



## LES PHEROMONES D'INSECTES 30 ANS DE RECHERCHES

par Janine PAIN

**Des "possibles effluves subtiles peut-être même odeurs..." de Fabre aux primers et autres releasers des chercheurs modernes, 30 ans de travaux pour mettre en évidence, identifier, classer les phéromones, substances messagères chimiques de communication particulièrement étudiées chez les insectes mais qui existent également dans tous les groupes des mondes animal et végétal.**

En 1891 déjà, Fabre observait qu'une femelle de Grand paon de nuit, *Saturnia pyri*, née au matin et cloîtrée sous une cloche en toile métallique attirait, dans la soirée, une quarantaine de papillons mâles venant de fort loin. Par contre, logée dans une boîte hermétique, elle n'attirait plus aucun mâle. Il conclut, dans ses "Souvenirs entomologiques", au rôle possible "d'effluves subtiles, peut-être même d'une odeur émise par la femelle", mais ne put préciser davantage son observation qui annonçait déjà la découverte des phéromones.

Plus tard, vers 1932, Bethe désigna sous le nom d'hectohormones, certaines "secrétions chimiques actives à l'extérieur d'un individu"... Ce n'est qu'en 1959 que le terme de phéromone, proposé par Karlson et Lüscher, fait son apparition dans la littérature scientifique.

Les phéromones sont des substances "intra-spécifiques" ; cela signifie que le message chimique circule entre individus de la même espèce pour déclencher une modification du comportement ou de la physiologie de celui qui le perçoit. Cette définition exclut donc toutes les substances messagères dites "interspécifiques" dont l'action s'exerce entre individus d'espèces différentes, allomones ou kairomones. On regroupe sous le terme d'allomones, les substances bénéfiques pour l'individu qui les émet, telles les sécrétions défensives, les sécrétions odorantes des fleurs qui attirent les insectes pollinisateurs,... Les kairomones sont, elles, bénéfiques pour le récepteur, ce sont par exemple les substances alimentaires attractives, les substances assurant les relations plante-hôte,...

### Des techniques de plus en plus sophistiquées

Pour ce qui est des phéromones proprement

dites, ce sont le bombycol, phéromone sexuelle du bombyx du mûrier (*Bombyx mori*) et la phéromone de la reine d'abeilles qui furent les premières isolées. Le bombycol par Butenandt et ses collaborateurs en 1959. La phéromone de la reine d'abeilles en 1960 par deux équipes simultanément : Barbier et Pain en France et Callow et Butler en Angleterre. Vingt-cinq ans plus tard, Barbier (1986) devait d'ailleurs raconter l'histoire de cette passionnante et difficile compétition.

Depuis, de nouvelles substances ont été

trouvées chez de nombreuses espèces d'insectes. Les chercheurs distinguent maintenant les phéromones incitatrices ou "releasers" qui produisent une modification immédiate du comportement (phéromones sexuelles, d'alarme, grégaires, de piste,...) et les phéromones modificatrices ou "primers" qui induisent des modifications physiologiques, endocriniennes ou reproductrices, chez l'individu qui les perçoit.

Ces phéromones sont sécrétées par des glandes spécialisées situées le plus souvent

### Vers à soie : un alcool aphrodisiaque

Les femelles du bombyx du mûrier émettent une phéromone attractive et aphrodisiaque pour les mâles. Pour cela, elles exposent, dès leur éclosion, des glandes odorantes situées à l'extrémité de leur abdomen. Elles restent dans cette position "d'appel des mâles", avec leurs glandes turgescentes et bien visibles et en agitant l'abdomen pour favoriser la diffusion de l'odeur, jusqu'à l'accouplement. Ainsi, même à de grandes distances, elles attirent des mâles dont les antennes pectinées, riches en cellules chimioréceptrices, semblent avoir pour rôle essentiel de déceler l'odeur de la femelle incapable de voler. A partir des glandes sécrétrices de 500 000 femelles, Butenandt et ses collaborateurs ont extrait et analysé quelques mg de la substance. Il s'agit d'un alcool : l'hexadécadiénol ou bombycol, dont l'activité biologique limite est de  $10^{-12}$  µg/ml. En approchant une baguette trempée dans une solution de bombycol des antennes d'un mâle, on déclenche une réaction aphrodisiaque qui se traduit par des frémissements des ailes. L'antenne du mâle est sensible à seulement quelques molécules de phéromone.

Par la suite, on a trouvé que seuls 50 % des récepteurs antennaires réagissent au bombycol. Une seconde phéromone agit sur les autres récepteurs ; il s'agit de l'aldéhyde correspondant, le bombycal, qui inhibe la réponse aphrodisiaque des mâles. Lorsque l'on sait qu'un isomère moins actif du bombycol est également présent, on constate que chez la femelle de ce papillon plusieurs substances sont en cause dans un "complexe phéromonal" très actif.

La plupart des phéromones sexuelles des femelles de Lépidoptères sont des alcools ou des acides à longue chaîne de 10 à 16 atomes de carbone, sous forme d'acétates ou d'aldéhydes.

Chez d'autres papillons, ce sont les mâles qui émettent des odeurs aphrodisiaques. C'est le cas des célèbres Danaïdes qui, à l'approche des femelles, déploient la touffe de poils qui garnit l'extrémité de leur abdomen. La substance libérée, qui favorise l'accouplement, a été isolée et identifiée. ■

dans la tête ou l'abdomen de l'insecte. Elles sont fréquemment émises par les femelles mais les mâles en produisent également. De nombreux facteurs, comme l'état de maturation des femelles, l'isolement des individus ou même les conditions atmosphériques, peuvent limiter leur production.

Véhiculées par l'air, elles sont perçues par les antennes de l'insecte sur lesquelles des organes sensoriels munis de neuro-récepteurs détectent la ou les substances messagères (Masson & Brossut, 1981).

On peut extraire ces substances, en traitant dans un solvant organique l'insecte entier ou mieux les glandes productrices disséquées ;

l'inconvénient de cette méthode est de devoir tuer les insectes. Un procédé moins brutal consiste à faire circuler de l'air sur un groupe de femelles attractives. Le produit ainsi entraîné est ensuite réfrigéré et condensé ; cette technique fournit de très faibles quantités de produit.

A l'heure actuelle on emploie des méthodes beaucoup plus sophistiquées comme la chromatographie en phase gazeuse, la spectrométrie de masse ou la résonance magnétique nucléaire. Il est indispensable, à chaque étape de l'extraction, de la purification et de l'identification de la phéromone, de disposer d'un bon test biologique pour vérifier l'activité du produit. Les progrès de

l'électro-physiologie nous permettent maintenant de mesurer les seuils de réponse aux odeurs de chaque cellule sensorielle.

## Des algues brunes à l'homme

Plus de 25 années se sont écoulées depuis la découverte des deux premières phéromones. Depuis, les progrès sont énormes. De très nombreuses phéromones sont maintenant connues chez les insectes même si les premiers travaux d'isolement et de purification furent lents à une époque où on ne disposait pas encore des équipements perfectionnés des laboratoires d'aujourd'hui.

Les phéromones ne sont pas l'apanage des insectes et on en a déjà trouvé pratiquement à tous les échelons de l'univers du vivant.

Rares sont les phéromones identifiées chez les organismes aquatiques ; on en signale néanmoins dans les algues brunes et les moisissures des lacs et des rivières. On a découvert quelques phéromones chez les champignons ; l'un d'eux produit une phéromone sexuelle : le gamète femelle sécrète un terpène qui attire les gamètes mâles. Ce fut la première phéromone isolée chez un végétal inférieur ; depuis, de petits peptides phéromonaux ont été également identifiés chez certaines levures.

Chez les vertébrés, la notion de phéromone est plus délicate ; le comportement sexuel est associé à d'autres comportements et à des processus physiologiques complexes et conditionnés également par des allomones. Nombreux sont les exemples. La femelle du poisson *Lebistes reticulatus* émet, en phase d'activité sexuelle, des stéroïdes qui attirent les mâles. Le porc mâle produit lui aussi un stéroïde phéromonal qui conditionne la femelle à l'accouplement. Des phéromones ont été également identifiées chez des rongeurs, des carnivores, des ruminants, des singes... Chez ces mammifères elles sont généralement sécrétées par des glandes situées près des organes sexuels ou au niveau de la tête.

Les phéromones existent donc à tous les niveaux de l'échelle biologique : des végétaux les plus primitifs aux animaux les plus évolués ; cela faisait dire à Barbier (1982) que "la communication phéromonale par molécules interposées est un phénomène qui a probablement pris naissance aux frontières de l'état vivant".

De là à penser qu'elles sont présentes chez l'homme, il n'y a donc qu'un pas... ■

## La substance royale des abeilles

La reine des abeilles émet une phéromone à activités multiples. C'est à la fois un releaser qui agit sur le comportement sexuel des mâles et un primer qui modifie le comportement et la physiologie des ouvrières.

Une reine, même morte, attire les ouvrières et inhibe leur développement ovarien (Pain, 1961). Par ailleurs, lorsque une reine vivante peut être léchée par les ouvrières, cela inhibe complètement la construction des cellules royales (Butler).

Ces observations permirent de localiser la substance royale d'abord dans la tête puis dans les glandes mandibulaires de la reine. Ces glandes très attractives à l'égard des mâles et des ouvrières, sécrètent des substances biologiques très actives qui furent étudiées simultanément par Barbier et Pain en France et Callow et Butler en Angleterre.

On dénombre au total plus de 30 composés dont les deux phéromones actuellement connues et identifiées : l'acide 9-céto-2-décénoïque et l'acide 9-hydroxy-2-décénoïque, deux acides gras  $\lt \beta$  insaturés à 10 atomes de carbone.

L'acide 9-céto-2-décénoïque attire les mâles et favorise l'accouplement, attire, en association avec d'autres sécrétions, les ouvrières essaimantes qu'il maintient groupées et tranquilles, attire, avec d'autres substances, les ouvrières encagées, inhibe le développement de leurs ovaires, inhibe, en association avec l'acide 9-hydroxy-2-décénoïque, la construction des cellules royales et réduit le taux de mortalité des ouvrières encagées. L'acide 9-céto-2-décénoïque agit à la fois comme une phéromone sexuelle, une phéromone sociale et une anti-hormone bloquant les ovaires des ouvrières.

La reine en sécrète des quantités variables selon la saison et l'heure de la journée.

Les glandes mandibulaires des ouvrières devenues pondeuses produisent de l'acide 9-céto-2-décénoïque qui inhibe les ovaires des autres ouvrières.

Chez les ouvrières, il existe d'autres substances messagères, les phéromones d'alarme, produites au niveau de l'appareil à venin et les phéromones de marquage de piste sécrétées par les glandes tergaux de Nasonov. Récemment une phéromone de couvain a été identifiée chez les nymphes des trois castes d'abeilles. Elle déclenche le regroupement des abeilles sur des cellules royales factices (Koeniger, 1983).

Jusqu'à présent, on pensait que les petites glandes mandibulaires des mâles, de structure particulièrement simple, ne produisaient aucune phéromone. Or Lensky et son équipe démontra, en 1985, que déposées sur des leurres en coton accrochés à des ballons à 8 à 12 mètres du sol ces glandes attireraient d'autres mâles. Leur activité sécrétrice est maximale lorsque les mâles sont âgés de 3 à 4 jours ; à l'âge de 10 jours, elles redeviennent inactives. La phéromone apparaît donc avant la maturité sexuelle des mâles. Plusieurs questions se posent encore : attire-t-elle les reines vers les zones de rassemblement des mâles, ou bien les mâles quittent-ils ces zones lorsqu'ils perçoivent les phéromones royales ?...

Des phéromones ont été identifiées chez d'autres insectes sociaux : guêpes, bourdons, fourmis et termites, chez les insectes grégaires comme les blattes qui possèdent de nombreuses glandes céphaliques et chez de nombreuses espèces d'insectes non sociaux (Lépidoptères, Diptères et Coléoptères). ■

## Le point sur... L'utilisation pratique des phéromones

Ces substances ont donné lieu à de très nombreuses recherches appliquées en agriculture.

Les phéromones sexuelles sont des attractifs puissants. On a pensé les utiliser pour attirer les reproducteurs des insectes nuisibles dans le but de les exterminer. On espérait ainsi préserver l'environnement en utilisant moins d'insecticides ; cela n'a jamais donné les résultats escomptés.

Par contre, les phéromones sexuelles ont été utilisées avec succès pour les avertissements agricoles. Disposées dans des pièges ou trappes placés dans les cultures ou forêts, elles permettent de repérer les ravageurs, surveiller les éclosions et ainsi, rationaliser l'emploi des insecticides.

On peut également saturer de phéromones des zones entières ; les mâles attirés sont dans l'incapacité de localiser les femelles et de s'accoupler avec elles. Leurs antennes, peu habituées à des concentrations élevées de phéromones présentent des phénomènes d'inhibition. Il s'agit de la confusion sexuelle.

Dans d'autres essais, les phéromones sont distribuées sur des surfaces très petites ou sur quelques arbres où se concentrent les nuisibles et qui sont ensuite sacrifiés.

Dans tous les cas, les conditions météorologiques sont déterminantes.

Chez les insectes utiles comme l'abeille,

les phéromones peuvent également être utilisées à des fins pratiques. On peut par exemple constituer de petites colonies d'abeilles orphelines, en remplaçant les reines indispensables au bon fonctionnement des colonies par des leurres imprégnés par leur phéromone sexuelle.

En France, à la Station de Recherche de Bures-sur-Yvette, nous avons imprégné d'acide 9-céto-2-décénoïque de synthèse, une éponge artificielle qui a été introduite dans de petites colonies d'abeilles sans reine afin d'assurer la cohésion du groupe d'abeilles sans reine. L'objectif était de stimuler le vol des ouvrières et ainsi d'obtenir des pollinisations en enceintes fermées. A l'époque, les résultats montrèrent que le lure peut remplacer la reine s'il est imprégné de fortes doses de phéromones royales, environ 1 milligramme.

On a montré que cet acide attire les mâles d'abeille et il a été utilisé dans les recherches sur le comportement sexuel des abeilles, notamment pour repérer les zones de rassemblement des mâles.

Plus récemment, des chercheurs anglais (Free et coll., 1984) ont mis au point un lure contenant les phéromones de la glande de Nasonov des ouvrières et la phéromone de la reine, l'acide 9-céto-2-décénoïque. Placé à l'entrée d'une trappe, ce lure y attire les ouvrières; on peut ainsi facilement déplacer le groupe d'abeilles. ■

### L'auteur

Entrée à l'INRA en 1948, Janine Pain a consacré sa longue carrière de chercheur à l'étude des phéromones d'insectes.

Pionnière dans les recherches sur la communication chimique chez les abeilles, Mme Pain, Directeur de recherche honoraire à l'INRA, est aujourd'hui à la retraite.

### Pour en savoir plus... ...sur les phéromones

**Barbier M., 1982.** Les phéromones. Masson Edit., Paris, 140 p.

**Barbier M., 1986.** 25 ans après : histoire de la découverte de la substance royale (acide 9-céto-E-2-décénoïque), phéromone des reines d'abeilles. *Apidologie*, 17 (I), I-II.

## ...en bref...en bref...

### 7000 animaux venimeux dans les Hautes-Alpes

Au coeur du Dauphiné se trouve une PME aux activités insolites : elle produit et commercialise des venins à usages médical et pharmaceutique. Cette petite entreprise qui emploie 8 personnes a été baptisée LATOXAN ou Laboratoire des toxines animales et animaux venimeux.

Son créateur, Yvan Doljansky, possède une des plus belles collections mondiales de reptiles et scorpions vivants : 5000 scorpions, 1500 serpents et 300 reptiles divers ; et comme tout ce petit monde mange de bon appétit, grillons et souris sont aussi élevés en permanence au laboratoire.

Il faut pratiquer 10 000 manipulations pour obtenir un gramme de venin de scorpion qui, lyophilisé, sera vendu environ 30 000 francs. Chaque jour environ 1000 scorpions passent entre les mains de la manipulatrice.

Les venins de Latoxan voyagent ensuite vers 42 laboratoires de fabrication de sérum anti-venimeux dans le monde. Les projets diaboliques d'Yvan Doljansky ne s'arrêtent pas là, il envisage maintenant d'ouvrir un énorme vivarium avec scorpions, méduses, serpents, scolopendres, crapauds, mygales. Du jamais vu... ■

### Les biopesticides toujours trop chers

L'utilisation des micro-organismes, champignons, bactéries, virus, protozoaires ou nématodes dans la protection des plantes est encore très faible. Ces produits représentent moins de 1% des ventes totales de pesticides. La mise en pratique de ce type de lutte est délicate. Les biopesticides ont un spectre d'action souvent très étroit et leurs résultats sont moins immédiats que ceux des produits chimiques. De plus, ces pathogènes, pour être commercialisés, doivent être produits en grande quantité puis conditionnés de telle façon que leurs propriétés insecticides soit préservées. Enfin et surtout, la production en masse de ces organismes reste onéreuse et le succès d'une technique n'est envisageable que lorsqu'on atteint des niveaux économiques compétitifs. ■