

Les termites : outils de détermination des espèces (cas des *Reticulitermes* en Europe)

Magdalena ΚΥΤΝΙΚ, Anne-Geneviève BAGNÈRES

Institut de recherche sur la biologie de l'insecte
Umr Cnrs 6035, université de Tours
Faculté des sciences, parc Grandmont
37200 Tours, France

Six espèces de termites du genre *Reticulitermes* sévissent actuellement en Europe. Afin de mieux les connaître, trois techniques sont essentiellement employées : l'observation morphologique, la chimie analytique et la biologie moléculaire. Il est ainsi possible d'identifier précisément ces insectes.



Photo 1.

Milieu naturel (forêt de la Coubre, Charente-Maritime, France), forêt de pins.
Natural pine forest environment (the Coubre forest in the Charente-Maritime department, France).
Photo © Cnrs.

RÉSUMÉ

LES TERMITES : OUTILS DE DÉTERMINATION DES ESPÈCES (CAS DES *RETICULITERMES* EN EUROPE)

Les termites souterrains du genre *Reticulitermes* sont présents depuis des milliers d'années dans les forêts du sud de l'Europe, où ils sont les principaux acteurs de la dégradation du bois mort. Ces termites ont progressivement envahi les régions habitées, jusqu'à devenir un véritable fléau qui s'attaque aussi bien au bois de chauffage qu'au bois de construction. Six espèces de *Reticulitermes*, présentant des caractères morphologiques très semblables pour une biologie et un comportement pourtant différents, sévissent actuellement en Europe. Il est progressivement apparu comme impératif de mieux connaître ces espèces et d'être capable de les identifier rapidement, afin que des moyens de contrôle toujours plus efficaces puissent être mis en œuvre. Cet article se propose de faire le point sur les différentes méthodes taxinomiques les plus couramment utilisées en laboratoire. La morphologie, la chimie analytique et la biologie moléculaire révèlent leurs avantages mais également leurs limites, et une analyse combinant plusieurs types de données doit souvent être employée pour identifier sans ambiguïté une espèce de termite.

Mots-clés : termite souterrain, *Reticulitermes*, chémotaxinomie, phylogénie moléculaire.

ABSTRACT

IDENTIFYING TERMITES: TOOLS FOR SPECIES DETERMINATION (THE EXAMPLE OF *RETICULITERMES* IN EUROPE)

Subterranean termites of the *Reticulitermes* genus have occurred for thousands of years in the forests of southern Europe, where they are the main factor in the decomposition of wood. These termites have gradually spread into inhabited regions, to the point of becoming a real problem since they will devour both firewood and construction timber. Six species of *Reticulitermes*, which are morphologically very similar although their biology and behaviour differ considerably, have recently become a menace in Europe. It has therefore become essential to understand these species better so that they can be easily identified and therefore controlled more effectively. This article reviews the various taxonomic methods most frequently used in laboratories. Morphology, analytical chemistry and molecular biology each have their advantages and limitations, and analyses based on several different types of data often have to be made to identify a species of termite accurately.

Keywords: subterranean termite, *Reticulitermes*, chemotaxonomy, molecular phylogeny.

RESUMEN

LAS TERMITAS: MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS ESPECIES (CASO DE LOS *RETICULITERMES* EN EUROPA)

Las termitas subterráneas del género *Reticulitermes* están presentes desde hace miles de años en los bosques del sur de Europa, donde son los principales protagonistas de la degradación de la madera muerta. Estas termitas invadieron progresivamente las regiones habitadas, hasta convertirse en una verdadera plaga que ataca tanto la leña como la madera de construcción. Seis especies de *Reticulitermes*, con caracteres morfológicos muy similares pero una biología y un comportamiento diferentes, causan estragos actualmente en Europa. Nos hemos ido dando cuenta de que, para emplear unos métodos de control cada vez más eficaces, era necesario conocer mejor estas especies e identificarlas rápidamente. Este artículo se propone hacer una recapitulación sobre los distintos métodos taxonómicos más empleados en laboratorio. La morfología, la química analítica y la biología molecular revelan sus ventajas, pero también sus límites y, a menudo, hay que recurrir a un análisis que combine varios tipos de datos para identificar con certeza una especie de termita.

Palabras clave: termita subterránea, *Reticulitermes*, quimiotañonomia, filogenia molecular.

Introduction

Les termites sont les seuls représentants de l'ordre des isoptères et les seuls insectes sociaux non hyménoptères (abeilles, guêpes, fourmis). Cet ordre compte environ 2 600 espèces et 281 genres (KAMBHAMPATI, EGGLETON, 2000), dont deux seulement sont présents en Europe : *Kalotermes* (Kalotermitidae) et *Reticulitermes* (Rhinotermitidae). Les termites du genre *Kalotermes* sont des termites dits de bois sec qui vivent en petites colonies, le plus souvent à l'intérieur de souches ou de ceps de vigne. Ils sont endémiques du pourtour méditerranéen, et ne sont représentés que par une seule espèce, *K. flavicollis*. Les *Reticulitermes* sont des termites souterrains, qui se nourrissent de la cellulose sous toutes ses formes (bois, papier, carton) (photo 2). Ce sont les termites les plus abondants en milieu naturel, leurs colonies pouvant compter plusieurs dizaines de milliers d'individus et s'étendre sous terre sur quelques dizaines de mètres.

Les termites souterrains qu'on peut rencontrer en Europe appartiennent donc tous au genre *Reticulitermes*, ce genre étant par ailleurs présent en Amérique du Nord, au Moyen-Orient et en Asie. Ces termites colonisent naturellement les forêts (photos 1 et 3) des zones tempérées, où ils jouent un rôle essentiel dans le recyclage du bois mort (VIEAU, CLÉMENT, in BORDEREAU *et al.*, 2002). Il faut cependant noter que le mode de propagation de l'espèce *R. santonensis* (ou termite de Saintonge) est étroitement lié à l'activité humaine. Si cette espèce se rencontre aujourd'hui fréquemment dans de grandes agglomérations telles que Paris ou Bordeaux, son extension dans la nature se restreint à quelques forêts côtières de la façade atlantique (VIEAU, 2001).

Bien que les naturalistes français et italiens se soient lancés dans l'étude de ces insectes dès le dix-huitième siècle, l'identification des espèces européennes est aujourd'hui encore

un sujet d'actualité (BORDEREAU *et al.*, 2002). Les termites sont en effet en expansion continue dans le milieu urbain, où leur appétit insatiable du bois est à l'origine de nombreux dégâts. La colonisation croissante des habitations, favorisée entre autres par la généralisation du chauffage, a eu comme effet parallèle le développement de nombreux moyens de lutte antitermites. Les techniques de traitement, bien qu'inventives et en constante amélioration, ont trouvé leurs limites en se heurtant à un problème biologique pourtant simple :

toutes les espèces ne se ressemblent pas. Bien que morphologiquement très semblables et impossibles à différencier à l'œil nu, les différentes espèces peuvent réagir de manière très variable à un même type de traitement, tant par leur comportement que par leur capacité physiologique à résister à tel ou tel type de produit. Cette constatation a récemment remis l'accent sur l'importance d'identifier spécifiquement l'ennemi à combattre.



Photo 2.
Termites *Reticulitermes* sur le bois.
Reticulitermes termites on wood.
Photo © Cnrs.



Photo 3.
Grossissement d'une colonie de termites *Reticulitermes* dans une souche.
Enlarged view of a Reticulitermes termite colony in a tree stump.
Photo © Cnrs.

Cependant, et ce malgré l'importance économique des termites en Europe et plus particulièrement en France, l'amélioration des traitements est loin d'être la seule motivation qui pousse les scientifiques à creuser la notion d'espèce chez les termites souterrains. Les interrogations suscitées par la complexité unique de leur structure sociale ont ouvert la voie à de nombreuses études visant à reconstituer l'histoire évolutive des espèces européennes, et à recréer par là les liens de parenté les unissant.

Il règne actuellement encore une grande confusion quant à la caractérisation des espèces. Depuis le dix-huitième siècle, et ce jusqu'au début du dix-neuvième, seule l'espèce *Reticulitermes lucifugus* décrite par Rossi en 1792 était connue en Europe. Les taxinomistes ont ensuite séparé les termites européens en deux espèces, *Reticulitermes santonensis* ou termite de Saintonge, présent en France en Charente-Maritime, et *Reticulitermes lucifugus*, présent partout ailleurs sur le territoire européen. Des études menées dans les années 1970-1980 par J.-L. Clément ont amené tout d'abord à définir un complexe « *lucifugus* », à l'intérieur duquel plusieurs espèces ont été décrites sur la base de distinctions biométriques et de polymorphisme enzymatique. Ces espèces ont été baptisées *Reticulitermes lucifugus* sp. (nomenclature désignant pourtant usuellement une sous-espèce), puis le nom du complexe a progressivement cessé d'être employé au profit d'une nomenclature plus conventionnelle de type « genre, espèce ». Ces changements ont contribué à semer le trouble dans les esprits quant à la position systématique des différents « groupes » de termites décrits. Grâce à la combinaison de différents critères morphologiques, chimiques et moléculaires, et à l'utilisation de techniques de plus en plus perfectionnées, Clément, Bagnères et leurs collaborateurs (Cnrs Marseille) ont pu finalement identifier et caractériser les termites souterrains de nos

contrées (CLÉMENT *et al.*, 2001) (figure 1). Six espèces ont ainsi été décrites en Europe : *R. grassei* dans le sud-ouest de la France côté Atlantique et sur toute l'étendue de la péninsule ibérique, à l'exception de sa partie la plus au nord-est (Navarre et Catalogne) ; *R. banyulensis* dans le sud-ouest de la France côté Méditerranée et dans le nord-est de l'Espagne ; *R. lucifugus* en Italie et dans le sud-est de la France ; *R. balkanensis* dans les Balkans ; *R. sp. nov.*, espèce proche de *R. balkanensis* et décrite uniquement en milieu urbain dans le nord de l'Italie et dans le sud-est de la France ; *Reticulitermes santonensis* dans l'ouest de la France. La distribution actuelle de cette dernière espèce serait liée à sa probable introduction en Charente (BAGNÈRES *et al.*, 1990 ; VIEAU, 2001). Une sous-espèce, *R. lucifugus corsicus*, est également présente en Corse et en Sardaigne. Le statut d'espèce de ces « sous-groupes » est confirmé par l'existence d'un isolement reproducteur assuré aussi bien par une variabilité dans la nature des phéromones sexuelles que par un décalage des dates d'accouplement des individus sexués.

Actuellement, l'équipe dirigée par A.-G. Bagnères et basée à l'Institut de recherche sur la biologie de l'insecte de Tours (Indre-et-Loire) poursuit la recherche de l'origine des différentes espèces européennes, notamment de *R. santonensis*, *R. grassei* (travaux de thèse de M. КУТНИК) et *R. sp. nov.* maintenant appelée *R. urbis* (BAGNÈRES *et al.*, 2003). Cette espèce a été découverte en France et en Italie en 1998 par A.-G. Bagnères et décrite par la suite par Paolo Uva au cours de travaux de thèse (UVA *et al.*, 2004). Trois techniques sont essentiellement utilisées pour identifier un termite : l'observation morphologique, la chimie analytique et la biologie moléculaire. Si chacune de ces techniques est informative, l'utilisation conjointe des trois permet de dresser une réelle carte d'identité de l'insecte.

Observation morphologique des termites

Les sociétés de termites sont organisées en castes ; on peut ainsi rencontrer au sein d'une colonie des ouvriers, des soldats, des larves, des nymphes, des individus sexués (reproducteurs de type roi et reine et reproducteurs secondaires). Tous ces individus présentent des particularités morphologiques, qui peuvent être utilisées comme outil taxinomique. La colonie est constituée de plus de 90 % d'ouvriers, ce sont donc eux qui sont le plus souvent disponibles pour l'analyse, même si les soldats et les sexués peuvent également être examinés.

Les ouvriers, qui correspondent en fait à des stades larvaires avancés, possèdent un corps blanc mou et souple à l'exception de la tête, plus rigide. Sa rigidité lui confère une forme bien définie, variable d'une espèce à l'autre. Une méthode simple et rapide est classiquement utilisée pour identifier l'espèce de termite à laquelle appartient un ouvrier : l'observation à la loupe binoculaire d'une pièce squelettique présente au niveau de la tête, le post-clypeus (CLÉMENT, 1978 ; CLÉMENT *et al.*, 2001) (figure 2). La forme du post-clypeus permet essentiellement de distinguer *R. santonensis* des autres espèces. En effet, si *R. santonensis* a un post-clypeus clairement droit et aplati, celui-ci est incurvé et bombé de manière très difficilement quantifiable chez toutes les autres espèces. La seule observation à la loupe est, par conséquent, souvent insuffisante pour déterminer une espèce avec certitude.

Une fois par an, en général, une caste bien particulière se développe à l'intérieur de la colonie : les reproducteurs primaires. Ce sont des individus ailés, qui possèdent par ailleurs un corps sombre et rigide. Les sexués de l'espèce *R. santonensis* (ainsi que ceux de la sous-espèce *R. l. corsicus* !) se caractérisent par une coloration

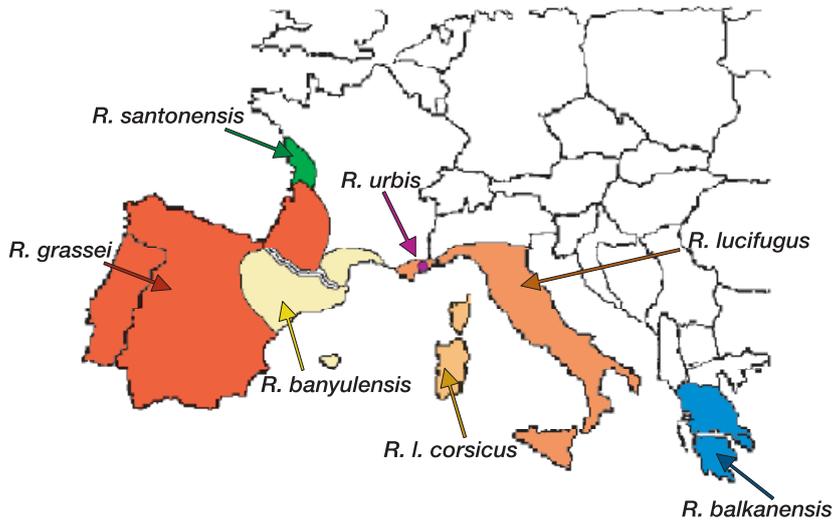


Figure 1.

Répartition du genre *Reticulitermes* en milieu naturel. Source : Cnrs.
Distribution of the Reticulitermes family in the natural environment.
 Source : Cnrs.

Chemotaxinomie

particulière au niveau des tibias, qui est jaune et non noire, comme c'est le cas chez les autres espèces (CLÉMENT *et al.*, 2001). La couleur des tibias n'est donc pas non plus un critère complet.

Deux particularités morphologiques caractéristiques d'une troisième caste, celle des soldats, sont également utilisées. Les soldats sont en effet munis d'une paire de fortes mandibules, ainsi que d'un labre, dont la taille et la forme caractérisent, comme pour le post-clypeus, l'espèce *R. santonensis* (VIEAU, 1993, 1999).

Les critères morphologiques permettent donc uniquement de distinguer *R. santonensis* de tous les autres termites souterrains. Ils peuvent néanmoins être très utiles en tant que critères de détermination rapide dans certaines régions où le termite de Saintonge côtoie *R. grassei*, ou plus rarement *R. banyulensis*, comme c'est le cas dans le sud-ouest de la France.

L'étude morphologique n'étant pas un outil assez puissant, des moyens de détermination complémentaires faisant appel à la chimie analytique sont très utilisés.

Toutes les castes de termites, à l'exception des reproducteurs, ne sont pourvues que d'une paire d'yeux rudimentaires et non fonctionnels. Cet handicap ne les empêche pourtant pas de se reconnaître, ni de rechercher activement leur nourriture. Les termites ne communiquent en effet qu'à l'aide de signaux chimiques, et dans une moindre mesure acoustiques (ils détectent non pas les sons mais les vibrations qui leur sont associées). Plusieurs signaux chimiques sont utilisés, ils diffèrent en fonction de la nature des composés qui les génèrent, ainsi qu'en fonction de leur finalité. On distingue ainsi les phéromones, qui peuvent être volatiles (sexuelles et de piste) ou de contact (reconnaissance individuelle), et les allomones (substances défensives).

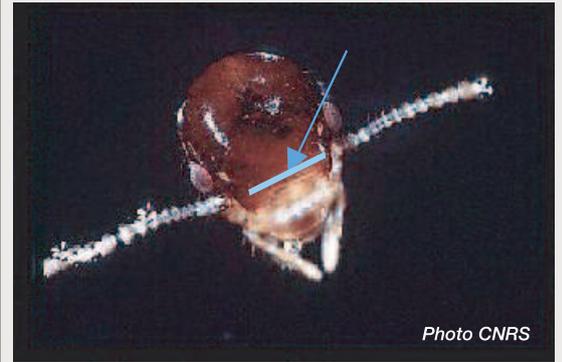


Photo CNRS



Photo CNRS

Figure 2.

Observation du post-clypeus.

En haut, vue dorsale d'une tête de sexué ailé de *R. santonensis*.

En bas, vue dorsale d'une tête de sexué ailé de *R. grassei*.

*Observation of post-clypeus. Top: dorsal view of a head of a winged reproductive *R. santonensis*.*

*Bottom: dorsal view of a winged reproductive *R. grassei*.*

Photos Cnrs.

Les phéromones sexuelles sont émises par les individus reproducteurs au moment de la recherche d'un partenaire. Ces composés sont relâchés à l'air libre, ils sont donc impossibles à prélever sur l'insecte même, et leur émission ne peut être captée qu'à l'aide d'un appareillage très élaboré. Si leur étude s'avère techniquement difficile, ces phéromones sont cependant spécifiques d'une espèce. Car la notion même d'espèce s'appuie sur le postulat que deux espèces différentes ne se reproduisent pas entre elles... (MAYR, 1963).

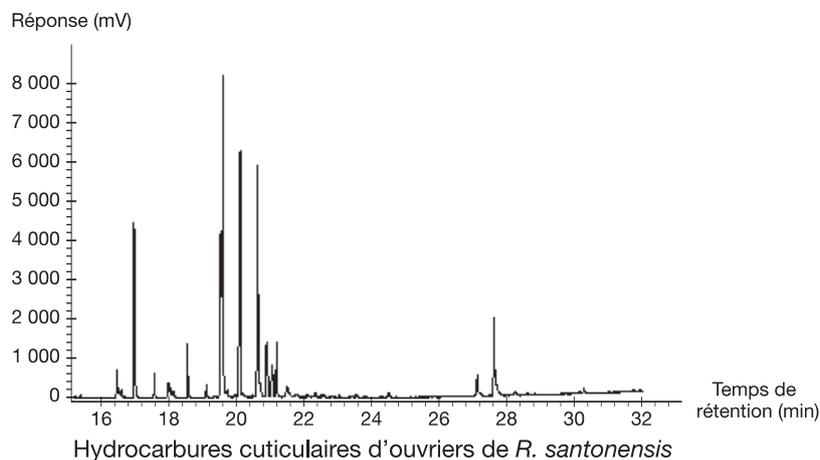
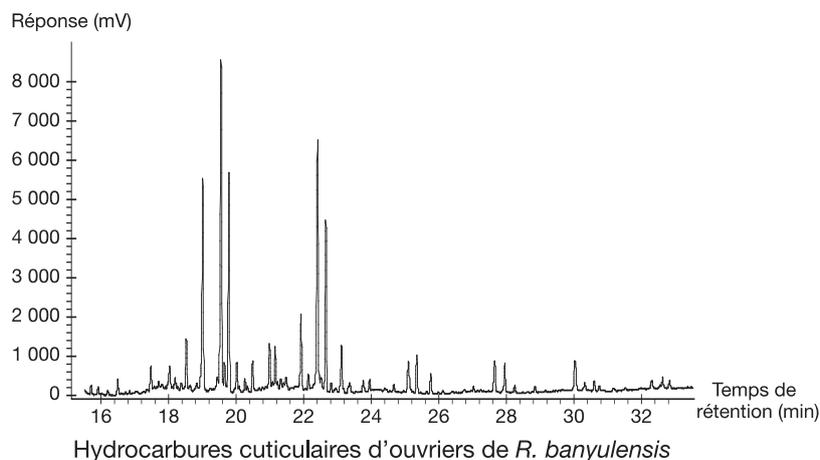
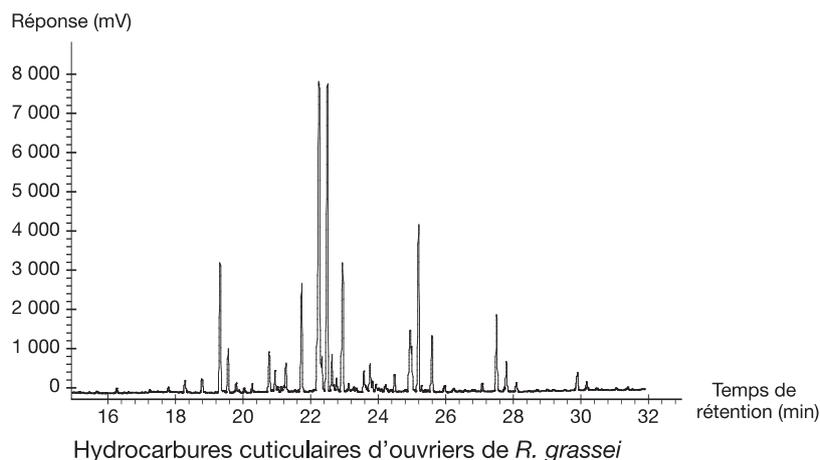


Figure 3.

Chromatogrammes de trois espèces de termites *Reticulitermes* montrant la différence de profil entre espèces (chemotaxinomie).

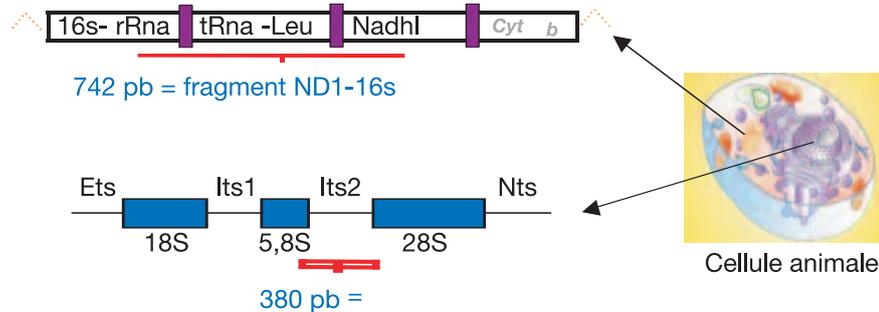
Chromatograms for three *Reticulitermes* termite species showing the differences in the profiles for each species (chemotaxonomy).

Le corps de tous les termites est recouvert d'une cuticule, sorte de carapace leur permettant d'affronter les chocs, la chaleur, la dessiccation. Cet exosquelette est essentiellement composé de chitine, mais il contient également en surface des hydrocarbures à longues chaînes (C₂₀ à C₄₀), présents en quantité et en qualité variables, selon l'espèce. Ces hydrocarbures cuticulaires sont en réalité des médiateurs chimiques de contact de nature à la fois phéromonale et allomonale, qui permettent aux termites de se reconnaître entre eux. D'un seul toucher d'antenne, un ouvrier mis en présence de tout autre individu perçoit si ce dernier appartient ou non à la même espèce (allomone) ou à la même colonie (phéromone) (CLÉMENT, BAGNÈRES, 1998). Les antennes sont en effet pourvues de capteurs qui vont instantanément analyser le bouquet d'hydrocarbures et le comparer à celui de l'individu lui-même (BAGNÈRES *et al.*, 1998). Une rencontre avec un individu appartenant à une autre espèce sera ainsi le plus souvent suivie d'une manifestation d'agressivité à l'encontre de celui-ci.

Les soldats de *Reticulitermes* possèdent une arme toxique dont ils usent lorsqu'ils se sentent menacés. Sur l'avant de leur tête, on observe une glande volumineuse, dite glande frontale ou glande défensive (NOIROT, 1969), contenant des toxines parfois à effet insecticide. Ces composés allomonaux, essentiellement des terpènes, sont émis en cas d'agression. Là encore, la nature et les proportions relatives des différents terpènes sont spécifiques d'une espèce donnée (QUINTANA *et al.*, 2002).

La composition en hydrocarbures cuticulaires ainsi qu'en substances défensives confère une véritable signature chimique à l'insecte (BAGNÈRES *et al.*, 1990, 1991). La spécificité de cette signature peut donc être potentiellement utilisée pour différencier les espèces. Le protocole est en réalité assez simple, car ces composés peuvent être facilement extraits et analysés ; tous ont en effet

Marqueur mitochondrial ND1-16s (fragment du gène de la Nadh déhydrogénase II et du gène de l'Arn 16s)



Marqueur nucléaire Its2 (*international transcribed spacer*)

Figure 4.

Schéma de représentation des marqueurs de génétique moléculaire.
Diagram representing molecular genetic markers.

Phylogénie moléculaire et empreintes génétiques

une nature lipidique, ils peuvent être extraits par des solvants organiques. Un ou plusieurs individus (selon qu'on s'intéresse à la signature individuelle ou à la signature coloniale) sont tout d'abord plongés dans un solvant apolaire de type pentane ou hexane, qui va réellement laver la cuticule. Les composés apolaires vont passer en solution dans le solvant, ils seront ensuite séparés et analysés individuellement. La séparation se fait dans un chromatographe en phase gazeuse (GC) qui va vaporiser les composés dans l'injecteur puis les fractionner en fonction de la longueur de la chaîne carbonée le long d'une colonne capillaire. Les profils observés en sortie, selon l'espèce analysée, apparaissent clairement distincts (figure 3).

L'analyse des hydrocarbures cuticulaires d'ouvriers ainsi que l'analyse des composés défensifs des soldats sont donc d'excellents outils chemotaxinomiques et permettent une discrimination efficace des espèces. Ils sont très utilisés en raison de la rapidité et du faible coût de l'analyse, notamment si on la compare aux techniques de biologie moléculaire.

L'avènement de la biologie moléculaire, depuis une dizaine d'années, a révolutionné les domaines de la génétique et de la phylogénie, et a permis aux systématiciens d'effectuer un spectaculaire bond en avant dans la connaissance des relations interspécifiques. Grâce notamment à la découverte de la Pcr (*Polymerase Chain Reaction*), élément fondamental de l'avancée des techniques moléculaires, les informations contenues dans les séquences d'Adn sont devenues exploitables pour aider à la reconstruction des relations évolutives entre espèces.

Les études moléculaires menées sur les termites européens ont apporté des éléments nouveaux qui ont permis de clarifier les relations entre espèces. Ces études ont successivement porté sur les protéines (CLÉMENT, 1981, 1984), puis sur les séquences codantes d'Adn mitochondrial, et enfin des séquences d'Adn

nucléaire (provenant du noyau). Ce sont essentiellement les séquences dérivant de l'amplification d'Adn mitochondrial qui sont aujourd'hui exploitées pour rechercher les filiations entre espèces de termites, ainsi que des séquences non codantes de l'Adn génomique, les Its (*Internal Transcribed Spacer*) et les marqueurs microsatellites (CLÉMENT *et al.*, 2001 ; JENKINS *et al.*, 2001 ; KUTNIK *et al.*, 2004 ; LUCHETTI *et al.*, 2004 ; VARGO, 2000).

Les séquences d'Adn mitochondrial ont été très conservées au cours de l'évolution, contrairement aux séquences d'Adn génomique, plus fréquemment sujettes à des mutations, en raison du rôle fondamental joué par les mitochondries dans la respiration cellulaire. Ce haut degré de conservation permet néanmoins de séparer les espèces, tout en gardant une cohésion au sein d'un même genre. La transmission d'Adn mitochondrial étant de plus exclusivement maternelle (seul l'Adn mitochondrial de la mère est présent chez sa descendance), son étude permet également, dans certains cas, de mesurer la filiation entre colonies de termites.

La taille du génome mitochondrial varie entre 14 kb et 39 kb, et son contenu est assez uniforme : la majorité des taxa possède deux gènes codant pour l'Arn ribosomal, vingt-deux gènes codant pour de l'Arn de transfert et treize gènes codant pour des protéines impliquées dans la chaîne de transport des électrons et la synthèse de l'Atp. L'ordre des gènes est globalement conservé au sein des vertébrés et des insectes. Les gènes mitochondriaux les plus étudiés chez les termites correspondent à ceux codant pour les cytochromes oxydases I et II (COI et COII), la Nadh déhydrogénase I (Ndi), ainsi que pour des Arn ribosomiques (12s, 16s, 18s). C'est principalement une séquence combinée d'Adn mitochondrial (Ndi-16s), comportant un fragment du gène codant pour l'Arn 16s, le gène codant pour l'Arnt leucine et un fragment de gène codant pour la Nadh I, qui a récemment été utilisée pour établir une phylogénie générale du genre *Reticulitermes* en Europe (UVA *et al.*, 2004 ; KUTNIK *et al.*, sous presse).

L'étude phylogénique fait également appel à un marqueur nucléaire, *Its2*. Les *Its* sont des séquences d'Adn non codantes qui séparent les gènes codant pour les Arn ribosomiques 28s, 5.8s et 18s. Les *Its* ne permettent cependant qu'une distinction entre espèces, leur taux de variabilité étant trop faible au sein du genre *Reticulitermes* pour permettre de reconstituer des liens unissant des colonies même géographiquement très éloignées (figures 4 et 5).

Outre leur importance pour l'étude phylogénétique des espèces, ces séquences peuvent être utilisées plus basiquement comme empreintes génétiques (travaux actuels de l'équipe). Que ce soit dans le cas de l'Adn mitochondrial ou des *Its*, les séquences sont caractéristiques d'une espèce, et leur comparaison par le biais de logiciels informatiques spécialisés permet de distinguer facilement les différentes espèces de termites.

Conclusion

Une révision taxinomique générale des termites européens est en cours car ces termites, morphologiquement très proches, causent d'importants dommages aux habitations et continuent de s'étendre dans les zones urbaines. Seules les études de chimie analytique et de biologie moléculaire permettent de distinguer les espèces, et aident par là à mieux adapter les moyens de lutte à l'écologie particulière de chaque espèce, écologie par ailleurs particulièrement

méconnue chez les termites européens. À terme, les applicateurs et les industriels devraient être amenés à prendre en compte les particularités biologiques des différentes espèces pour les contrôler plus efficacement.

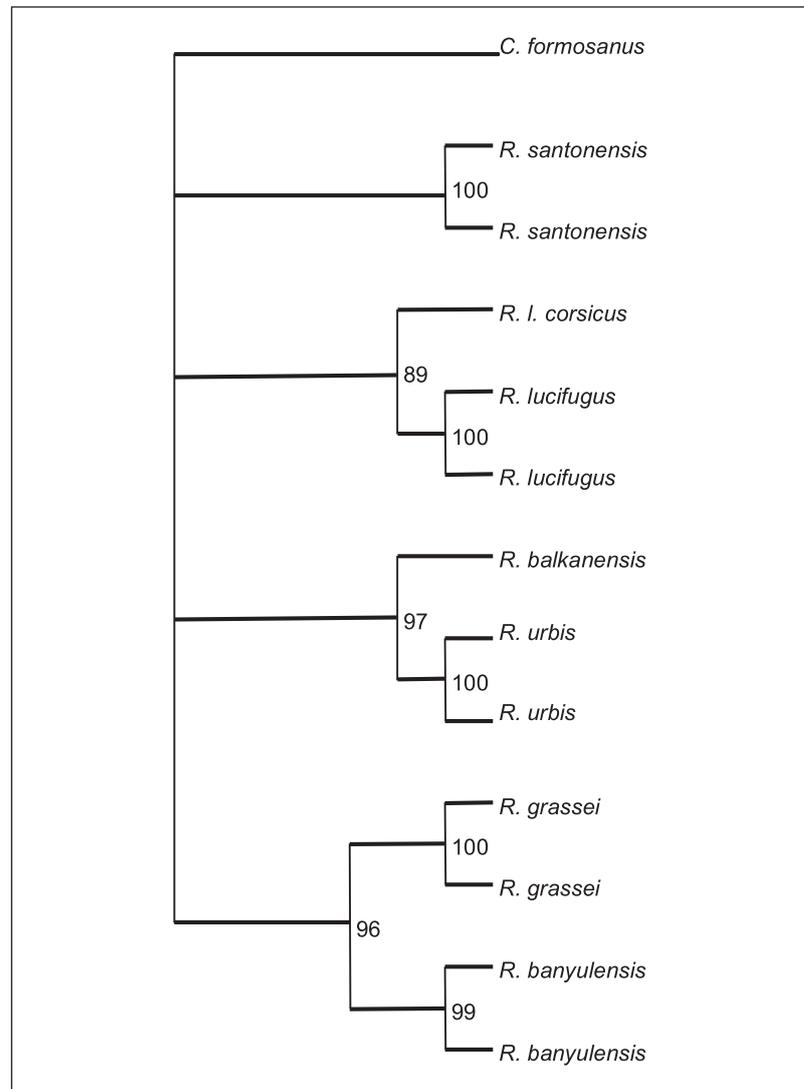


Figure 5.

Arbre phylogénétique des *Reticulitermes* européens fondé sur une séquence d'Adn nucléaire (*Its2*), construit selon la méthode de *neighbour-joining*. Le genre *Coptotermes* (*C. formosanus*) est utilisé, ici, pour enraceriner l'arbre. *Phylogenetic tree for European Reticulitermes, based on a nuclear DNA sequence (Its2) and built up by the "neighbour-joining" method. The Coptotermes (C. formosanus) family is used here as the root of the tree.*

Références bibliographiques

- BAGNÈRES A.-G., CLÉMENT J.-L., BLUM M. S., SEVERSON R. F., JOULIE C., LANGE C., 1990. Cuticular hydrocarbons and defensive compounds of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. santonensis* (Feytaud) : polymorphism and chemotaxonomy. *Journal of Chemical Ecology*, 16 (12) : 3213-3244.
- BAGNÈRES A.-G., KILLIAN A., CLÉMENT J.-L., LANGE C., 1991. Interspecific recognition among termites of the genus *Reticulitermes* : evidence for a role for the cuticular hydrocarbons. *Journal of Chemical Ecology*, 17 (12) : 2397-2420.
- BAGNÈRES A.-G., RIVIÈRE G., CLÉMENT J.-L., 1998. Artificial neural network modeling of caste odor discrimination based on cuticular hydrocarbons in termites. *Chemoecology*, 8 : 201-209.
- BAGNÈRES A.-G., UVA P., CLÉMENT J.-L., 2003. Description d'une nouvelle espèce de Terme : *Reticulitermes urbis* n. sp. (Isopt., Rhinotermitidae). *Bulletin de la Société Entomologique de France*, 108 (4) : 435-436.
- BORDEREAU C., CLÉMENT J.-L., JEQUEL M., VIEAU F., 2002. Termites. Biologie, lutte, réglementation. Europe, départements et territoires d'outre-mer français. Paris, France, Ctba, 208 p.
- CLÉMENT J.-L., 1978. Nouveaux critères taxonomiques dans le genre *Reticulitermes*, description de nouveaux taxons français. *Annales Société Entomologique de France*, 14 (2) : 131-141.
- CLÉMENT J.-L., 1981. Enzymatic polymorphism in the European populations of various *Reticulitermes* species (Isoptera). *In* : *Biosystematics of Social Insects*. Howse P. E., Clément J.-L. (éd.). Londres, Royaume-Uni, Academic Press, p. 49-61.
- CLÉMENT J.-L., 1984. Diagnostic alleles of species in *Reticulitermes*. *Experientia*, 40 : 283-285.
- CLÉMENT J.-L., BAGNÈRES A.-G., 1998. Nestmate recognition in termites. *In* : *Pheromone Communication in Social Insects*. Ants, Wasps, Bees, and Termites. Vander Meer R. K., Breed M. D., Espelie K. E., Winston M. L. (éd.). Westview Press, p. 125-155.
- CLÉMENT J.-L., BAGNÈRES A.-G., UVA P., WILFERT L., QUINTANA A., REINHARD J., DRONNET S., 2001. Biosystematics of *Reticulitermes* termites in Europe : morphological, chemical and molecular data. *Insectes Sociaux*, 48 : 202-215.
- JENKINS T. M., DEAN R. E., VERKERK R., FORSHLER B. T., 2001. Phylogenetic analyses of two mitochondrial genes and one nuclear intron region illuminate European subterranean termite (Isoptera : Rhinotermitidae) gene flow, taxonomy, and introduction dynamics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 20 : 286-293.
- KAMBHAMPATI S., EGGLETON P., 2000. Taxonomy and phylogeny of termites. *In* : *Termites, Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*. Abe T., Bignell D., Higashi M. (éd.). Dordrecht, Pays-bas, Kluwer Academic Publisher, p. 1-23.
- KUTNIK M., UVA P., BRINKWORTH L., BAGNÈRES A.-G., 2004. Phylogeography of two European *Reticulitermes* (Isoptera) species: the Iberian refugium. *Molecular Ecology*, 13 : 3 099-3 113.
- LUCHETTI A., TRENTA M., MANTOVANI B., MARINI M., 2004. Taxonomy and phylogeny of North mediterranean *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae) : a new insight. *Insectes Sociaux*, 51 : 117-122.
- MAYR E., 1963. *Animal species and Evolution*. Harvard, États-Unis, Harvard University Press.
- NOIROT C., 1969. *Glands and secretions. Biology of Termites*. Vol. 1. Krishna K., Weesner F. M. (éd.). New York, États-Unis, Academic Press, p. 223-282.
- QUINTANA A., REINHARD J., FAURE R., UVA P., BAGNÈRES A.-G., MASSIOT G., CLÉMENT J.-L., 2002. Geographic variation in terpenoid composition of European *Reticulitermes* termite defensive secretion. *Journal of Chemical Ecology*, 29 (3) : 639-652.
- UVA P., CLÉMENT J.-L., AUSTIN J., ZAFAGNINI V., QUINTANA A., BAGNÈRES A.-G., 2004. Origin of a new *Reticulitermes* termite inferred from mitochondrial DNA data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30 : 344-353.
- VARGO E., 2000. Polymorphism at trinucleotide microsatellite loci in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Molecular Ecology*, 9 : 817-829.
- VIEAU F., 1993. Le terme de Saintonge *R. santonensis* Feytaud : terme urbain. *Société Zoologique de France*, 118 (2) : 125-133.
- VIEAU F., 1999. Biologie comparée de *Reticulitermes santonensis* Feytaud et *Reticulitermes lucifugus* Rossi (Isoptera, Rhinotermitidae) en France : différences morphologiques entre les soldats, modes d'implantation urbaine et forestière, cycles reproducteurs. *Actes Colloques Insectes Sociaux*, 12 : 151-158.
- VIEAU F., 2001. Comparison of the spatial distribution and reproductive cycle of *Reticulitermes santonensis* Feyraud and *Reticulitermes lucifugus* grassei Clément (Isoptera, Rhinotermitidae) suggests that they represent introduced and native species, respectively. *Insectes Sociaux*, 48 : 57-62.

Synopsis

IDENTIFYING TERMITES: TOOLS FOR SPECIES DETERMINATION (THE EXAMPLE OF *RETICULITERMES* IN EUROPE)

Magdalena KUTNIK,
Anne-Geneviève BAGNÈRES

Two termite genera occur in Europe: the *Kalotermes* (which feed on dry wood) and *Reticulitermes* (subterranean termites). The *Reticulitermes* are the most abundant in the natural environment, but they are increasingly found in urban environments, where their arrival essentially correlates with human activity. Six species (including one described in 2003) and one sub-species are currently known in Europe, mainly in the southern countries (Spain, Portugal, France, Greece and Italy). They are continuing to spread, and their appetite for cellulose is causing a great deal of damage wherever wood is used as a construction material. All termite species are very similar in morphology, but they react quite differently to the various products used in termite control treatments. It is therefore important to identify the target species clearly so that the most appropriate treatment can be used. Research on the different species and their identification also helps to track both their evolutionary history and their expansion. The three main techniques used for termite identification are morphological observation, analytical chemistry and molecular biology.

Morphological observation of termites

Termite societies are organised into castes (workers, soldiers and reproductives). The head of the worker termite features a rigid skeletal part, the post-clypeus, whose flattened shape is characteristic in the species *R. santonensis*. Reproductives of this species have yellow tibiae. All other species have black tibiae, except the Corsican sub-species. Finally, the mouthparts in *R. santonensis* soldiers have a characteristic shape. This means that morphological criteria can only distinguish *R. santonensis* from all other subterranean termite species.

Chemotaxonomy

Most termite castes are blind, and communicate only through chemical signals. These are essentially pheromonal (volatile sexual or tracking pheromones and contact pheromones allowing recognition among individuals) or allomonal (defensive substances in soldier termites). In all termites, the body is covered with a cuticle containing long-chain hydrocarbons whose properties and quantities vary with each species. These hydrocarbons enable termites to recognise each other by touching antennae. *Reticulitermes* soldiers have a defensive gland at the front of the head, which contains terpenes that are emitted when they are under attack. The nature of these defensive substances is also specific to each species. The specific nature of these chemical signatures may be used to distinguish between species. The hydrocarbons and terpenes can be extracted by plunging the termites into an organic solvent, then separating the substances by gas chromatography. Analyses of these compounds provide an effective basis for distinguishing between all European species of termites. The technique is widely used because it is both quick and cheap, but it still requires special preparation of the samples to be identified.

Molecular phylogeny and genetic fingerprinting

DNA extracted from a single termite can be amplified with the polymerase chain reaction technique. The sequence obtained is then analysed by computer. DNA sequences are characteristic in each species and may be used simply as genetic fingerprints.

As well as their value as a taxonomic tool, molecular studies on European termites have contributed new information that has helped to clarify relationships between species. These studies have successively focused on proteins, mitochondrial DNA sequences and nuclear DNA (encoding or not). Today, mitochondrial sequences, which remain very consistent over the evolution of a species, are the tools most commonly used to determine relationships between termite species. The most exhaustively researched mitochondrial genes in termites are those coding for enzymes in the respiratory chain and for ribosomal RNA. An overall phylogenesis for the *Reticulitermes* family in Europe was recently established by analysing sequences of this type.

An overall taxonomic review of European termites is currently under way. These termites are causing considerable damage to residential buildings and are continuing to spread into urban areas. Studies in analytical chemistry and molecular biology are helping to distinguish between the species concerned and to better adapt control methods to their highly specific ecology that is as yet little understood in Europe.