la tribu.

2. Matériel et méthode

2.1. Morphométrie géométrique

2.1.1. Matériel

Un total de 130 spécimens ont été utilisés lors de cette analyse. Ce jeu de données recouvre les trois genres appartenant à la tribu des Macropidini. Huit des 16 espèces de *Macropis* sont représentées dans l'analyse. Afin d'éliminer un éventuel effet dû au dimorphisme sexuel, les spécimens étudiés sont tous des individus femelles³. Les taxons utilisés comme groupe de comparaison sont *Dasypoda argentata* Panzer 1809, *Haplomelitta atra* Michener 1981 et *Haplomelitta griseonigra* Michener 1981. Le nombre de spécimens considérés par espèce est repris dans le tableau 1. Les spécimens proviennent des collections du Laboratoire de Zoologie de l'Université de Mons et du département d'Entomologie du Musée d'Histoire Naturelle de Londres. Les données relatives aux trois fossiles *Paleomacropis eocenicus*, *Eomacropis glaesaria* et *Paleomelitta nigripennis* ont été collectées à partir d'illustrations bibliographiques (Engel, 2001 ; Michez *et al.*, 2007b).

³ Les fossiles sont des femelles.

Tableau 1. Jeu de données utilisé pour les analyses de géométrie morphométrique.

		Genre	Espèce	N
INGROUP	ACTUELS	<i>Afrodasyroda</i>	<i>plumipes</i>	2
		<i>Promelitta</i>	<i>alboclypeata</i>	5
		<i>Macropis</i>	<i>ciliata</i>	4
		<i>Macropis</i>	<i>dimidiata</i>	20
		<i>Macropis</i>	<i>europaea</i>	20
		<i>Macropis</i>	<i>frivaldszkyi</i>	5
		<i>Macropis</i>	<i>fulvipes</i>	18
		<i>Macropis</i>	<i>nuda</i>	22
		<i>Macropis</i>	<i>patellata</i>	6
		<i>Macropis</i>	<i>ussuriana</i>	5
	FOSSILES	<i>Eomacropis</i>	<i>glaesaria</i>	1
		<i>Paleomacropis</i>	<i>eocenicus</i>	1
		<i>Paleomelitta</i>	<i>nigripennis</i>	1
GROUPE DE COMPARAISON	<i>Dasypoda</i>	<i>argentata</i>	10	
	<i>Haplomelitta</i>	<i>atra</i>	5	
	<i>Haplomelitta</i>	<i>griseonigra</i>	5	

Nous avons tenté de rassembler 20 spécimens pour chaque espèce ainsi que pour le groupe de comparaison, dans la mesure de la disponibilité des données. Dû à des circonstances anecdotiques, le nombre de spécimens de *Macropis nuda* s'élève à 22.

2.1.2. Méthode

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 les analyses statistiques.

2.1.2.1. Photographie de l'aile

Les ailes sont prélevées au niveau des *tegulae* et ensuite photographiées. L'appareillage utilisé est constitué d'un binoculaire Olympus SZH10 couplé à un boîtier Nikon D200. Les éventuelles déformations de l'aile lors de la photographie constituent un biais ; la mise entre lame et lamelle permet d'obtenir un cliché reflétant au mieux la forme réelle de l'aile (Fig.11). Le matériel provenant du Musée d'Histoire Naturelle de Londres ne pouvant être altéré, les photographies des ailes sont réalisées directement sur les spécimens, qui ont préalablement été ramollis dans un cristalliseur.

Les différentes manipulations sont réalisées sur le même binoculaire, les mêmes paramètres (brillance, zoom, etc...), le même boîtier et par un seul expérimentateur.

Les photographies sont compilées dans un fichier tps à l'aide du logiciel tps-UTIL (Rohlf, 2010).



Figure 11. Photographie d'aile antérieure gauche de *Macropis europaea* placée entre lame et lamelle (Photo : Bouzin M.).

2.1.2.2. Positionnement des *landmarks*

L'analyse est basée sur les coordonnées de 15 *landmarks*, positionnés tel qu'indiqué à la figure 12. Ces *landmarks* sont placés sur les nervures alaires. Les nervures sont des éléments rigides et situés sur un même plan. De plus, les nervures et leurs intersections sont des structures homologues au sein des abeilles (Ross, 1936). Le tableau 2 détaille le positionnement de chaque *landmark* et précise leur typologie définie par Bookstein (1991).

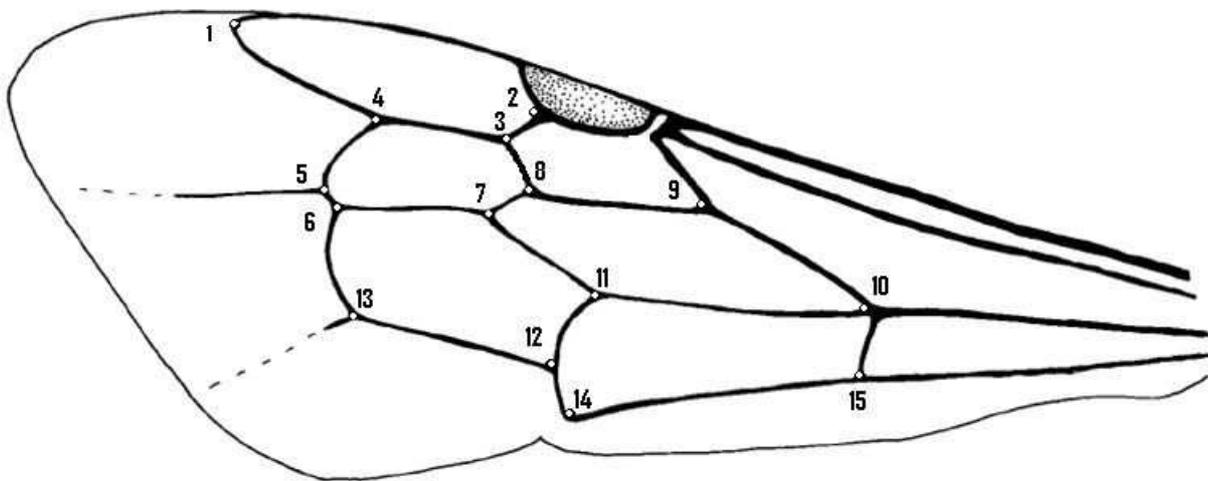


Figure 12. Positionnement des 15 *landmarks* sur l'aile antérieure gauche d'un Macropidini (d'après une illustration d'aile d'*Eomacropis glaesaria*, Engel, 2001).

Tableau 2 : définition et typologie des *landmarks* de l'aile antérieure gauche.

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

La numérisation des coordonnées cartésiennes bidimensionnelles des *landmarks* a été réalisée via le logiciel tps-DIG (Rohlf, 2006a).

2.1.2.3. Analyses statistiques

La première étape de l'analyse consiste en une superimposition des coordonnées des *landmarks* selon la méthode procruste GLS (« *generalized least-square* ») (Bookstein, 1991). Cette méthode correspond à une translation, une rotation des *landmarks* et une modification de l'échelle. Ces dernières manipulations permettent d'éliminer toutes les variations qui ne concernent pas la forme de l'objet. Cette superimposition procruste est effectuée par le logiciel IMP CoordGen6 (Sheets, 2003).

Une « *relative warps analysis* » est effectuée par le logiciel IMP PCAGen6p (Sheets, 2005). Techniquement, une « *relative warps* » correspond à une analyse en composantes principales (ACP) basée sur les coordonnées alignées des *landmarks* (*i.e.* procrustes) (Michez *et al.*, 2009a). D'après Alibert *et al.* (2001), la « *relative warps* » correspond à la composante principale et définit un espace-forme dans lequel les individus sont replacés (Aytekin *et al.*, 2007).

Un graphique présentant la distribution tridimensionnelle des points est présenté grâce au logiciel NTSYS (Rohlf, 2000).

Un histogramme présentant le nombre d'individus en fonction de la distance par rapport au centroïde du groupe des *Macropis* est réalisé par le logiciel R 2.9.2. (The R Foundation for Statistical Computing, 2009)

Un dendrogramme est réalisé par le logiciel NTSYS (Rohlf, 2000). Les données sont obtenues via tps-RELW (Rohlf, 2006b). La matrice de distance est calculée par la distance euclidienne, dont la formule est la suivante :

$$d(X, Y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - x_i)^2}$$

Les groupements entre individus sont réalisés par la méthode des liens UPGMA.

Des « *thin-plate splines* » sont associés dans la représentation du dendrogramme. Ces quadrillages facilitent la visualisation des déformations relatives des ailes pour chaque genre. Elles sont obtenues par le logiciel tps-RELW (Rohlf, 2006b). Les liens (« *links* ») sont créés dans le logiciel tps-UTIL (Rohlf, 2010).

2.2. Phylogénie moléculaire

2.2.1. Matériel

Le jeu de données étudié est résumé dans le tableau suivant (Tab.3):

Tableau 3. Jeu de données utilisé pour l'étude phylogénétique. Les codes correspondent à la référence des séquences dans GENBANK (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). NS = Nouvelle séquence.

	Taxon	Individu	Origine et date	Sexe	28S	Opsin	RNAP	EF-1 α
INGROUP	<i>Afrodasyroda plumipes</i>	Afr_plum	Afrique du Sud, 2008	M	-	NS	NS	NS
	<i>Macropis ciliata</i>	Mac_cil	USA, 2006	M	NS	NS	-	NS
	<i>Macropis frivaldszkyi</i>	Mac_friv	Turquie, 2008	M	NS	NS	NS	NS
	<i>Macropis europaea</i>	Mac_eur	France, -	-	AY654525	DQ116685	AY945138	AY585154
	<i>Macropis nuda</i>	Mac_nud	USA, -	-	AY654454	DQ116686	AY945139	AY585155
	<i>Macropis fulvipes</i>	Mac_ful	Bulgarie, -	-	EF594348	EF594372	EF599271	EF594323
	<i>Promelitta alboclypeata</i>	Pro_alb	Maroc, 2006	M	EF594354	EF594379	EF599277	EF594330
OUTGROUP	<i>Dasypoda hirtipes</i>	Das_hir	France, 2002	-	AY654519	DQ116681	EF599278	AY585149
	<i>Meganomia binghami</i>	Meg_bin	Afrique du Sud, 2004	-	AY654528	DQ116689	AY945144	DQ141114
	<i>Melitta leporina</i>	Mel_lep	France, 2002	-	AY654530	DQ116688	AY945142	AY585158
	<i>Rediviva mcgregori</i>	Red_mcg	Afrique du Sud, 2001	-	AY654531	DQ116690	AY945159	AY585159

Sept taxons constituent l'*ingroup*, parmi lesquels les trois genres de la tribu des Macropidini sont représentés. Cinq espèces représentent le genre *Macropis*, dont deux espèces américaines (*M. cilita* et *M. nuda*), deux espèces ouest-paléarctiques (*M. europaea*, *M. frivaldszkyi*) et une paléarctique (*M. fulvipes*). *Dasypoda hirtipes* (Fabricius 1793), *Meganomia binghami* (Cockerell 1909), *Melitta leporina* (Panzer 1799) et *Rediviva mcgregori* Whitehead & Steiner 2001 forment l'*outgroup*. Ces espèces occupent des positions variées dans le clade des Melittidae (Michez *et al.*, 2009b). Elles nous permettront d'enraciner les arbres phylogénétiques obtenus.

Les nouvelles séquences seront soumises ultérieurement sur GENBANK.

2.2.2. Méthode

Les extractions, PCR et séquençage d'ADN ont été réalisés au préalable par D. Michez au Département d'Entomologie de l'université de Cornell à Ithaca (USA).

2.2.2.1. Extraction de l'ADN

L'extraction d'ADN est effectuée en utilisant le kit de purification « QIAquick PCR » (Qiagen Inc., Valencia, CA, U.S.A.). Le protocole est le suivant :

- Placer la patte de l'individu dans 180µl de Buffer ATL et la broyer.
- Ajouter de 20µl de protéinase K dans l'échantillon. Vortexer toutes les 1/2h et incubé à 55°C pendant 2h.
- Ajouter de 200µl de Buffer AL et vortexer.
- Ajouter de 200µl d'éthanol 100% et vortexer à nouveau.
- Placer la mixture obtenue dans le DNeasy Mini spin column placé dans un tube de 2ml. Centrifuger à 6000 x g (8000 rpm) pendant 1mn. Jeter le filtrat et le tube de 2ml.
- Placer le DNeasy Mini spin column dans un nouveau tube de 2ml, ajouter 500µl de buffer AW1, et centrifuger pendant 3min à 20000 x g (14000 rpm) pour sécher la DNeasy membrane. Jeter le filtrat et le tube de 2ml.
- Placer le DNeasy Mini spin column dans un tube de microcentrifugation, et ajouter 200µl de buffer AE directement sur la DNeasy membrane. Incuber à température ambiante pendant 1min, et puis centrifuger pendant 1min à 6000 x g (8000 rpm) pour éluer. L'ADN est au fond du tube.

2.2.2.2. Gènes amplifiés

Notre analyse s'est portée sur quatre gènes. Ces gènes sont nucléaires et sont caractérisés par un taux de mutations faible (Danforth *et al.*, 2006a ; Michez *et al.*, 2009b). Ils ont déjà été utilisés lors d'études phylogénétiques chez les abeilles, notamment au niveau du genre (Kawakita *et al.*, 2004 ; Michel-Salzat *et al.*, 2004 ; Hines *et al.*, 2006 ; Larkin *et al.*, 2006 ; Michez *et al.*, 2009b). Les quatre gènes analysés sont les suivants :

- *28S*: code pour la sous unité ribosomiale 28S et est donc impliqué dans la traduction des protéines. Il s'agit du seul gène de notre jeu de données qui ne code pas pour une protéine. La partie séquencée correspond à la région D2-D3 du gène.
- *Opsin* : le gène code 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 comporte 2 introns.
- *RNAp* : désigne le gène codant pour les deux grandes sous-unités protéiques de l'ARN polymérase II, enzyme qui est impliquée dans la synthèse d'ARN pré-messagers. Ce gène a été utilisé dans de nombreuses études phylogénétiques, notamment chez les arthropodes et myriapodes, et ce, grâce à sa facilité d'amplification et d'alignement (Danforth *et al.*, 2006a).
- *EF-1 α* : ce gène code pour le facteur d'élongation 1 α . Cette protéine fait partie d'un ensemble de protéines impliquées dans la translation du ribosome sur l'ARNm pendant la traduction. Ce gène présente un pouvoir de résolution phylogénétique pouvant aller jusqu'au sous-genre (Simon *et al.*, 1994). Chez les abeilles, il existe deux copies du gène EF-1 α (Danforth & Ji, 1998). La séquence considérée dans cette étude comporte un intron et correspond à un fragment de la copie F2 du gène.

2.2.2.3. PCR

Les amorces ainsi que les différents paramètres de PCR sont détaillés dans l'étude de Michez *et al.* (2009b).

28S :

Bel 5'-AGA GAG AGT TCA AGA GTA CGT G- 3'

Mar 5'-TAG TTC ACC ATC TTT CGG GTC CC- 3'

Opsin :

Opsin For3 (mod) 5'-TTC GAY AGA TAC AAC GTR ATC GTN AAR GG- 3'

Opsin Rev (mod) 5'-ATA NGG NGT CCA NGC CAT GAA CCA- 3'

RNAp :

Polfor2a 5'-AAY AAR CCV GTY ATG GGT ATT GTR CA- 3'

Polrev2a 5'-AGR TAN GAR TTC TCR ACG AAT CCT CT- 3'

EF-1 α :

HaF2For1 5'-G GGY AAA GGW TCC TTC AAR TAT GC- 3'

Exon2Revmel 5'-GGA AGA CGR AGA GCC TTR TC- 3'

Intron2Rev 5'-AAA AAT CCT CCG GTG GAA AC- 3'

Les paramètres PCR sont les suivants:

28S

Bel-Mar 94°C/1 min; 65°C/1 min; 72°C/1 min; 35 cycles

Opsin

For3mod-Rev mod 94°C/1 min; 94°C/1 min; 56°C/1 min; 72°C/1 min; 35 cycles

RNAp

Polfor2a-Polrev2a 94°C/1 min; 94°C/1 min; 52°C/1 min; 72°C/1 min; 35 cycles

EF-1 α

HaF2For1 94°C/1 min; 94°C/1 min; 54°C/1 min; 72°C/1 min 30 s; 35 cycles

Exon2Revmel 94°C/4 min; 94°C/45 sec; 56°C/45 sec; 72°C/45 sec; 35 cycles

Intron2Rev 94°C/4 min; 94°C/45 sec; 56°C/45 sec; 72°C/ 1 min; 35 cycles

2.2.2.4. Séquençage

Le séquençage a été effectué sur un séquenceur automatique 3730 DNA Analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA), à l'université de Cornell à Ithaca (U.S.A.).

2.2.2.5. Analyses phylogénétiques

Les différentes séquences obtenues sont vérifiées et « nettoyées » à l'aide du logiciel CODONCODE ALIGNER 3.0. L'alignement des séquences a été réalisé par le logiciel MAFFT ver.6 (Kato *et al.*, 2002), en utilisant les paramètres standards. Ensuite, cet alignement a été vérifié et, éventuellement, manuellement corrigé à l'aide du logiciel MESQUITE 2.6 (Maddison & Maddison, 2006).

Le jeu de données final est constitué de 11 spécimens et de 53 séquences. Le gène RNAP n'a pu être séquencé pour *Macropis ciliata*, et la séquence du gène 28S d'*Afrodasyoda plumipes* n'était pas analysable.

Les tailles des séquences obtenues sont :

28S : 715 paires de bases

Opsin : 551 paires de bases

RNAP : 795 paires de bases

EF-1 α : 799 paires de bases (exon : 595 pb ; intron : 204 pb)

Six matrices ont été construites et ensuite analysées : une pour chaque gène (y compris exon et intron d'EF-1 α) ainsi qu'une matrice englobant l'ensemble des gènes. Dans cette dernière, les données manquantes pour le gène 28S et RNAP dans le cas d'*A. plumipes* et de *M. ciliata* ont été codées comme données manquantes. La matrice globale comporte un total de 2860 paires de bases.

Les analyses en maximum de vraisemblance (MV) ont été réalisées à l'aide du logiciel GARLI 2.0 (Zwickl, 2011). Chaque gène a été analysé séparément et de manière combinée. Pour le gène EF-1 α , nous avons considéré séparément la partie codante (EF1Ex) de l'intron (EF1In). Le meilleur modèle de substitution pour chaque gène a été choisi via le logiciel JMODELTEST (Posada, 2008) en utilisant les critères d'informations d'Akaike (AIC) (Akaike, 1974).

Les modèles choisis sont les suivants :

28S : GTR + G

Opsin : GTR + G

RNAp: GTR + I + G

EF1Ex: GTR + G

EF1In: GTR + G

L'analyse est amorcée par la génération aléatoire d'un arbre et est stoppée lorsque le paramètre « ln »⁴ reste constant pendant 20000 générations consécutives. Chaque analyse a été répétée à dix reprises de manière à s'assurer que le paramètre « ln » retenu ne correspond pas à un minimum local. Les probabilités postérieures de chaque branche sont obtenues en performant 100 répliques de *bootstraps* non paramétriques (Felsenstein, 1985), en utilisant le critère d'arrêt automatique à 10000 générations. L'arbre consensus est calculé par le logiciel PAUP 4.0.b10. (Swofford, 1998). Les topologies supportées par des valeurs de *bootstrap* supérieures ou égales à 70 % sont considérées comme significatives (Hillis & Bull, 1993).

Les analyses en méthodes bayésiennes (MB) ont été effectuées à l'aide du logiciel MR BAYES 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Les modèles de substitutions choisis sont identiques à ceux choisis pour l'analyse en MV. Les gènes ont été analysés individuellement ainsi que de manière combinée. Le nombre de générations est d'un million. L'analyse est stoppée après l'observation sur graphique de la constance des valeurs de vraisemblance à travers les générations. Ce graphique est donné par le logiciel TRACER 1.5 (Rambaut & Drummond, 2007). Les 100000 premières générations sont éliminées. Les probabilités postérieures sont calculées à partir des arbres restants et un arbre consensus est construit en suivant la règle de la majorité à 50 %. On considère que les topologies supportées par des probabilités postérieures supérieures ou égales à 0,95 sont significatives (Wilcox *et al.*, 2002).

⁴ Plus l'indice de vraisemblance est élevé, plus la topologie de l'arbre est significative.

2.3. Analyses palynologiques

L'intérêt de cette manipulation est de déterminer via des analyses microscopiques l'oligolectisme strict des abeilles du genre *Macropis*. Pour ce faire, nous avons analysé un maximum de pelotes de pollen, dans la limite du matériel disponible. L'ensemble de la distribution du genre est représenté à travers les différentes espèces. Les spécimens proviennent des collections du Laboratoire de Zoologie de l'Université de Mons et du département d'Entomologie du Musée d'Histoire Naturelle de Londres. Le tableau 4 reprend les différentes espèces analysées ainsi que le nombre de spécimens pour chacune des espèces. Au total, ce sont 57 pelotes qui ont été analysées.

Tableau 4. Jeu de données utilisé pour l'analyse palynologique.

Taxons	N
<i>Macropis ciliata</i>	1
<i>Macropis dimidiata</i>	14
<i>Macropis europaea</i>	20
<i>Macropis frivaldszkyi</i>	1
<i>Macropis fulvipes</i>	16
<i>Macropis nuda</i>	2
<i>Macropis patellata</i>	1
<i>Macropis ussuriana</i>	2

Le pollen a été prélevé à l'aide de pastilles de gélatine. Ces pastilles ont ensuite été placées sur une lamelle et chauffées afin d'étaler l'échantillon sur cette lamelle. Nous n'avons pas jugé utile de procéder à une lyophilisation, la forme et la couleur s'avérant être des critères suffisants. Le pollen de lysimaque a également été monté sur lame et a servi de comparaison lors de l'analyse.

En suivant l'exemple de l'étude de Michez *et al.* (2010) sur le genre *Meganomia*, un indice de charge scopale compris entre 1 et 5 est noté de manière à nuancer les différents résultats.

3. Résultats

3.1. Morphométrie géométrique

3.1.1. *Relative warps analysis*

La position des 15 *landmarks* sur les ailes de chaque individu après une superimposition procruste est présentée à la figure 13.

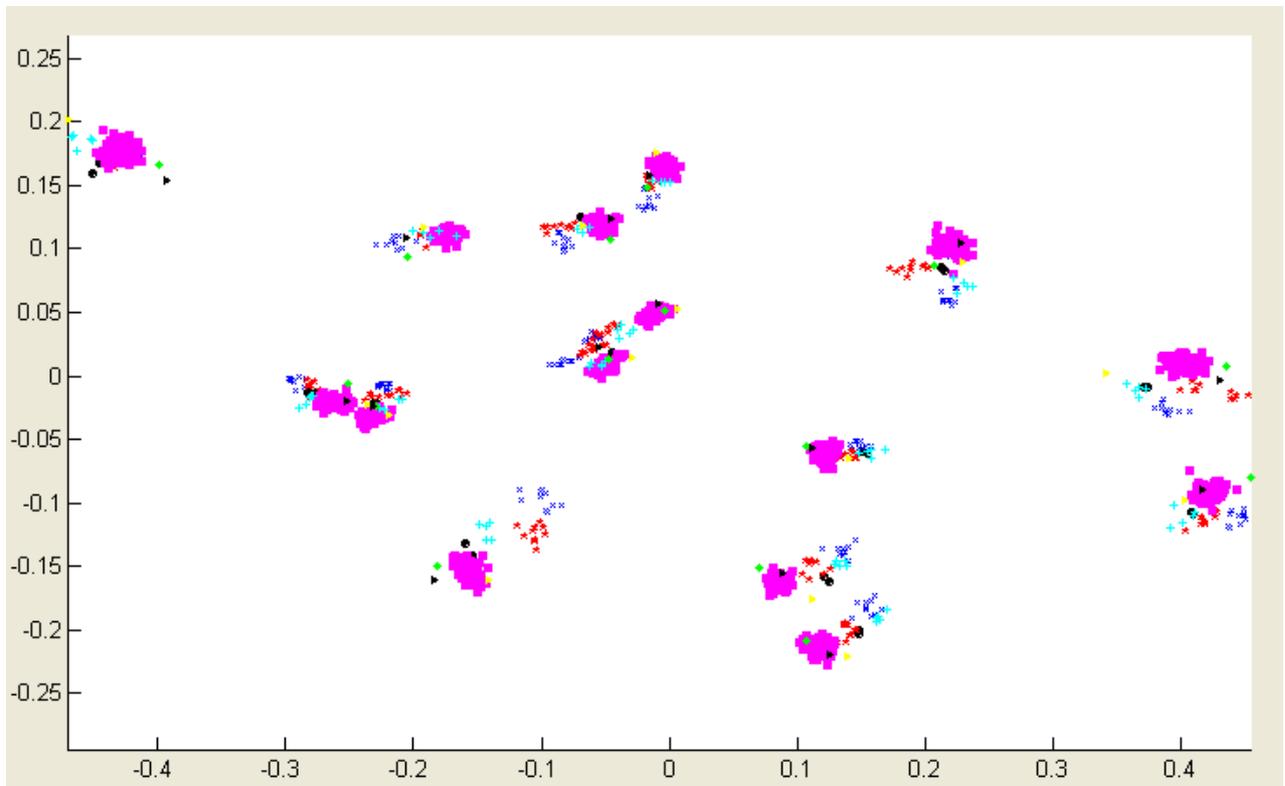


Figure 13. Représentation de la position des *landmarks* selon leurs coordonnées (x, y) après superimposition procruste.

Certaines positions de *landmarks* semblent être assez variables en fonction des spécimens.

Les « *relative warps analysis* » sont effectuées sur base d'une matrice de 130 individus pour 30 variables (15 *landmarks* en coordonnées (x, y)). Les deux premiers axes de l'analyse effectuée sur le jeu de données sont présentés à la figure 14. De manière à visualiser un maximum de variance du jeu de données, les axes 1 et 3, ainsi qu'une représentation tridimensionnelle de la répartition des points sont montrés respectivement aux figures 15 et 16. Notons que tout au long de la description de ces résultats, la formule « est plus proche de » se rapportera à une similarité dans la forme de l'aile, et non pas à une proximité phylogénétique.

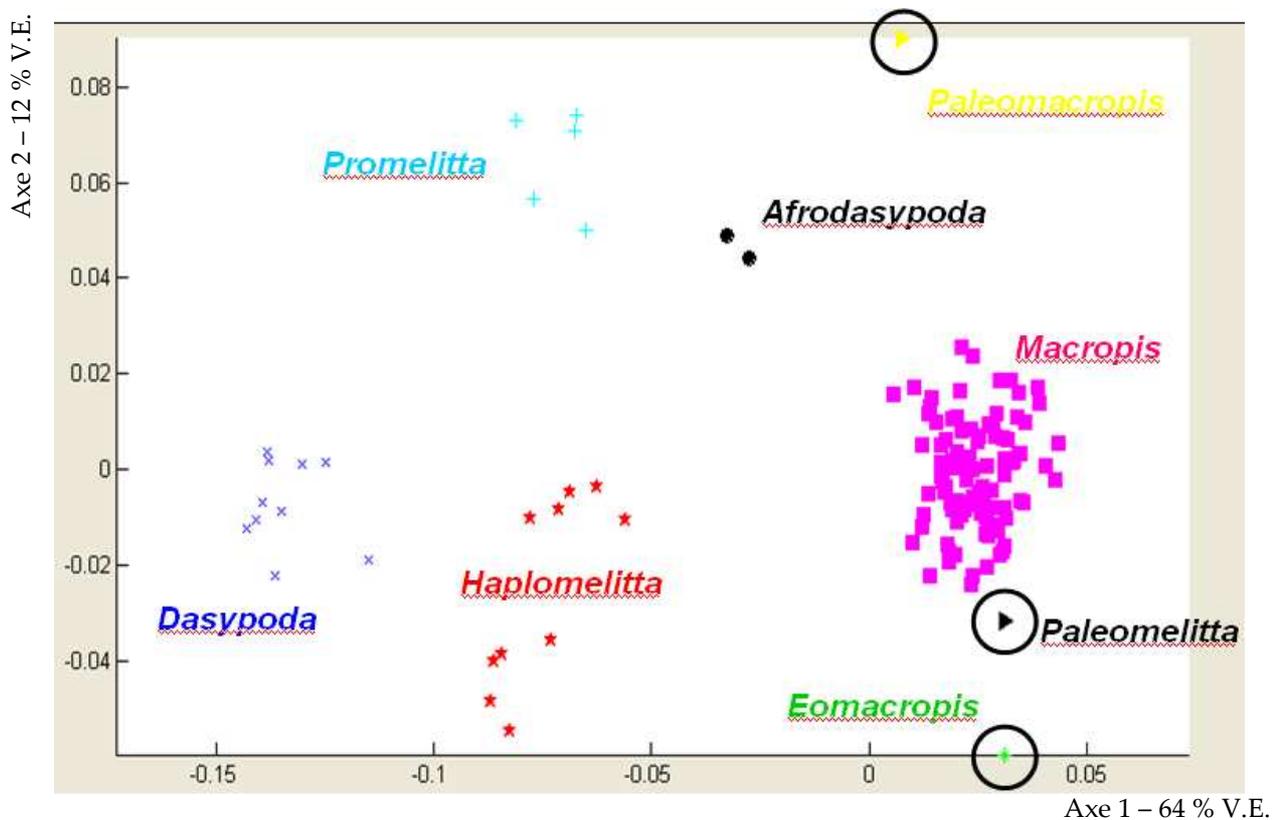


Figure 14. Représentation des deux premiers axes de la « *relative warps analysis* ».

Les individus d'un même genre sont clairement regroupés. Le genre *Promelitta* semble être plus proche d'*Afrodasypoda* que de *Macropis*. *Dasyopoda* et *Haplomelitta*, qui constituent le groupe de comparaison, semblent assez isolés. Les spécimens fossiles sont entourés d'un cercle noir. *Paleomacropis* semble être sensiblement plus proche d'*Afrodasypoda* que de *Macropis*, tandis que les genres *Paleomelitta* et *Eomacropis* semblent proches de *Macropis*. 76 % de la variance totale du jeu de données est expliquée par les deux premiers axes de la « *relative warps analysis* ».

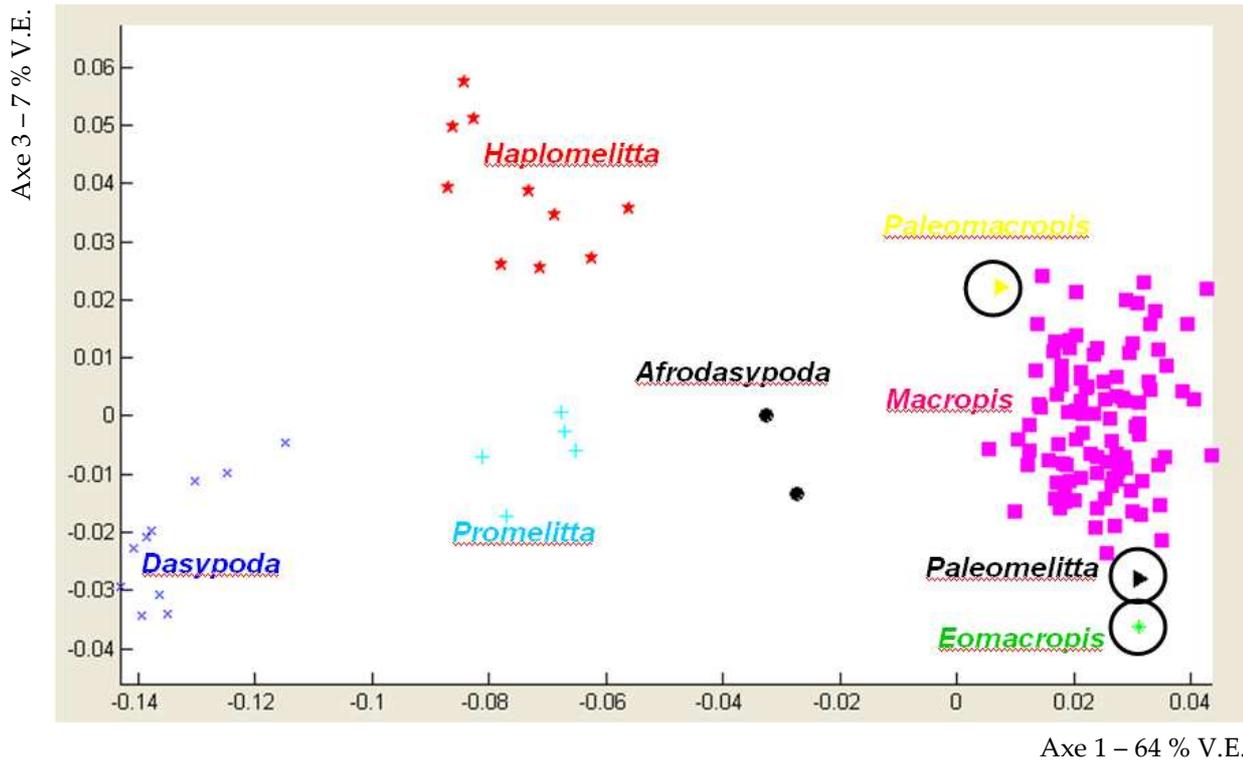


Figure 15. Représentation du premier et troisième axe de la « *relative warps analysis* ».

Sur cette représentation, les genres restent assez nettement séparés, bien qu'il semble que les spécimens fossiles se rapprochent du genre *Macropis*. 71 % de la variance totale du jeu de données est expliquée par l'axe un et l'axe trois. 83 % de la variance totale du jeu de données est expliquée par les trois premiers axes de la « *relative warps analysis* ».

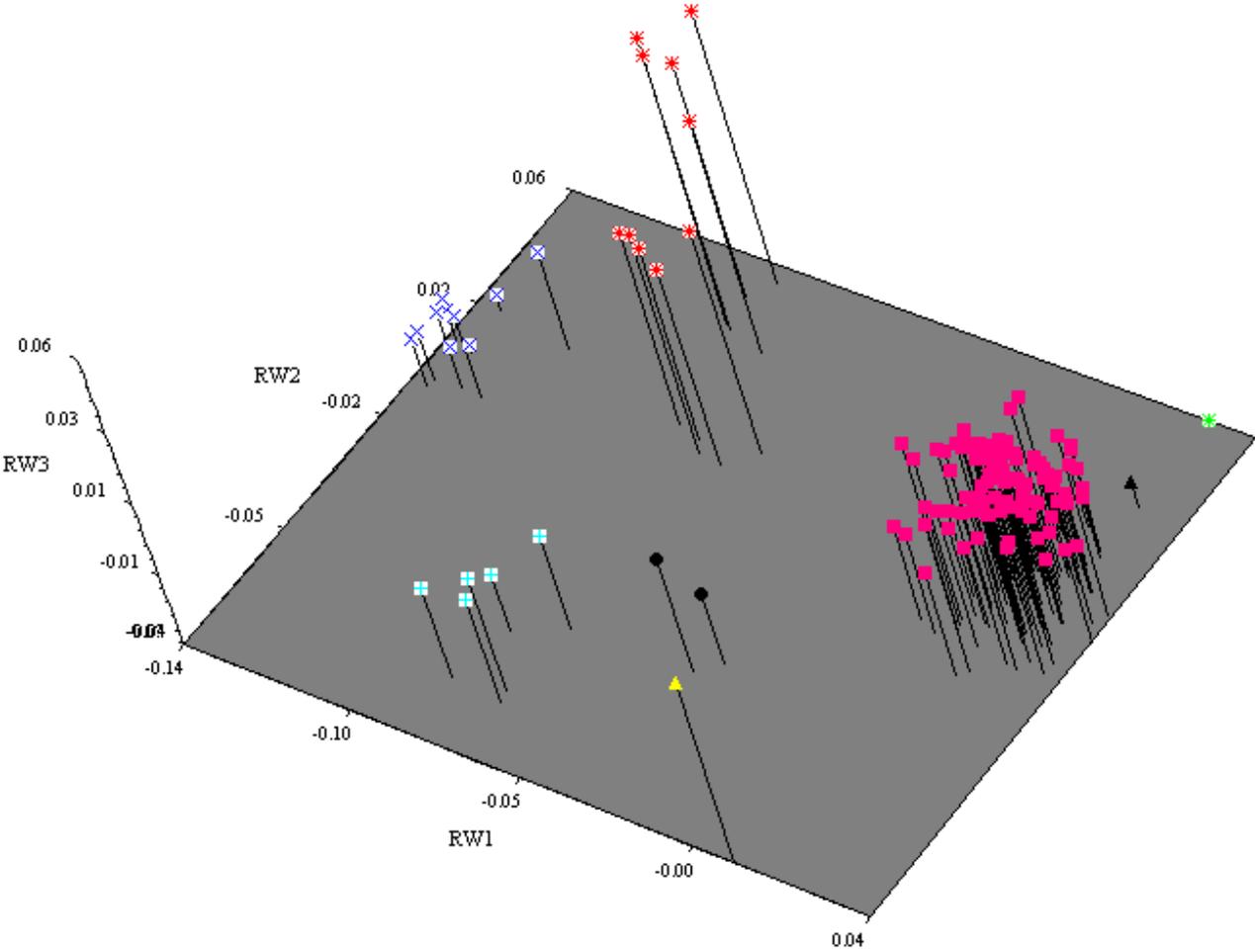


Figure 16. Représentation tridimensionnelle du jeu de données. La symbolique utilisée est identique à celle des figures 14 et 15.

3.1.2. Histogramme

L'histogramme de la figure 17 représente le nombre d'individus en fonction de la distance par rapport au centroïde du groupe des *Macropis*.

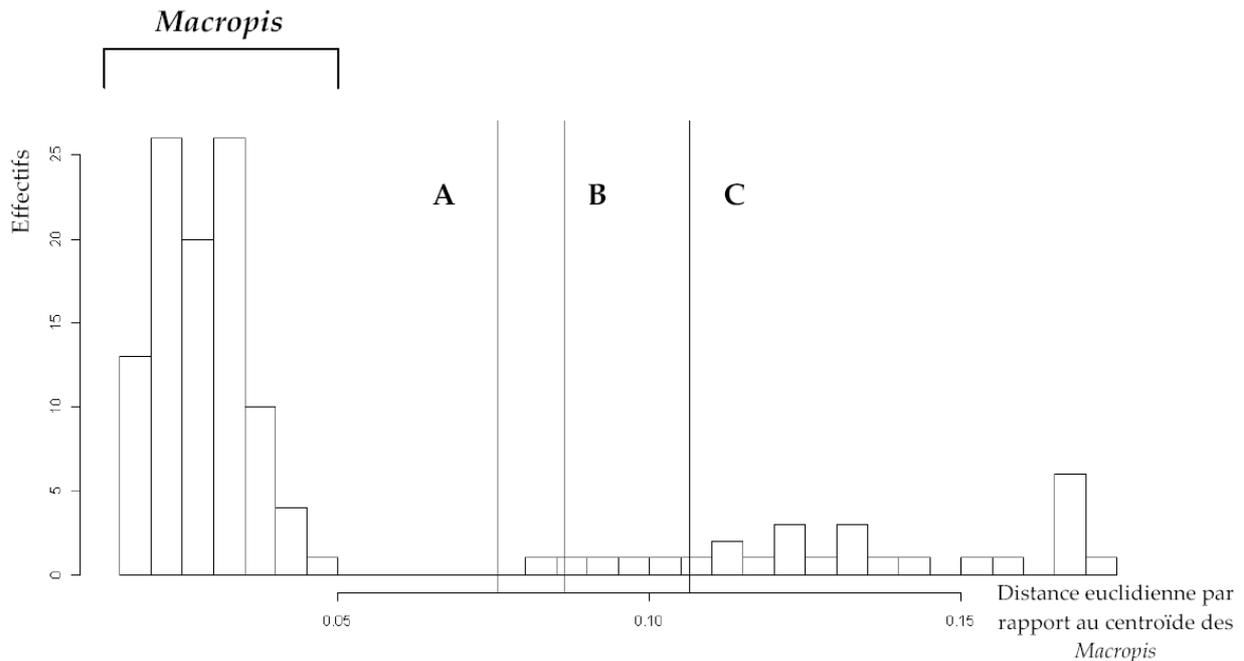


Figure 17. Histogramme indiquant le nombre d'individus en fonction de leur distance euclidienne par rapport au centroïde du groupe des *Macropis*. A = *Paleomelitta nigripennis* ; B = *Eomacropis glaesaria* ; C = *Paleomacropis eocenicus*.

L'histogramme est divisé en deux parties : un pic important correspondant aux *Macropis* et une zone plus étalée correspondant aux autres individus du jeu de données. Le fait que le pic soit assez étroit signifie que le nuage de points du genre *Macropis* est assez compact. Au plus le creux entre les barres de l'histogramme sont larges, au mieux la séparation entre les groupes est nette. *Paleomelitta* et *Eomacropis* sont sensiblement plus proches du groupe des *Macropis* que ne l'est *Paleomacropis*.

3.1.3. Dendrogramme

Le dendrogramme (Fig.18) est construit sur base des coordonnées (x, y) des 15 *landmarks* après superimposition procruste. L'ensemble des spécimens d'un même genre sont correctement regroupés. Les « *thin-plate splines* » sont associés aux genres sur la droite de la figure.

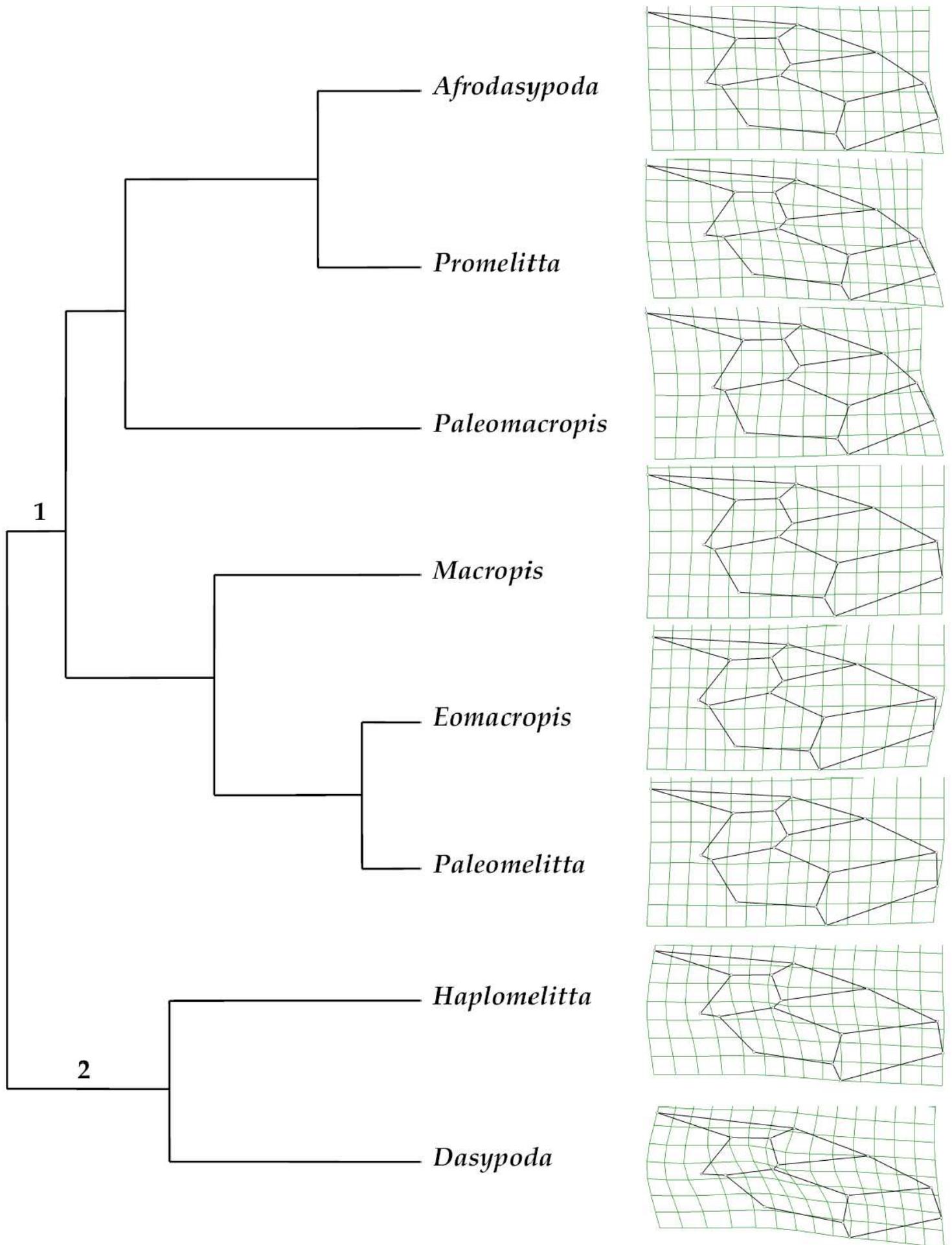


Figure 18. Dendrogramme obtenu par la méthode de regroupement UPGMA. 1 = Macropidini ; 2 = groupe de comparaison. Les grilles de déformations extraites de la « *relative warps analysis* » sont associées à chaque genre.

Il semble exister un continuum de déformation entre *Afrodasyopoda*, *Promelitta* et *Paleomacropis* qui se traduit par un déplacement du *landmark* 10 (*i.e.* intersection de la nervure basale avec la nervure discoïdale) vers la gauche.

De la même manière, il apparaît une déformation graduelle un niveau du *landmark* 15 (*i.e.* intersection de la nervure anale avec la nervure médiane transverse) entre *Macropis*, *Paleomelitta* et *Eomacropis*. Elle se traduit par un déplacement progressif de ce *landmark* vers la gauche.

Concernant les ailes d'*Haplomelitta* et de *Dasypoda*, elles présentent un rétrécissement dans le sens de la largeur, ce qui s'explique par le rapprochement des *landmarks* 7 et 8 (*i.e.* intersection de la nervure cubitale avec la première nervure récurrente et intersection de la nervure cubitale avec la première nervure cubitale transverse, respectivement).

3.2. Phylogénie moléculaire

Les quatre gènes ont été analysés individuellement et de manière combinée. L'exon et l'intron du gène EF-1 α ont été considérés séparément. Bien que les topologies d'arbres affichent certaines similitudes, ils ne sont pas identiques entre les gènes ni entre les deux méthodes. Les arbres obtenus en méthodes bayésiennes sont globalement mieux supportés que ceux obtenus par maximum de vraisemblance.

Concernant l'analyse effectuée sur les gènes séparés, l'arbre le mieux résolu dans l'*ingroup* correspond au gène 28S. Malheureusement, la donnée d'*Afrodasyppoda plumipes* est manquante pour ce gène. L'arbre qui semble le mieux supporté est obtenu par l'analyse de la matrice combinée des quatre gènes.

L'arbre obtenu par l'analyse du gène Opsin fournit certaines probabilités postérieures assez faibles. Au niveau de l'*ingroup*, les valeurs sont assez étirées, certaines étant assez élevées et d'autres assez basses.

Le gène RNAP donne un arbre aux branches faiblement soutenues, tandis que les résultats obtenus via l'exon et l'intron d'EF-1 α ne permettent pas d'extraire d'informations pertinentes.

Seuls les arbres issus des analyses du gène 28S et de l'ensemble des gènes sont présentés dans ce paragraphe (Fig.19, 20). La topologie des arbres obtenus en maximum de vraisemblance (MV) et en méthodes bayésiennes (MB) étant identique pour une même analyse, les figures 19 et 20 résument respectivement les deux arbres obtenus et reprennent les valeurs des probabilités postérieures et des *bootstraps*.

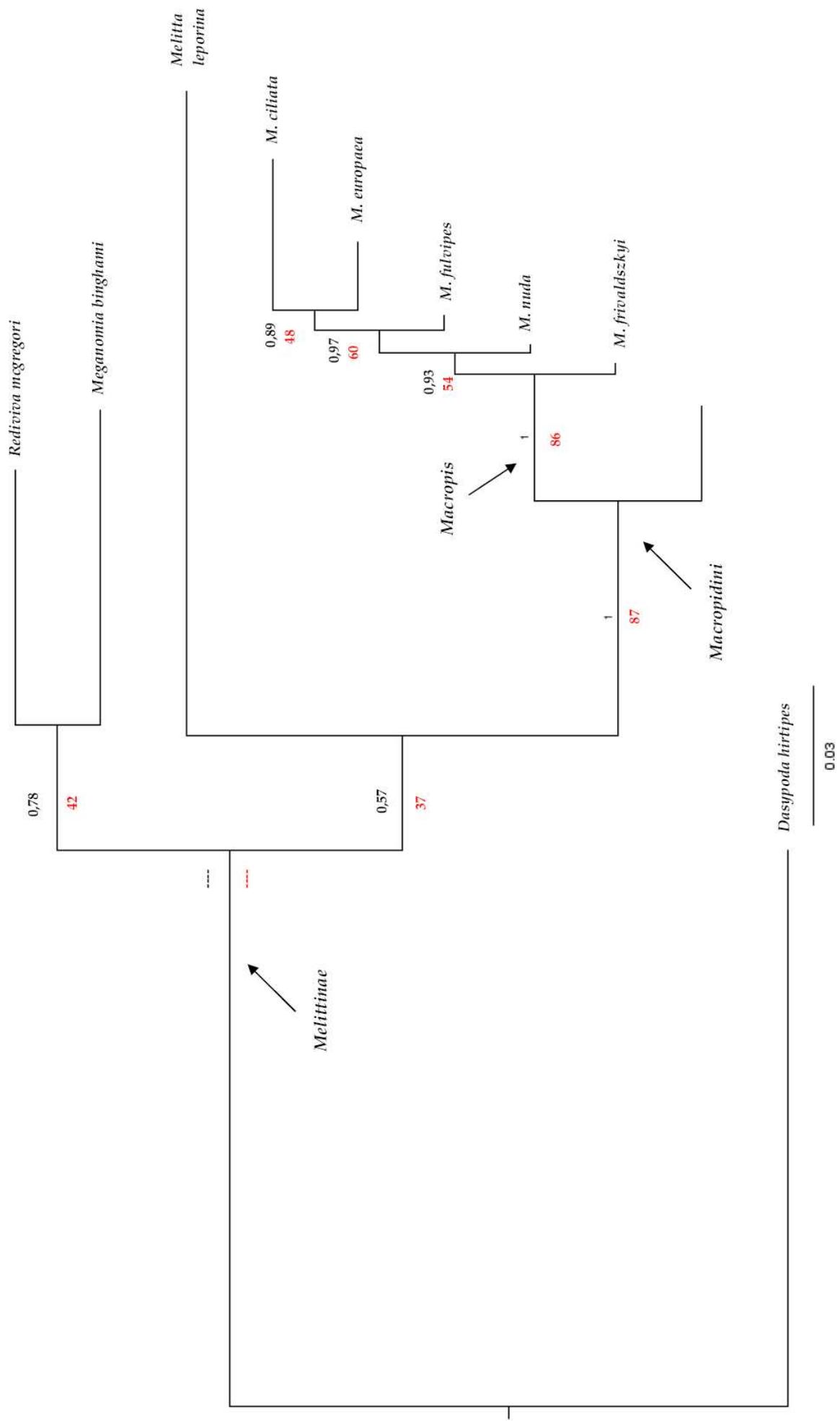


Figure 19. Arbre enraciné issu de l'analyse de 28S. L'arbre est obtenu par MV et MB. Les probabilités postérieures sont indiquées en noir ; les valeurs de *bootstrap* sont indiquées en rouge.

L'arbre basé sur le gène 28S (Fig.19) montre que la tribu des Macropidini est bien supportée, autant en bayésien qu'en maximum de vraisemblance. Les relations entre les espèces de l'outgroup (*Dasypoda hirtipes*, *Rediviva mcgregori*, *Meganomia binghami*, *Melitta leporina*) ne sont pas significatives.

Au sein des Macropidini, les genres *Promelitta* et *Macropis* sont correctement séparés. Les probabilités postérieures (MB) séparent significativement *Macropis frivaldszkyi*, *M. nuda*, *M. fulvipes* et le clade *M. europaea* et *M. ciliata* qui n'est pas supporté, tandis que les valeurs de *bootstrap* (MV) isolent *M. frivaldszkyi* du clade non supporté formé par *M. nuda*, *M. fulvipes*, *M. europaea* et *M. ciliata*.

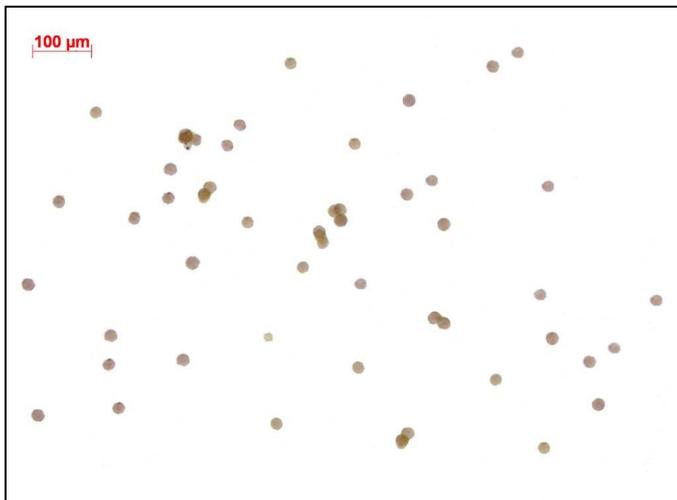
L'arbre obtenu par analyse combinée des quatre gènes (Fig.20) montre que les genres sont correctement séparés et significativement supportés par les deux méthodes. Toutes les espèces sont correctement regroupées dans leur genre, tribu et sous-famille. Par rapport à l'arbre obtenu par l'analyse du gène 28S, la tribu des Macropidini inclut *Afrodasypoda plumipes*, qui occupe une position basale au sein de la tribu.

En méthodes bayésiennes, *Macropis nuda* est significativement séparée du clade formé par *Macropis fulvipes*, *M. europaea* et *M. ciliata*, qui n'est pas supporté. En maximum de vraisemblance, les relations entre *Macropis ciliata*, *M. europaea*, *M. fulvipes* et *M. nuda* ne sont pas résolues.

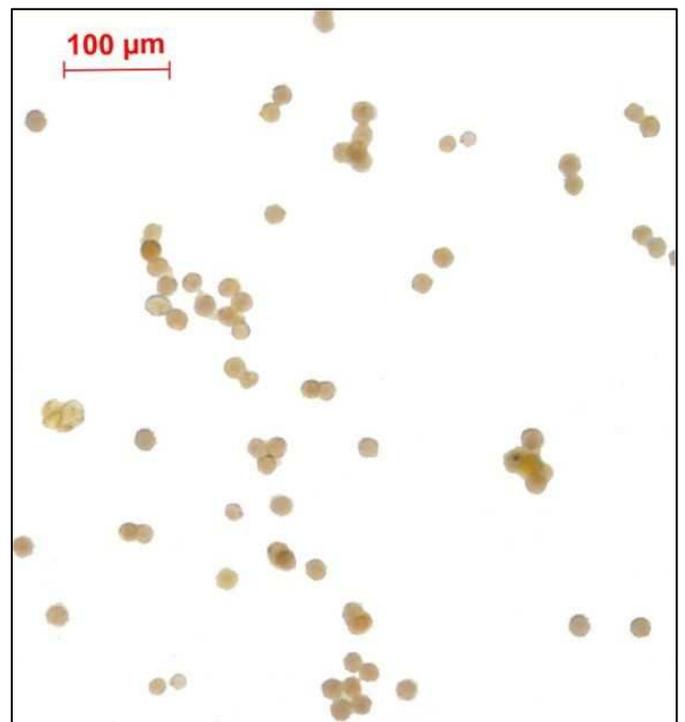
3.3. Palynologie

La figure 21 illustre les caractéristiques du pollen provenant de *Lysimachia sp.*

L'analyse microscopique des charges scopales provenant de 57 femelles de *Macropis* montre que les charges de 56 d'entre elles sont composées exclusivement de pollen de *Lysimachia sp* (Fig.22). Une femelle de *Macropis nuda* présente dans une proportion d'environ 30 % un autre type de pollen (Fig.23). Cependant, ce pollen provient très vraisemblablement d'une contamination « artificielle », l'individu ayant été collecté en 1920. De plus, l'indice de charge scopale est de un, ce qui réduit fortement le poids de cette donnée.



< **Figure 21.** Pollen de *Lysimachia sp.*



^ **Figure 22.** Pollen de la charge scopale.



< **Figure 23.** Pollen de la charge scopale présentant une contamination.

4. Discussion

4.1. Méthode de phylogénie moléculaire

Les gènes utilisés dans cette analyse 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 ; Larkin *et al.*, 2006 ; Praz *et al.*, 2008a ; Michez *et al.*, 2009b). Leur résolution phylogénétique cible des niveaux taxonomiques qui vont de la famille au genre. Par rapport aux questions posées dans cette étude, il aurait été utile et complémentaire d'intégrer un gène à taux de mutations plus élevé. L'utilisation d'un gène mitochondrial, par exemple COI (Cytochrome Oxydase I), aurait sans doute contribué à la résolution phylogénétique au sein des espèces du genre *Macropis*. Cependant, l'analyse des quatre gènes combinés (28S, Opsin, RNAP, EF-1 α) offre un arbre à topologie fiable et cohérente. Si l'on accepte l'incertitude au niveau de trois espèces de *Macropis* (*M. ciliata*, *M. europaea* et *M. fulvipes*), ces données permettent de formuler certaines hypothèses quant à l'évolution de la tribu des Macropidini. En outre, cette incertitude peut être partiellement gommée en intégrant la topologie et les valeurs de branches de l'analyse en méthodes bayésiennes du gène 28S et de l'ensemble des gènes. *Macropis fulvipes* serait plésiomorphe par rapport au clade formé par *M. europaea* et *M. ciliata*.

Les topologies obtenues pour chacun des gènes ne sont pas toujours résolues (*e.g.* EF-1 α) ni supportées (*e.g.* RNAP). Par contre, l'analyse des gènes combinés donne des résultats satisfaisants. Cela peut s'expliquer par la relative petite taille du jeu de données. Les fragments analysés ont une taille allant de 204 à 795 pb. La variabilité des séquences n'est sans doute pas assez marquée pour être correctement décelée. En revanche, la taille du jeu de données complet est de 2860 pb. Sur base de cette matrice, la variabilité devient suffisamment importante pour être analysée.

Les faibles résultats obtenus avec la partie codante d'EF-1 α sont vraisemblablement dus au grand nombre d'incertitudes qui ont été rajoutées pour compléter la matrice de données. Concernant l'intron d'EF-1 α , ce fragment de séquence n'étant pas soumis à la pression de sélection, la variabilité est telle que les résultats n'apportent aucune information utilisable.

4.2. Morphométrie géométrique vs phylogénie moléculaire

Plusieurs études ont montré que la morphométrie géométrique peut fournir des résultats assez similaires à la phylogénie moléculaire (Monteiro *et al.*, 2002 ; Lockwood *et al.*, 2004 ; Moraes *et al.*, 2004, Patterson & Schofield, 2005 ; Koch, 2010). Cependant, les caractères morphologiques peuvent évoluer à des vitesses différentes des caractères moléculaires et amener par conséquent à des topologies de groupement discordantes. De Meulemeester *et al* (sous presse) soulignent que ces divergences évolutives peuvent être expliquées par plusieurs phénomènes tels que la persistance de caractères plésiomorphes (Cardini, 2003), la sélection naturelle (Azevedo *et al.*, 1998 ; Gilchrist *et al.*, 2000 ; Cardini & Tongiorgi, 2003 ; Guill *et al.*, 2003), la sélection sexuelle (Vencl, 2004), la dérive génique (Cardini, 2003) ou encore par des phénomènes dus à des facteurs abiotiques (*e.g.* Aytekin *et al.*, 2009). Toujours selon De Meulemeester *et al.* (sous presse), les divergences évolutives entre les caractères morphologiques et les caractères moléculaires s'expriment selon deux schémas différents : (i) les faux négatifs, qui apparaissent dès lors que les caractères morphologiques évoluent plus rapidement que les caractères moléculaires. Ce *pattern* se retrouve par exemple chez les Strigidae et les Caprimulgidae. Ces deux familles d'oiseaux ont été considérées comme éloignées et classées dans des ordres distincts en raison de leurs différences morphologiques (Voous, 1973). Néanmoins, une étude basée sur des caractères moléculaires montre que ces deux familles appartiennent à un même ordre (*i.e.* Strigiformes) (Sibley & Ahlquist, 1990). Les différences morphologiques s'expliquent par leur régime alimentaire différent, carnivore chez les Strigidae et insectivore chez les Caprimulgidae. Le second *pattern* concerne (ii) les faux positifs, qui résultent de la convergence morphologique des caractères. Ce biais peut également être illustré par la phylogénie des oiseaux. Sur base des caractères morphologiques, les Strigidae et les Accipitridae ont longtemps été considérés comme des familles proches (Voous, 1973). Cependant, les études moléculaires ont montré que ces deux familles sont génétiquement très éloignées (ordres différents) (Sibley & Ahlquist, 1990). Leurs ressemblances morphologiques s'expliquent par leur régime alimentaire et leur mode de prédation identiques.

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 contenu dans l'aile. En se référant à la littérature, la forme de l'aile des abeilles n'est probablement pas un

caractère neutre. En effet, sa forme définit en partie les performances de vol de l'abeille et par conséquent son succès alimentaire (Hepbrun *et al.*, 1998). Plusieurs études sur l'abeille domestique *Apis mellifera* soulignent que la morphologie de l'aile peut être influencée par (i) des pressions environnementales, telles que la latitude (Altapov, 1929), l'altitude (Hepbrun *et al.*, 2000 ; Verma *et al.*, 1994), le climat (Hepbrun *et al.*, 2001 ; Radloff *et al.*, 2005 a,b ; Tan *et al.*, 2008), par (ii) la sélection sexuelle (Radloff *et al.*, 2003) ainsi que par (iii) des facteurs abiotiques tels que la température (Soose, 1954) ou la saisonnalité (Mattu & Verma, 1984). Cependant ces études ne considèrent pas la forme de l'aile comme un ensemble et n'analysent pas l'aile dans un contexte évolutif.

En confrontant nos résultats obtenus en morphométrie géométrique avec ceux obtenus en phylogénie moléculaire (Fig.24), nous pouvons apprécier la qualité du signal phylogénétique traduit par la forme de l'aile.

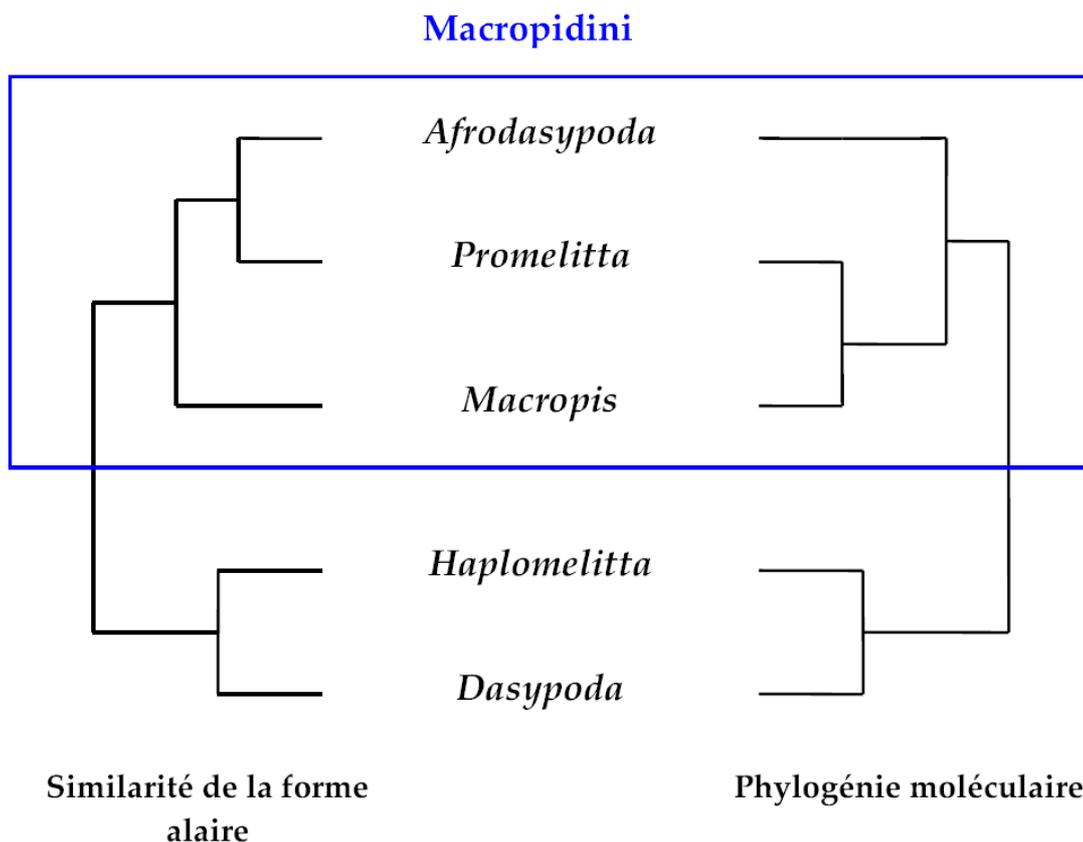


Figure 24. Représentation confrontée des arbres obtenus par la méthode de morphométrie géométrique alaire (à gauche) et par la phylogénie moléculaire (à droite).

Dans le cas de notre jeu de données, il semble que le signal phylogénétique porté par la forme de l'aile soit assez fort. Toutes les espèces ont été correctement regroupées dans leur genre correspondant. L'unique différence enregistrée entre les deux groupements concerne la position du genre *Promelitta*. D'après la morphométrie géométrique, *Promelitta* est similaire à *Afrodasyroda*, tandis que la phylogénie moléculaire regroupe les genres *Promelitta* et *Macropis*. L'importance du signal phylogénétique contenu dans la forme de l'aile ainsi que son faible degré d'homoplasie ont notamment été soulignés dans le cas des drosophiles (Klingenberg & Gidaszewski, 2010).

Les résultats obtenus montrent donc que la similarité de la forme des ailes ne traduit pas exactement les relations phylogénétiques. Cependant, l'intensité du signal phylogénétique exprimé par la forme de l'aile est suffisamment élevée pour nous permettre de discuter des affinités taxonomiques des trois spécimens fossiles étudiés. En outre, la morphométrie géométrique regroupe correctement les Macropidini, ce qui suggère que la forme de l'aile constitue une synapomorphie partagée par les genres de cette tribu. Cela implique que l'appartenance ou non aux Macropidini peut être définie sur base de la forme de l'aile.

4.3. Systématique des Macropidini

Il est vraisemblable que la forme de l'aile partagée par *Afrodasyroda plumipes*, *Promelitta alboclypeata* et *Paleomacropis eocenicus* soit une symplésiomorphie, et nous empêche donc de positionner exactement le fossile *Paleomacropis eocenicus*. La phylogénie moléculaire montre également que le genre *Macropis* est un groupe évolué par rapport aux genres *Afrodasyroda* et *Promelitta*, ce qui suggère que la forme de l'aile des *Macropis* pourrait être une apomorphie. *Eomacropis glaesaria* et *Paleomelitta nigripennis* présentent une grande similarité dans la forme de l'aile avec les *Macropis*, ce caractère pourrait par conséquent être une synapomorphie partagée par les trois représentants qui formeraient ainsi un groupe monophylétique.

4.3.1. *Eomacropis glaesaria*

Ce fossile fut décrit comme étant proche du genre *Macropis*, s'en différenciant principalement par l'absence de structures adaptées à la collecte d'huile (Engel, 2001). *Eomacropis glaesaria* est repris dans la définition actuelle de la tribu des Macropidini (Michez *et al.*, 2009b). Effectivement, le fossile présente certains traits morphologiques typiques des Macropidini, tels que ses deux cellules cubitales et les

dents subapicales prononcées de la mandibule (Engel, 2001). Sur base de la morphométrie géométrique alaire, nos résultats confirment cette hypothèse. La forme de l'aile d'*Eomacropis glaesaria* présente une grande similarité avec celle de *Paleomelitta nigripennis*. De plus, *Eomacropis glaesaria* et *Paleomelitta nigripennis* présentent plusieurs caractéristiques morphologiques communes (c.f. 4.3.3). Ces deux fossiles proviennent du gisement d'ambre de la Baltique. La conjoncture de ces divers éléments suggère qu'*Eomacropis glaesaria* et *Paleomelitta nigripennis* auraient pu être des taxons proches. *Eomacropis glaesaria* affiche secondairement une similarité dans la forme de l'aile avec le genre *Macropis*. Outre cette similarité, *Eomacropis glaesaria* partage avec les *Macropis* la présence de la plaque basitibiale (Michez *et al.*, 2007b).

4.3.2. *Paleomacropis eocenicus*

Michez *et al.* (2007b) décrivent ce fossile comme faisant partie des Macropidini, avec lesquels il partage, outre les caractéristiques communes aux Melittidae, la présence de deux cellules cubitales. *Paleomacropis eocenicus* possède des soies qui pourraient être associées à la récolte d'huile (c.f. 1.2.3.1.2.), ce qui suggère qu'il pourrait former un groupe frère avec le genre *Macropis* (Michez *et al.*, 2007b). Cette hypothèse n'est pas soutenue par les résultats obtenus dans cette étude. En se référant à la similarité dans la forme de l'aile, le fossile montre une affinité avec les genres *Afrodasympoda* et *Promelitta*. *Paleomacropis eocenicus* ne partage pas d'affinité dans la forme de l'aile avec les deux autres fossiles, *Eomacropis glaesaria* et *Paleomelitta eocenicus*. *Paleomacropis eocenicus* se distingue notamment de ces derniers par l'absence de la rainure scrobale, par les dents arrondies pré-apicales de la mandibule et la présence d'une carène épineuse sur l'angle dorsolatéral du pronotum. Il se distingue d'*Eomacropis glaesaria* par les longues soies dressées sur le sternite metasomal et par les denses soies plumeuses sur le mesotarse (Michez *et al.*, 2007b).

4.3.3. *Paleomelitta nigripennis*

Ce fossile a été décrit par Engel (2001) comme appartenant à la famille des Paleomelittidae. *Paleomelitta nigripennis* présente un mesacoxa complètement exposé, ce qui le rapproche des Melittidae et le distingue de toutes les autres familles d'abeilles à langue courte (Michener, 2000). Engel (2001) estime que ce fossile « pourrait être considéré comme la sous-famille basale des Melittidae mais cela rendrait les Melittidae paraphylétiques », et préfère donc « l'élever au rang de famille ». Sur base de la morphométrie alaire, *Paleomelitta nigripennis* partage une

affinité avec *Eomacropis glaesaria*. Il semble très probable que ces deux espèces fossiles forment un groupe monophylétique avec les *Macropis*.

D'après la description d'Engel (2001), *Paleomelitta nigripennis* partage plusieurs caractéristiques morphologiques avec *Eomacropis glaesaria*, ce qui renforce l'hypothèse que ces deux taxons soient proches. Ces caractéristiques sont, entre autres, la présence de la rainure scrobale, le premier article du flagelle plus long que le deuxième ; le scutellum surmontant bien le metanotum ; ponctuations du clypéus et du labrum similaires à celles d'*Eomacropis glaesaria* ; labrum, front et metanotum avec soies simples, dispersées, courtes et dressées. En outre, *Paleomelitta nigripennis* possède deux cellules cubitales et sa mandibule présente des dents subapicales prononcées. Ces deux dernières caractéristiques sont typiques des Macropidini. Par conséquent, il paraît cohérent de procéder à un repositionnement systématique de *Paleomelitta nigripennis*, qui serait un nouveau genre fossile de la tribu des Macropidini, appartenant à la famille des Melittidae.

4.4. Origines multiples des structures adaptées à la collecte d'huile

Trois genres de Melittinae sont connus pour être collecteurs d'huile (Michez *et al.*, 2009b). Les structures particulières permettant la collecte d'huile ont été décrites chez les genres actuels *Macropis* et *Rediviva* et chez le genre fossile *Paleomacropis* (Vogel, 1974 ; Michez & Patiny, 2005 ; Michez *et al.*, 2007b). Ces adaptations morphologiques ne se retrouvent pas chez les autres genres actuels (*Afrodasyroda*, *Promelitta*, *Melitta*, *Redivivoides*) ni chez les deux genres fossiles (*Eomacropis* et *Paleomelitta*). Ces genres se nourrissent -se nourrissaient- probablement que de nectar et de pollen (Michez & Eardley, 2007 ; Michez *et al.*, 2007c). L'ensemble des résultats obtenus nous fournissent certains éléments quant aux origines des structures spécialisées pour la collecte d'huile. En considérant la phylogénie déduite de nos résultats et en admettant que les phénomènes d'apparitions ou de disparitions des structures adaptées à la collecte d'huile sont équiprobables, l'hypothèse d'apparitions indépendantes de ces structures chez les genres *Macropis*, *Paleomacropis* et *Rediviva* se révèle être plus parcimonieuse que l'hypothèse des disparitions multiples (Fig.25A, B). Effectivement, en supposant que l'ancêtre des Melittinae était collecteur d'huile, cela impliquerait un total de six pas évolutifs, correspondant à six délétions du caractère (*Afrodasyroda*, *Promelitta*, *Eomacropis*, *Paleomelitta*, *Redivivoides* et *Melitta*) (Fig.25A). Dans le cas où l'ancêtre des Melittinae n'était pas collecteur d'huile, l'hypothèse impliquerait un total de quatre pas évolutifs : trois apparitions (*Macropis*, *Paleomacropis* et *Rediviva*) et une délétion (*Redivivoides*) du caractère (Fig.25B).

L'hypothèse de l'ancêtre non collecteur d'huile et de l'apparition indépendante des adaptations morphologiques conforte l'hypothèse formulée par Michez *et al.* (2009b) et Renner & Schaefer (2010). Le scénario d'apparitions multiples des structures adaptées à la collecte d'huile chez les Melittidae est cohérent avec ce que l'on observe chez d'autres groupes d'abeilles. Buchmann (1987) rapporte que le comportement « collecteur d'huile » existe au moins chez quatre tribus non apparentées d'Apidae : Centridini, Ctenoplectrini, Exomalopsini et Tetrapediini.

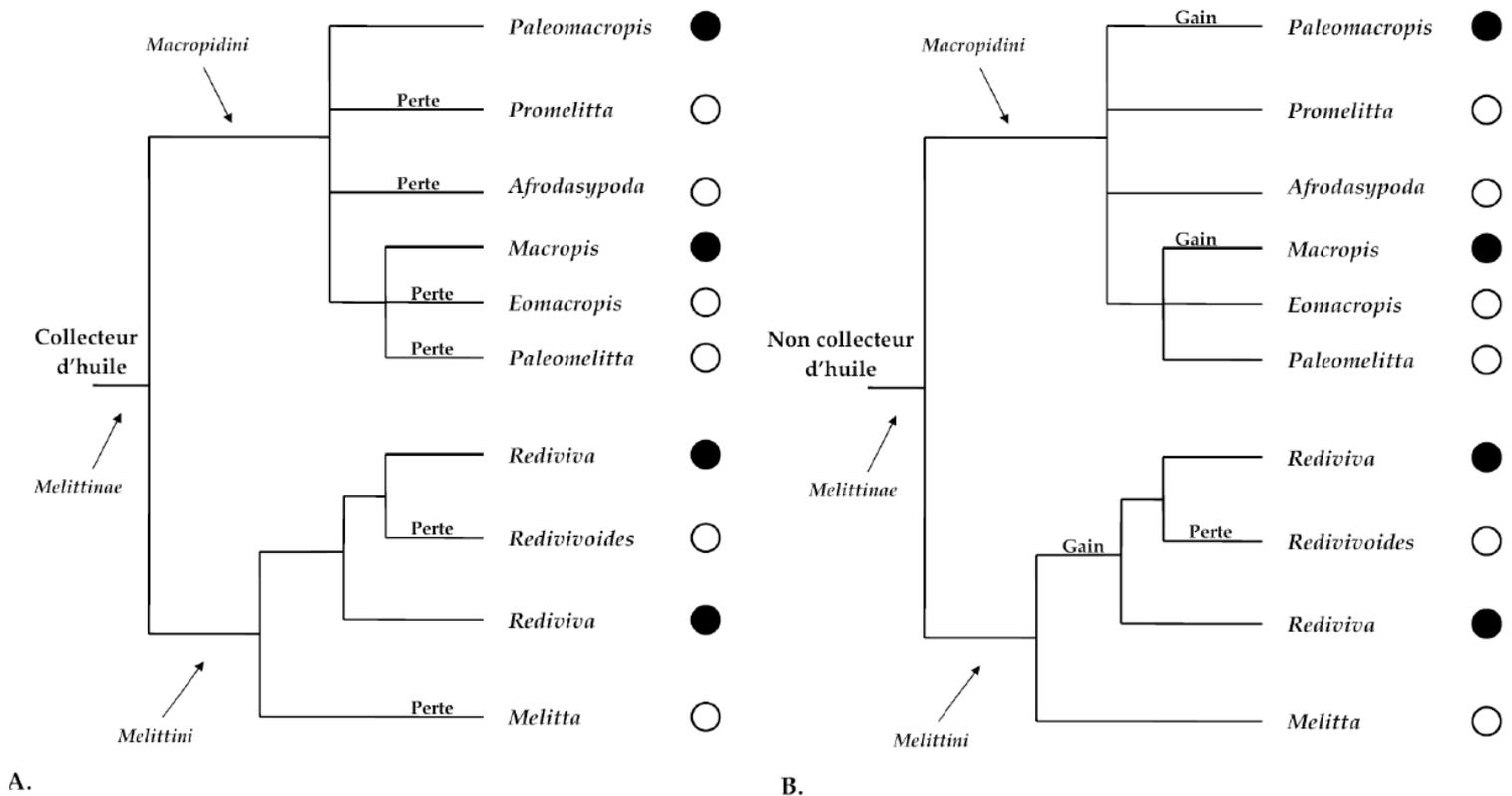


Figure 25. Evolution des structures permettant la collecte d'huile chez les Melittinae.
 A. Hypothèse de l'ancêtre collecteur d'huile (six pas évolutifs). B. Hypothèse de l'ancêtre non collecteur d'huile (quatre pas évolutifs).

4.5. Biogéographie des Macropidini

4.5.1. La transition Afrique-Eurasie

Les résultats obtenus nous permettent d'éclaircir en partie l'histoire biogéographique des Macropidini. Le maximum de diversité générique de la tribu se situe en Afrique, ce qui suggère que les Macropidini sont vraisemblablement originaires de ce continent. Cela est cohérent avec les données biogéographiques des autres Melittidae : la sous-famille des Meganomiinae est restreinte à l'Afrique, tandis que la majeure partie des genres et espèces des sous-familles Melittinae et Dasypodainae se retrouvent sur ce même continent (Michener, 1979). En outre, la probable origine africaine des abeilles est soutenue par Danforth *et al.* (2006b). D'après la présente phylogénie moléculaire (Fig.19, 20), *Afrodasygoda plumipes* est le taxon le plus plésiomorphe de la tribu, ce qui sous-entend que la tribu trouverait son origine dans le sud de l'Afrique. L'expansion de la tribu vers le nord a probablement été à l'origine de l'apparition du genre *Promelitta*, genre que l'on retrouve au Maroc et à la frontière égypto-soudanaise. La tribu a vraisemblablement gagné le bloc eurasiatique via le détroit de Gibraltar. Le fossile retrouvé dans l'Oise, *Paleomacropis eocenicus*, et appartenant à la tribu des Macropidini date de 53 millions d'années, ce qui suggère que l'invasion de l'Eurasie s'est produite antérieurement à cette date. Il est probable que cette voie d'expansion ait été suivie par d'autres groupes d'abeilles, tels que les Meliponini (Rasmussen & Cameron, 2010).

4.5.2. Connexions Paléarctique-Néarctique au début du Tertiaire

Bien que la grande partie des disjonctions Néarctique-Paléarctique s'explique par l'existence d'une connexion au niveau du détroit de Béring (Darlington, 1957 ; Andersen, 1993 ; Hines, 2008 ; Praz *et al.*, 2008a), le pont Thuléen (Fig.26) fut sans doute la connexion la plus utilisée par la faune du Paléarctique durant le début du Tertiaire (Sanmartin *et al.*, 2001). Cette route joignant les îles britanniques et le Groenland existait depuis le début du Tertiaire (-60 Ma) et fut brisée aux environs de - 50 millions d'années (McKenna, 1983). Une autre voie connectant le Paléarctique et le Néarctique a persisté jusqu'à l'Eocène Supérieur (-39 Ma). Cette voie connectait la Scandinavie et le nord du Groenland. Cependant, la dispersion via cette route ne concernait que les organismes adaptés à un climat froid. Cette connexion semble avoir été que très peu empruntée pour la dispersion de la faune et de la flore (Sanmartin *et al.*, 2001). Selon la reconstruction paléogéographique de cette époque, le détroit de Béring se trouvait à proximité du pôle nord, ce qui implique que les conditions climatiques restreignaient sans doute la

dispersion des organismes non adaptés au froid (Tiffney, 1985). En outre, l'étude de Sanmartin *et al.* (2001) indique que le pont du détroit de Béring fut d'importance mineure en ce qui concerne les migrations intercontinentales de la faune durant l'Eocène Inférieur et Moyen. Cependant, les auteurs n'excluent pas d'éventuels passages durant cette période.

Les connexions trans-paléarctiques ont été empêchées par la Mer de Turgäi depuis le Jurassique Moyen (-180 Ma) jusqu'à l'Oligocène (-30 Ma) (Sanmartin *et al.*, 2001).

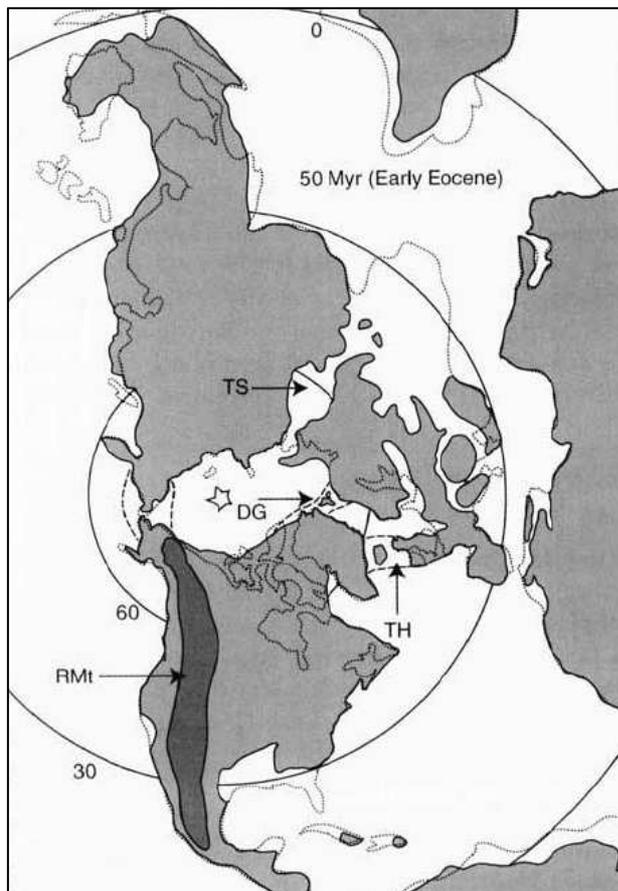


Figure 26.

Reconstruction paléogéographique de l'hémisphère nord, au début du Tertiaire (-50 Ma) d'après Sanmartin *et al.* (2001). On peut notamment y observer l'existence de deux connexions transatlantiques, le pont thuléen (TH) et le pont de De Geer (DG). La Mer de Turgäi (TS) divise le Paléarctique.

4.5.3. Apparition et dispersion du genre *Macropis*

L'origine géographique des *Macropis* n'est pas certaine. En regard des données paléogéographiques et des résultats phylogénétiques obtenus, deux hypothèses semblent se dessiner.

La première situe l'apparition du genre *Macropis* en Asie du sud-est. Cette région compte le maximum de diversité générique, avec la présence de trois sous-genres contre un sous-genre dans l'Ouest-Paléarctique et dans le Néarctique (Michez & Patiny, 2005). Selon cette hypothèse, le *proto-Macropis* non collecteur d'huile, probable ancêtre commun des *Macropis* et des fossiles de la Baltique, *Eomacropis glaesaria* et *Paleomelitta eocenicus*, a probablement atteint le Néarctique depuis l'Ouest-Paléarctique via le pont Thuléen. Il aurait ensuite atteint l'est asiatique via le détroit de Béring. Le sud-est asiatique correspond vraisemblablement à l'origine géographique des lysimaques (Hao *et al.*, 2004). Il est probable qu'en présence de cette ressource alimentaire probablement non-exploitée par les autres Apoïdes, le *proto-Macropis* se soit spécialisé et ait donné naissance au genre *Macropis*. Cette hypothèse est concordante avec l'idée émise par Vogel (1986) et justifie la grande diversité de *Lysimachia* et de *Macropis* dans le sud-est asiatique. Les *Macropis* se seraient alors diversifiées et auraient colonisé le Néarctique et l'Ouest-Paléarctique par les mêmes voies empruntées par le *proto-Macropis* (Fig.27). Nos résultats phylogénétiques excluent l'hypothèse selon laquelle les *Macropis* se seraient dispersées dans l'Ouest-Paléarctique suite à la fermeture de la Mer de Turgai (-30 Ma). En effet, la proximité entre *Macropis europaea*, européenne, et *Macropis ciliata*, américaine, témoigne d'échanges entre l'Ouest-Paléarctique et le Néarctique via le pont Thuléen.

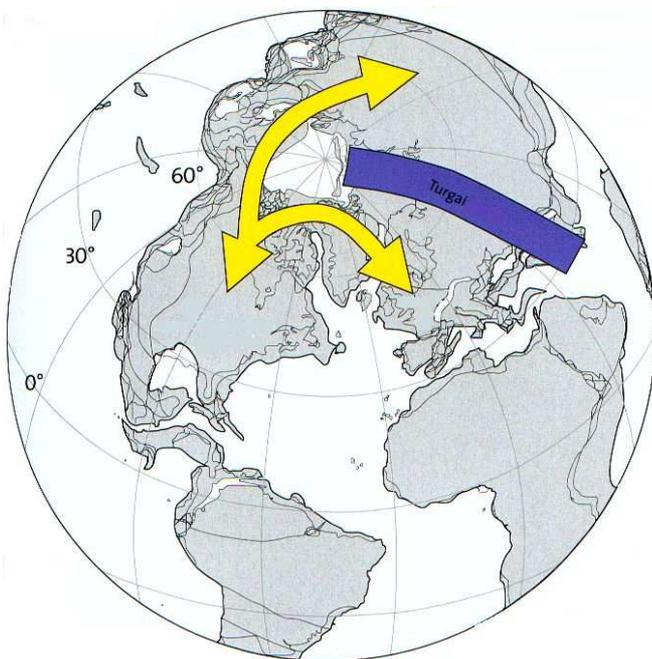


Figure 27.

Représentation paléogéographique du monde durant l'Eocène. Les flèches jaunes illustrent les probables voies de dispersion suivies par les *Macropis* ainsi que par une grande partie de la Faune terrestre. Le trait bleu correspond à la Mer de Turgai, isolant l'Europe et l'Asie (d'après Gruber & Micklich, 2007)

Une autre hypothèse pourrait être que les *Macropis* soient apparues dans l'Ouest-paléarctique (Fig.28). Plusieurs données pourraient appuyer cette idée. Premièrement, notre phylogénie montre que *Macropis frivaldszkyi* est l'espèce la plus plésiomorphe du genre (pour notre jeu de données). Cette espèce présente une distribution ouest-paléarctique. Ensuite, les résultats de morphométrie géométrique alaire montrent que les fossiles *Paleomelitta nigripennis* et *Eomacropis eocenicus* sont sans doute les fossiles les plus proches des *Macropis* connus à ce jour. Or, ces fossiles proviennent de la Baltique. Enfin, la lysimaque, ressource alimentaire des *Macropis*, était sans doute déjà présente dans l'Ouest-Paléarctique durant l'Eocène, comme le suggère les graines fossiles découvertes dans le Jutland, au Danemark, et dont la datation est estimée entre -53 et -28 millions d'années (Renner & Schaefer, 2010).

La grande diversité des *Macropis* enregistrée dans l'est de l'Asie pourrait s'expliquer par la grande diversité de lysimaques dans cette région du Monde. Un grand nombre de sous genres de *Lysimachia* sont concentrés dans l'est de la Chine (Hu, 1994 ; Hu & Kelso, 1996). D'autre part, la faible diversité des *Macropis* dans l'Ouest-Paléarctique peut-être justifiée par les récents épisodes glaciaires. En effet, l'Asie renferme un degré de diversité plus élevé que dans les autres régions du monde pour une grande partie de la faune et de la flore (Sanmartin *et al.*, 2001). C'est le cas par exemple des papillons *Coenonympha* (Kodandaramaiah & Wahlberg, 2009). Tiffney (1985) évoque la possibilité que cette région du Paléarctique ait servi de refuge glaciaire durant les derniers épisodes de glaciations. Il est connu que les glaciations du Pleistocène (-2,5 Ma) ont été plus sévères et latitudinalement plus basses dans le nord de l'Amérique et en Europe qu'en Asie (Pielou, 1979 ; Sanmartin, 2001), ce qui a provoqué un grand taux d'extinctions en Amérique du Nord et en Europe (Tiffney, 1985).

Quelque soit l'hypothèse considérée, le passage des *Macropis* par le pont Thuléen implique que ces dernières sont probablement apparues entre -60 et -50 millions d'années, dates durant lesquelles la connexion géographique s'est maintenue. De plus, la courte période d'existence de ce pont peut justifier la diversification rapide des espèces de *Macropis* suggérée par la phylogénie. Enfin, les résultats montrent que les *Macropis* américaines sont paraphylétiques, ce qui sous-entend l'existence de plusieurs migrations successives entre le Néarctique et le Paléarctique.



Figure 28. Voies hypothétiques de migrations au sein de la tribu des Macropidini.

4.5. Oligolectisme des *Macropis*

Nos résultats confirment l'oligolectisme des *Macropis*. La stratégie alimentaire des *Macropis* était fortement suspectée d'après les observations de terrain (c.f. Michez & Patiny, 2005). Remarquons que l'analyse microscopique peut fournir dans certains cas des résultats inattendus. Le cas du polylectisme des abeilles du genre *Meganomia* en est un exemple (Michez *et al.*, 2010).

5. Conclusion

La forme de l'aile est un critère fiable pour définir la tribu des Macropidini. Dans ce contexte, la position des fossiles *Eomacropis* et *Paleomacropis* au sein des Macropidini (Michez *et al.*, 2007b, 2009b) est confirmée. En outre, la position systématique de *Paleomelitta nigripennis* est discutée. Les éléments obtenus dans cette étude nous permettent, avec une certaine confiance, d'inclure ce fossile au sein des Macropidini. Cela implique la mise en synonymie de la famille des Paleomelittidae créée par Engel (2001).

L'ancêtre de Melittinae n'était probablement pas collecteur d'huile. Nos données semblent indiquer que les structures adaptées à la collecte d'huile sont apparues indépendamment à trois reprises chez les Melittinae (*Paleomacropis*, *Macropis* et *Rediviva*) et disparues ponctuellement (*Redivivoides*). Ces résultats confirment l'hypothèse préalablement émise par Michez *et al.* (2009b) et Renner & Schaefer (2010).

Il est fort probable que l'origine des Macropidini se situe au sud de l'Afrique. La colonisation de l'Holarctique a probablement débuté depuis l'Ouest-Paléarctique et s'est propagée successivement dans le Néarctique et l'Est-Paléarctique. Il est possible que le genre *Macropis* soit apparu entre -60 et -50 millions d'années. L'origine géographique exacte du genre ne peut être définie, mais il est vraisemblable qu'elle se situe dans le Paléarctique. Il semble très plausible que plusieurs vagues de migrations des *Macropis* aient eu lieu entre le Paléarctique et le Néarctique.

L'oligolectisme des *Macropis* n'est pas remis en cause sur base d'analyses microscopiques de pelotes scopales.

6. Perspectives

Plusieurs analyses pourraient venir compléter ce travail. Il serait tout d'abord intéressant d'établir une phylogénie morphologique de la tribu basée sur des caractères discrets. Cela nous permettrait notamment de lever l'incertitude concernant la position exacte de *Paleomacropis eocenicus* au sein des Macropidini et de confirmer la monophylie du clade formé par *Eomacropis glaesaria*, *Paleomelitta nigripennis* et les *Macropis*.

D'autre part, il s'avérerait pertinent d'inclure les espèces de *Macropis* asiatiques à la phylogénie moléculaire. Cela permettrait de statuer sur l'origine exacte du genre au niveau du Paléarctique et d'affiner les hypothèses concernant les modalités de colonisation de l'Holarctique.

7. Bibliographie

- Adams, D.C., F.J. Rohlf, & D. E. Slice, 2004.** Geometric Morphometrics: Ten Years of Progress Following the 'Revolution', *Italian Journal of Zoology*, **75**: 5-16
- Akaike, H., 1974.** A new look at the statistical model identification, *IEEE Transactions on Automatic Control*, **19**: 716-723
- Alexander, B.A., 1992.** An exploratory analysis of cladistic relationships within the superfamily Apoidea, with special reference to sphecid wasps (Hymenoptera), *Journal of Hymenoptera Research*, **1**: 25-61
- Alexander, B.A. & C.D. Michener, 1995.** Phylogenetic studies of the families of short-tongued bees (Hymenoptera : Apoidea), *The University of Kansas Science Bulletin*, **55**: 377 - 424
- Alibert, P., B. Moureau, J. L. Dommergues, & B. David, 2001.** Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera, Carabidae): a geometrical morphometric approach, *Zoologica Scripta*, **30**: 299-311
- Alpatov, W.W., 1929.** Biometrical studies on variation and races of the honey bee *Apis mellifera* L., *The Quarterly Review of Biology*, **4**: 1-58
- Anderberg, A.A., & B. Ståhl, 1995.** Phylogenetic interrelationships in the order Primulales, with special emphasis on the family circumscriptions, *Canadian Journal of Botany*, **73**: 1699-1730
- Anderberg, A.A., B. Ståhl, & M. Källersjö, 1998.** Phylogenetic relationships in the Primulales inferred from *rbcL* sequence data, *Plant Systematics and Evolution*, **211**: 93-102
- Anderberg, A.A., C. Rydin & M. Källersjö, 2002.** Phylogenetic relationships in the order Ericales *s.l.*: analyses of molecular data from five genes from the plastid and mitochondrial genomes, *American Journal of Botany*, **89**: 677-687
- Anderberg, A.A., U. Manns & M. Källersjö, 2007.** Phylogeny and floral evolution of the Lysimachieae (Ericales, Myrsinaceae): evidence from *ndhF* sequence data, *Willdenowia*, **37**: 407-421
- Andersen, N.M., 1993.** Classification, phylogeny, and zoogeography of the pond skater genus *Gerris* Fabricius (Hemiptera: Gerridae), *Canadian Journal of Zoology*, **71**: 2473-2508
- Ayala, R., T.L. Griswold, & S.H. Bullock, 1993.** *The native bees of Mexico*, in *Biological Diversity of Mexico. Origin and Distribution*, T.P. Ramamoorthy, et al., Editors, Oxford University Press: New York. 179-227
- Aytekin, A.M., P. Rasmont, & N. Çagatay, 2003.** Molecular and morphometric variation in *Bombus terrestris lucoformis* Krüger and *Bombus terrestris dalmatinus* Dalla Torre (Hymenoptera: Apidae), *Mellifera*, **3 (6)**: 34-40

- Aytekin, A.M., M. Terzo, P. Rasmont, & N. Çagatay, 2007. Landmark based geometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille), *Annales de la Société entomologique de France* (n. s.), **43**: 95-102
- Aytekin, S., A.M. Aytekin, & B. Alten, 2009. Effect of different larval rearing temperatures on the productivity (R0) and morphology of the malaria vector *Anopheles superpictus* Grassi (Diptera: Culicidae) using geometric morphometrics, *Journal of Vector Ecology*, **34**: 32-42
- Azevedo, R.B.R., A. C. James, J. McCabe, & L. Partridge, 1998. Latitudinal variation of wing : thorax size ratio and wing-aspect ratio in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, **52**: 1353-1362
- Bischoff, I., S. Schröder, & B. Misof, 2009. Differentiation and Range Expansion of North American Squash Bee, *Peponapis pruinosa* (Apidae: Apiformes) Populations Assessed by Geometric Wing Morphometry, *Annals of the Entomological Society of America*, **102**: 60-69
- 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.
- Buchmann, S.L., 1987. The ecology of oil flowers and their bees, *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**: 343-369
- 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
- Cane, J.H., G.C. Eickwort, F.R. Wesley, & J. Spielholz, 1983. Foraging, grooming and mate-seeking behaviors of *Macropis nuda* (Hymenoptera, Melittidae) and use of *Lysimachia ciliata* (Primulaceae) oils in larval provisions and cell linings, *American Midland Naturalist*, **110**: 257-264
- Cardini, A., 2003. The geometry of the marmot (Rodentia : Sciuridae) mandible: Phylogeny and patterns of morphological evolution, *Systematic Biology*, **52**: 186-205
- 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
- Cardini, A. & P. Tongiorgi, 2003. Yellow-bellied marmots (*Marmota flaviventris*) 'in the shape space' (Rodentia, Sciuridae): sexual dimorphism, growth and allometry of the mandible, *Zoomorphology*, **122**: 11-23
- Celary, W., 2004. A comparative study on the biology of *Macropis fulvipes* (Fabricius, 1804) and *Macropis europaea* Warncke, 1973 (Hymenoptera : Apoidea : Melittidae), *Folia Biologica-Krakow*, **52**: 81-85
- Chinery, M., 2005. *Insectes de France et d'Europe occidentale*. Flammarion ed. 320 p.

- Cronquist, A., 1981.** *An Integrated System of Classification of Flowering Plant*. Columbia University Press, New York, NY ed p.
- d'Aguilar, J., 2006.** *Histoire de l'entomologie*. Les références du naturaliste, Paris: Delachaux et Niestlé. 224 p.
- 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**: 309-326
- Danforth, B.N., L. Conway, & S.Q. Ji, 2003.** Phylogeny of eusocial *Lasioglossum* reveals multiple losses of eusociality within a primitively eusocial clade of bees (Hymenoptera : Halictidae), *Systematic Biology*, **52**: 23-36
- 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. & S. Ji, 1998.** Elongation factor-1 alpha occurs as two copies in bees: implications for phylogenetic analysis of EF-1 alpha sequences in insects, *Molecular Biology and Evolution*, **15**: 225-235
- Danforth, B.N., S. D. Sipes, J. Fang, & S. G. Brady, 2006b.** The history of early bee diversification based on five genes plus morphology, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**: 15118-15123
- Darlington, P.J., 1957.** *Zoogeography: The Geographical Distribution of Animals*. New York: John Wiley and Sons ed p.
- Davis, C.C., C.D. Bell, S. Mathews, & M.J. Donoghue, 2002.** Laurasian migration explains Gondwanan disjunction: Evidence from Malpighiaceae, *Proceeding of the National Academy of Sciences*, **99**: 3833-3837
- De Meulemeester, T., D. Michez, A. M. Aytakin, & B. N. Danforth, 2011, in press.** Taxonomic affinity of halictid bee fossils (Hymenoptera: Anthophila) based on geometric morphometrics analyses of wing shape, *Journal of Systematic Palaeontology*
- De Franceschi, D., & G. De Ploëg, 2003.** Origine de l'ambre des faciès sparnaciens (Eocène inférieur) du bassin de Paris : le bois de l'arbre producteur, *Geodiversitas*, **25**: 663-647
- Eickwort, G.C., & H.S. Ginsberg, 1980.** Foraging and mating behavior in Apoidea, *Annual Review of Entomology*, **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
- Felsenstein, J., 1985.** Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap, *Evolution*, **39**: 783-791

- Francisco, F.O., P. Nunes-Silva, T.M. Franco, D. Wittmann, V.L. Imperatriz-Fonseca, M.C. Arias, & E.D. Morgan, 2008. Morphometrical, biochemical and molecular tools for assessing biodiversity. An example in *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Apidae, Meliponini), *Insectes Sociaux*, **55**: 231-237
- Gallai, N., J. M. Salles, J. Settele, & B. Vaissière, 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline, *Ecological Economics*, **68**: 810
- Gilchrist, A.S., R. B. R. Azevedo, L. Partridge, & P. O'Higgins, 2000. Adaptation and constraint in the evolution of *Drosophila melanogaster* wing shape, *Evolution & Development*, **2**: 114-124
- Gruber, G., & N. Micklich, 2007. *Messel. Schätze der Urzeit*. Konrad Theiss Verlag, Stuttgart ed. 160 p.
- Guill, J.M., C.S. Hood, & D.C. Heins, 2003. Body shape variation within and among three species of darters (Perciformes : Percidae), *Ecology of Freshwater Fish*, **12**: 134-140
- Hao, G., Y. M. Yuan, C. M. Hu, X. J. Ge & N. X. Zhao, 2004. Molecular phylogeny of *Lysimachia* (Myrsinaceae) based on chloroplast *trnL-F* and nuclear ribosomal ITS sequences, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **31**: 323-339
- Heinrich, B., 1976. Foraging specializations of individual bumble bees, *Ecological Monographs*, **46**: 105-128
- Hepburn, H.R., C. Youthed, P. Illgner, S. E. Radloff, & R. E. Brown, 1998. Production of aerodynamic power in mountain honeybees (*Apis mellifera*), *Naturwissenschaften*, **85**: 389-390
- Hepburn, H.R., S. E. Radloff, S. Verma, & L. R. Verma, 2001. Morphometric analysis of *Apis cerana* populations in the southern Himalayan region, *Apidologie*, **32**: 435-447
- Hepburn, H.R., S.E. Radloff, & S. Oghiakhe, 2000. Mountain honeybees of Africa, *Apidologie*, **31**: 205-221
- Hillis, D.M., & J. J. Bull, 1993. An Empirical Test of Bootstrapping as a Method for Assessing Confidence in Phylogenetic Analysis, *Systematic Biology*, **57**: 58-75
- Hines, H., 2008. Historical biogeography, divergence times, and diversification patterns of bumble bees (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*), *Systematic Biology*, **57**: 58-75
- 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
- Hu, C.-M., 1994. On the geographical distribution of the Primulaceae, *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, **2**: 1-14
- Hu, C.-M., & S. Kelso, 1996. *Primulaceae*, in *Flora of China*, Z.-Y. Wu, Raven P.H., Science Press, Beijing, China and Missouri Botanical Garden, St. Louis, Editor. p. 39-189

- Källersjö, M., G. Bergqvist & A. A. Anderberg, 2000. Generic realignment in primuloid families of the Ericales *s.l.*: a phylogenetic analysis based on DNA sequences from three chloroplast genes and morphology, *American Journal of Botany*, **87**: 1325-1341
- Katoh, K., K. Misawa, K. Kuma, & T. Miyata, 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform, *Nucleic Acids Research*, **30**
- 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
- Kendall, D.G., 1977. The diffusion of shape, *Advances in Applied Probability*, **9**: 428-430
- Klingenberg, C.P., & N. A. Gidaszewski, 2010. Testing and Quantifying Phylogenetic Signals and Homoplasy in Morphometric Data, *Systematic Biology*, **53**: 245-261
- Koch, H., 2010. Combining morphology and DNA barcoding resolves the taxonomy of Western Malagasy *Liotrigona* Moure, 1961 (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), *African Invertebrates*, **51**: 413-421
- Kodandaramaiah, U., & N. Wahlberg, 2009. Phylogeny and biogeography of *Coenonympha* butterflies (Nymphalidae: Satyrinae) – patterns of colonization in the Holarctic, *Systematic Entomology*, **34**: 315-323
- 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
- Lockwood, C.A., W. H. Kimbel, & J. M. Lynch, 2004. Morphometrics and hominoid phylogeny: Support for a chimpanzee–human clade and differentiation among great ape subspecies, *PNAS*, **101**: 4356–4360
- Lovell, J.H., 1912. Bees wick visit only one species of flower, *Population Science Monthly*, **81**: 197-203
- Lovell, J.H., 1913. The origin of the oligotropic habit among bees, *Entomological News*, **24**: 104-112
- Lovell, J.H., 1914. The origin of oligotropism, *Entomological News*, **25**: 314-321
- Maddison, W.P. & D.R. Maddison, 2006. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis, version 2,6 (build 486),
- 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
- Mattu, V.K. & L.R. Verma, 1984. Morphometric studies on the Indian honeybee, *Apis cerana indica* F. - effect of seasonal variations, *Apidologie*, **15**: 63-74

- McKenna, M.C., 1983.** *Cenozoic paleogeography of North Atlantic land bridges*, in *Structure and development of the Greenland-Scotland bridge: New concepts and Methods*, S.S. Bott MHP, Talwani and T.J. M, Editors. p. 351-395
- 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., 1979.** Biogeography of the bees, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **66**: 277-342
- Michener, C.D., 1981.** Classification of the bee family Melittidae with a review of species of Meganomiinae, *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*,
- Michener, C.D. & L. Greenberg, 1980.** Ctenoplectridae and the origin of long-tongued bees, *Zoological Journal of the Linnean Society*, **69**: 183-203
- Michener, C.D., R.J. McGinley, & B.N. Danforth, 1994.** *The Bee Genera of North and Central America*, Washington and London: Smithsonian Institution Press. 209 pp.
- Michez, D., 2007.** Monographic revision of the Melittidae *s.l.* (Hymenoptera: Apoidea: Dasypodidae, Meganomiidae, Melittidae), *Laboratoire de Zoologie*, 50
- Michez, D., C. Eardley, M. Kuhlmann & S. Patiny, 2007a.** Revision of the bee genus *Capicola* (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae) distributed in the Southwest of Africa, *European Journal of Entomology*, **104**: 311-314
- Michez, D., A. Nel, J-J. Menier, & P. Rasmont, 2007b.** The oldest fossil of a melittid bee (Hymenoptera : Apiformes) from the Early Eocene of Oise (France), *Zoological Journal of the Linnean Society*, **150**: 701-709
- Michez, D., S. Patiny, P. Rasmont, K. Timmermann, & N.J. Vereecken, 2008.** Phylogeny and host-plant evolution in Melittidae *s.l.* (Hymenoptera: Apoidea), *Apidologie*, **39**: 146-162
- Michez, D., T. Demeulemeester, A. Nel, P. Rasmont, & S. Patiny, 2009a.** 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., C. D. Eardley, K. Timmermann, & B. N. Danforth, 2010.** Unexpected Polylecty in the Bee Genus *Meganomia* (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae), *Journal of the Kansas Entomological Society*, **83**: 221-230

- Michez, D., M. Vanderplanck, & M.S. Engel, 2011, in press. Fossil bees and their plant associates in *Evolution of the Plant-Pollinator Relationships*, Patiny, S. ed., Cambridge University Press (Systematic Association series),
- Michez, D. & C.D. Eardley, 2007. Monographic revision of the bee genus *Melitta* Kirby 1802 (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae), *Annales de la Société entomologique de France (n. s.)*, **43**: 379-440
- Michez, D., G.R. Else, & S.P.M. Roberts, 2007c. Biogeography, floral choices and redescription of *Promelitta alboclypeata* (Friese 1900) (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae), *African Entomology*, **15**: 197-203
- Michez, D. & S. Patiny, 2005. World revision of the oil-collecting bee genus *Macropis* Panzer 1809 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae) with a description of a new species from Laos, *Annales de la Société entomologique de France (n. s.)*, **41**: 15-28
- Michez, D. & S. Patiny, 2006. Review of the bee genus *Eremaphanta* Popov 1940 (Hymenoptera: Melittidae), with the description of a new species, *Zootaxa*, **1148**: 47-68
- Michez, D., S. Patiny, & B.N. Danforth, 2009b. Phylogeny of the bee family Melittidae (Hymenoptera: Anthophila) based on combined molecular and morphological data, *Systematic Entomology*, **34**: 574-597
- Michez, D., M. Terzo, & P. Rasmont, 2004. Phylogénie, biogéographie et choix floraux des abeilles oligolectiques du genre *Dasypoda* Latreille 1802 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae), *Annales de la Société entomologique de France (n. s.)*, **40**: 421-435
- Moldenke, A.R., 1975. Niche specification and species diversity along a California transect, *Oecologia*, **21**: 219-242
- Monteiro, L.R., J. A. F. Diniz, S. F. dos Reis, & E. D. Araujo, 2002. Geometric estimates of heritability in biological shape, *Evolution*, **56**: 563-572
- Moraes, E.M., V. L. Spressola, P. R. R. Prado, L. F. Costa, & F. M. Sene, 2004. Divergence in wing morphology among sibling species of the *Drosophila buzzatii* cluster, *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **42**: 154-158
- Müller, A. & M. Kuhlmann, 2008. Pollen hosts of western palaeartic bees of the genus *Colletes* (Hymenoptera: Colletidae): the Asteraceae paradox, *Biological Journal of the Linnean Society*, **95**: 719-733
- Patterson, J.S. & C.J. Schofield, 2005. Preliminary study of wing morphometry in relation to tsetse population genetics, *South African Journal of Science*, **101**: 132-134
- Pavlinov, I.Y., 2001. Geometric morphometrics, a new analytical approach to comparison of digitized images, *Information Technology in Biodiversity Research*, 41-90
- Pekkarinen, A., O. Berg, I. Calabuig, L.-A. Janzon, & J. Luig, 2003. Distribution and co-existence of the *Macropis* species and their cleptoparasite *Epeoloides coecutiens* (Fabr.) in NW Europe (Hymenoptera: Apoidea, Melittidae and Apidae), *Entomologica Fennica*, **14**: 53-59

- Pielou, E.C., 1979. *Biogeography*. New York: John Wiley & Sons ed p. 102.
- Posada, D., 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging, *Molecular Biology and Evolution*, **25**: 1253-1256
- Praz, C.J., A. Müller, B. N. Danforth, T. L. Griswold, A. Widmer, & S. Dorn, 2008a. Phylogeny and biogeography of bees of the tribe Osmiini (Hymenoptera: Megachilidae), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**: 185-197
- Praz, C.J., A. Müller, & S. Dorn, 2008b. Specialized bees fail to develop on non-host pollen: do plants chemically protect their pollen?, *Ecology*, **89**: 795-804
- Radchenko, V.G., 1987. Nesting of *Dasygaster braccata* Eversmann (Hymenoptera, Melittidae) in the southwestern Ukraine, *Entomological review*, **67**: 57-60
- Radchenko, V.G. & Y.A. Pesenko, 1994. *Biology of bees (Hymenoptera, Apoidea)*, St. Petersburg: Russian Academy of Sciences, Zoological Institut. 331 p.
- Radloff, S.E., H. R. Hepburn, S. Fuchs, G. W. Otis, S. Hadisoesilo, C. Hepburn, & T. Ken, 2005a. Multivariate morphometric analysis of the *Apis cerana* populations of oceanic Asia, *Apidologie*, **36**: 475-492
- Radloff, S.E., H. R. Hepburn, C. Hepburn, S. Fuchs, G. W. Otis, M.M. Sein, H. L. Aung, H. T. Pham, D. Q. Tam, A. M. Nuru, & T. Ken, 2005b. Multivariate morphometric analysis of *Apis cerana* of southern mainland Asia, *Apidologie*, **36**: 127-139
- Radloff, S.E., H.R. Hepburn, & G. Koeniger, 2003. Comparison of flight design of Asian honeybee drones, *Apidologie*, **34**: 253-358
- Rambaut, A., & A. Drummond, 2007. Tracer Version 1.5.0,
- Rasmussen, C. & S.A. Cameron, 2010. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal, *Biological Journal of the Linnean Society*, **99**: 206-232
- Renner, S.S. & H. Schaefer, 2010. The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees, *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **365**: 423-435
- Rohlf, J. F., 2000. *NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.10*, New York: Applied biostatistic Inc.
- Rohlf, J. F., 2006a. tpsDIG Version 2.05, *Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New-York*.
- Rohlf, J. F., 2006b. tpsRELW Version 1.44, *Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New-York*.
- Rohlf, J. F., 2010. tpsUTIL Version 1.46, *Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New-York*.
- Roig-Alsina, A. & C.D. Michener, 1993. Studies of the phylogeny and classification of long-tongued bees (Hymenoptera: Apoidea), *The University of Kansas Science Bulletin*, **55**: 123-173
- Ronquist, F., & J. P. Huelsenbeck, 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

- Roubik, D.W., 1989. *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University press ed, Cambridge. 514 p.
- Rozen, J.G., 1987. Nesting biology and immature stages of a new species in the bee genus *Hesperapis* (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae: Dasypodinae), *American Museum Novitates*, **2887**: 1-13
- Rozen, J.G. & N.R. Jacobson, 1980. Biology and immature stages of *Macropis nuda*, including comparisons to related bees (Apoidea, Melittidae), *American Museum Novitates*, **2702**: 1-11
- Rozen, J.G. & R.J. McGingley, 1974. Phylogeny and systematics of Melittidae based on the mature larvae (Insecta, Hymenoptera, Apoidea), *American Museum Novitates*, **2545**: 1-31
- Sanmartín, I., H. Enghoff & F. Ronquist, 2001. Patterns of animal dispersal, vicariance and diversification in the Holarctic, *Biological Journal of the Linnean Society*, **73**: 345-390
- Sheets, H.D., 2003. *CVAGen6f*, New York: Canisius College, Buffalo, <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm>
- Sheets, H.D., 2005. *PCAGen6p*, New York: Canisius College, Buffalo, <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.htm>
- Sibley, C.G., & J.E. Ahlquist, 1990. *Phylogeny and classification of birds*. New Haven, Connecticut ed.
- Simon, C., F. Frati, A. Beckenbach, B. Crespi, H. Liu, & P. Flook, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation conserved polymerase chain reaction primers, *Annals Entomological Society of America*, **87**: 651-701
- Snelling, R.R. & G.I. Stage, 1995. A revision of the Nearctic Melittidae: the subfamily Melittinae (Hymenoptera: Apoidea), *Contributions in Science - Natural History Museum of Los Angeles County*, **451**: 19-31
- Soltis, D.E., P.S. Soltis, P.K. Endress, & M.W. Chase, 2005. *Phylogeny and evolution of Angiosperms*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, U.S.A. ed.
- Soltis, P.S. & D.E. Soltis, 2004. The origin and diversification of Angiosperms, *American Journal of Botany*, **91**: 1614-1626
- Soose, E., 1954. Effect of temperature on the wing index and chitin colour of the honeybee, *Archive für Bienenkunde*, **31**: 49-66
- Strickler, K., 1979. Specialization and foraging efficiency of solitary bees, *Ecology*, **60**: 998-1009
- Swofford, D.L., 1998. *PAUP**. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods)*. Version 4.0 b10. Smithsonian Institution ed, Massachusetts: Sinauer Associates
- Takhtajan, A.L., 1997. *Diversity and Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press, New York, NY ed.
- Tan, K., H. R. Hepburn, S. E. Radloff, S. Fuchs, X. Fan, L. J. Zhang, & M. X. Yang, 2008. Multivariate morphometric analysis of the *Apis cerana* of China, *Apidologie*, **39**: 343-353

The R Foundation for Statistical Computing, 2009. R Version 2.9.2

Tiffney, B.H., 1985. The Eocene North Atlantic land bridge: its importance in Tertiary and modern phytogeography of the Northern Hemisphere, *Journal of the Arnold Arboretum*, **66**: 243-273

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

Vencl, F.V., 2004. Allometry and proximate mechanisms of sexual selection in Photinus fireflies, and some other beetles, *Integrative and Comparative Biology*, **44**: 242-249

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

Vogel, S., 1974. Ölblumen und ölsammelnde Bienen, *Akademie der Wissenschaften und der Literatur, Mathematisch - Naturwissenschaftliche Klasse. Tropische und Subtropische Pflanzenwelt*, **7**: 285-547

Vogel, S., 1976. *Lysimachia* : Ölblumen der Holarktis, *Naturwissenschaften*, **63**: 44-45

Vogel, S., 1986. Ölblumen und ölsammelnde Bienen II. *Lysimachia* und *Macropis*, *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt*, **54**: 147-312

Voous, K.H., 1973. List of recent Holarctic bird species non-passerines, *Ibis*, **115**: 612-638

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

Weitschatt, W., & W. Wichard, 2010. Baltic Amber, *Biodiversity of fossils in Amber from the major world deposits*, Siri Scientific Press, Manchester, 304 p.

Wilcox, T.P., D. J. Zwickl, T. A. Heath, & D. M. Hillis, 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*. Science Press ed. Fauna Sinica. Vol. 20, Beijing: Academia Sinica. 442 p.

Yasumatsu, K. & Y. Hirashima, 1956. Discoveries of the genera *Macropis* Klug and *Melitta* Kirby in Japan (Hymenoptera, Melittidae), *Kontyû*, 247-255

Zelditch, M.L., D. L. Swiderski, H. D. Sheets, & W. L. Fink, 2004. *Geometric Morphometrics for Biologists - A primer*. Elsevier ed, San Diego. 443 p.

Zwickl, D.J., 2011. Garli Version 2.0, <http://www.nescent.org/wg/garli>

-
- Illustration page de garde d'après "De Gewone slobkousbij (*Macropis europaea*) voor het eerst waargenomen in de AWD, *Natuuronderzoek*, 2004".