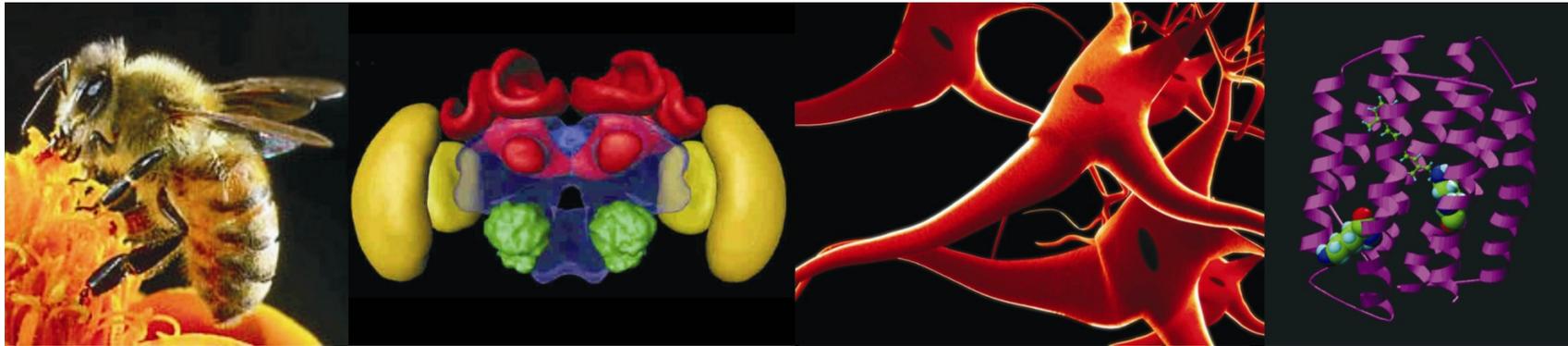


Les phéromones de l'abeille : nouvelles découvertes et rôles insoupçonnés



Martin Giurfa

Institut de Biologie Paris-Seine

Neurosciences Paris Seine

martin.giurfa@sorbonne-universite.fr

Premières observations sur l'attraction des insectes à distance par l'odeur des congénères



Jean-Henri Fabre



Jean-Henri Fabre (1823-1915), naturaliste et entomologiste, et son expérience avec un papillon femelle du Grand Paon de Nuit attirant les mâles à distance.

Les mâles détectent les femelles à de longues distances et sans contact visuel.

Un signal olfactif émis par la femelle est à la base de cette attraction

Les travaux pionniers de Dietrich Schneider : la découverte des phéromones (années 50)



Dietrich Schneider
(1919 – 2008)

Attirance sexuelle chez le papillon du vers à soie *Bombyx mori*



Un mâle de *Bombyx mori*



Une femelle de *Bombyx mori*



Glande productrice de
phéromones dans l'abdomen de
la femelle de *Bombyx mori*

L'avantage du *Bombyx mori* pour le travail en laboratoire



L'avantage du papillon du vers à soie : une espèce sélectionnée sur des milliers de générations pour la production de soie, qui a perdu la capacité de voler

Un test comportemental simple qui reproduit l'attraction sexuelle des phéromones en laboratoire

Reproduction de l'attraction à base de phéromones des mâles de *B. mori* en laboratoire





Caractérisation de la phéromone sexuelle de *Bombyx mori*



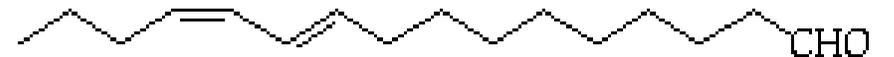
Adolf Butenandt
Prix Nobel 1939
(1903-1995)



Pour l'identification de la première molécule de la phéromone sexuelle de *Bombyx mori* en 1959, il a fallu sacrifier 500 000 papillons femelles afin d'obtenir 6,4 mg de substance pure.



• Bombykol (Butenandt 1959) 10



• Bombykal (Kasang 1978) 1

La phéromone libérée par la femelle de *Bombyx mori* possède deux composants (deux molécules) :

Un alcool : le Bombykol

Un aldéhyde : le Bombykal

Proportion : 10 OL / 1 AL

Phéromones : une définition

- **Phéromones** = substances chimiques libérées vers l'extérieur par un individu et qui servent de **messagers chimiques** au sein d'une espèce ; Ils déclenchent des comportements spécifiques en relation avec le message transmis.

(Karlsson & Luescher, Nature, 1959).

- **Les phéromones sont rarement UNE molécule**; elles sont dans la plupart des cas un « **bouquet** » de molécules ; l'information est contenue non seulement dans la composition des molécules qui composent la phéromone mais aussi dans leurs proportions.

Potentiel important dans la lutte biologique contre les insectes ravageurs



- Les pièges à phéromones ont été développées pour de nombreuses espèces d'intérêt agricole et sanitaire.
- Une solution préférable à l'utilisation des pesticides.

Le cas des abeilles : les phéromones, base de la socialité

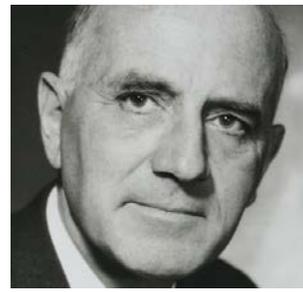




La communication au sein de la colonie : une clé du succès de l'espèce



John B. Free



Colin Butler

Phéromones multiples – plusieurs messages libérés par plusieurs émetteurs

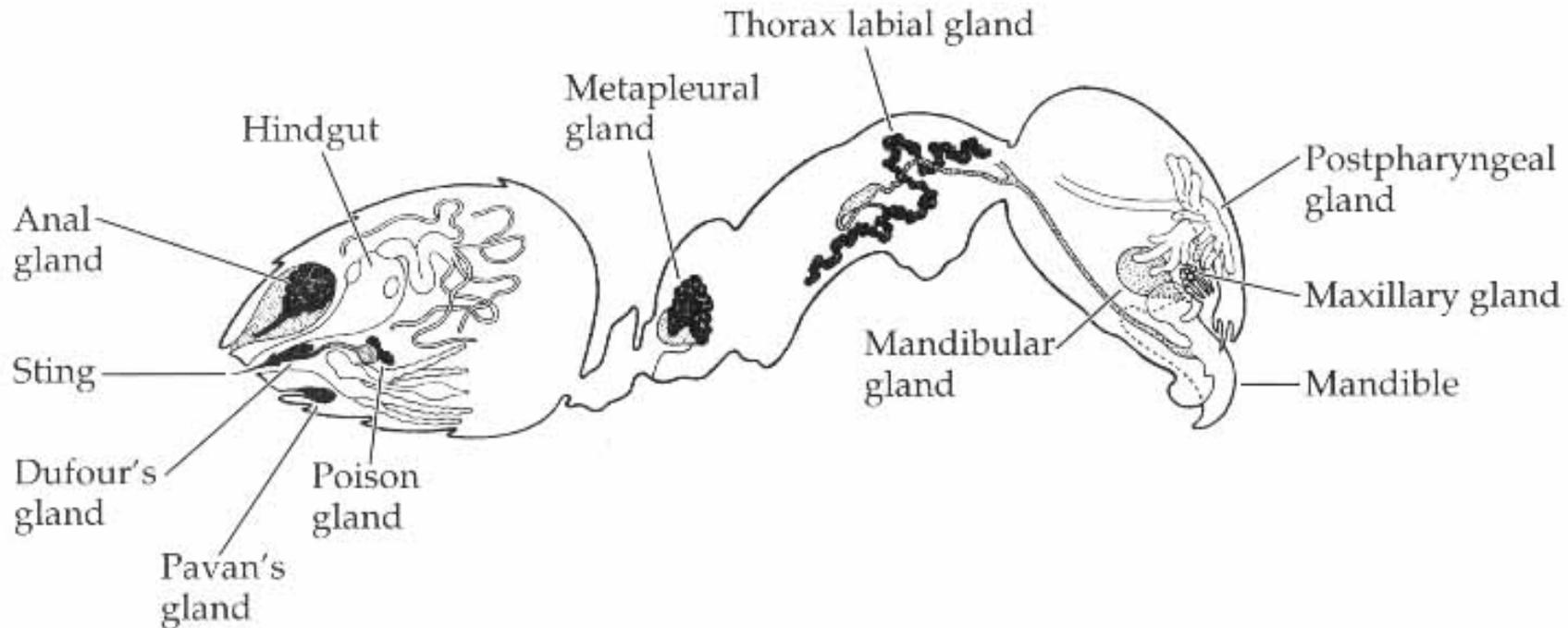
- **Phéromone royale:** → Dominance sociale, cohésion, attirance sexuelle, etc.
- **Phéromone de couvain** → Alimentation, apport en nutriments.
- **Phéromones libérées par les gardiennes** → Défense de la colonie, Attaques.
- **Phéromones libérées par les butineuses** → Marquage d'endroits attractifs, etc. Attraction.





Les phéromones chez les abeilles : un code élaboré et riche pour la communication dans un contexte social

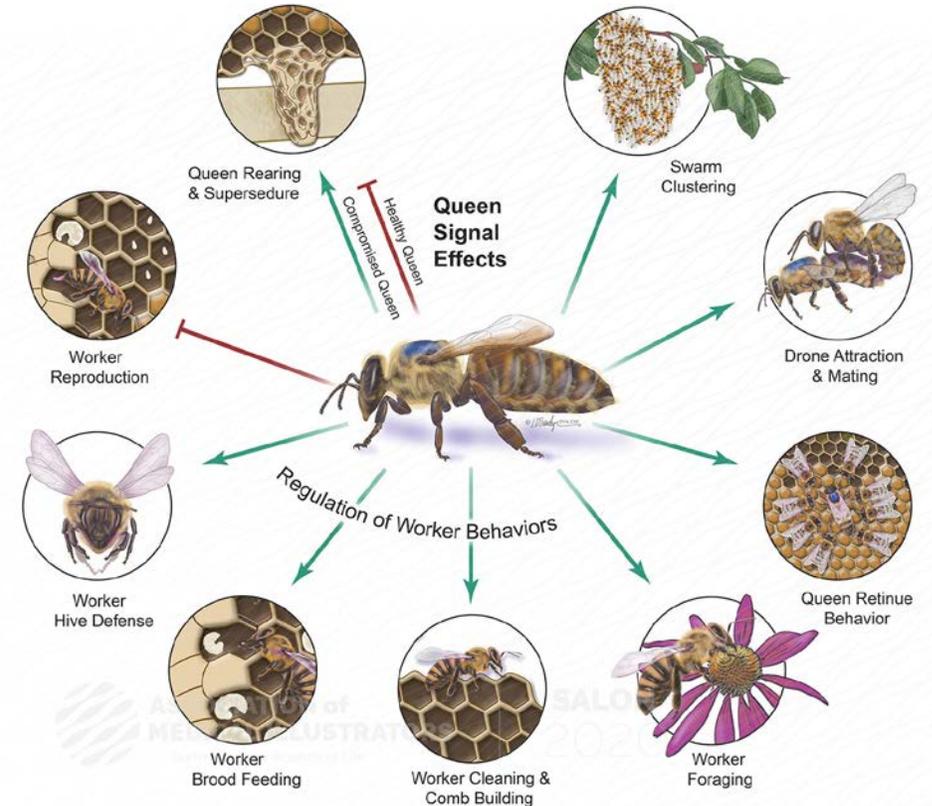
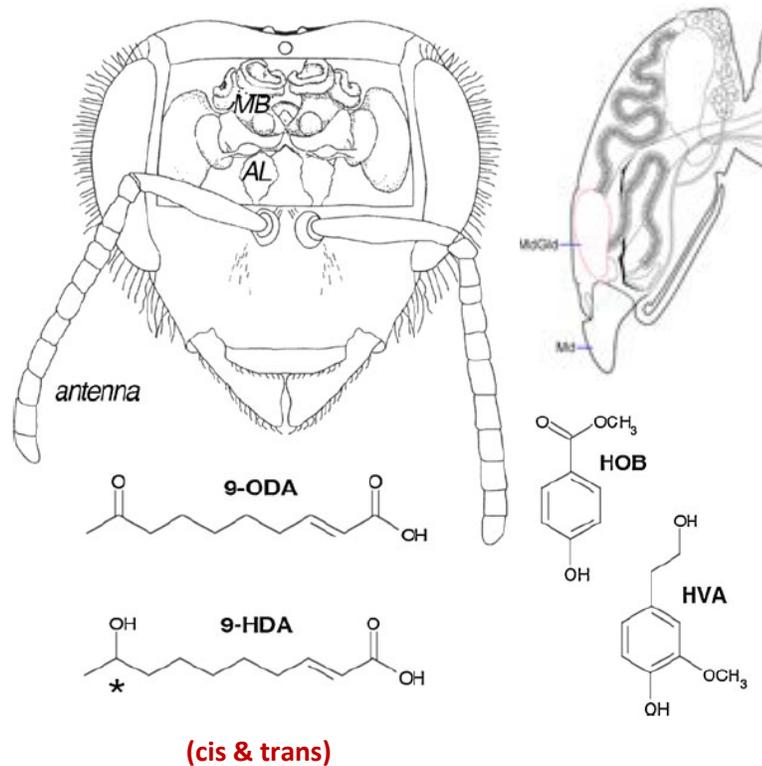
Glandes productrices de phéromones chez les abeilles (quelques exemples)



(+ glandes des tarse, glandes tergaes, etc.)

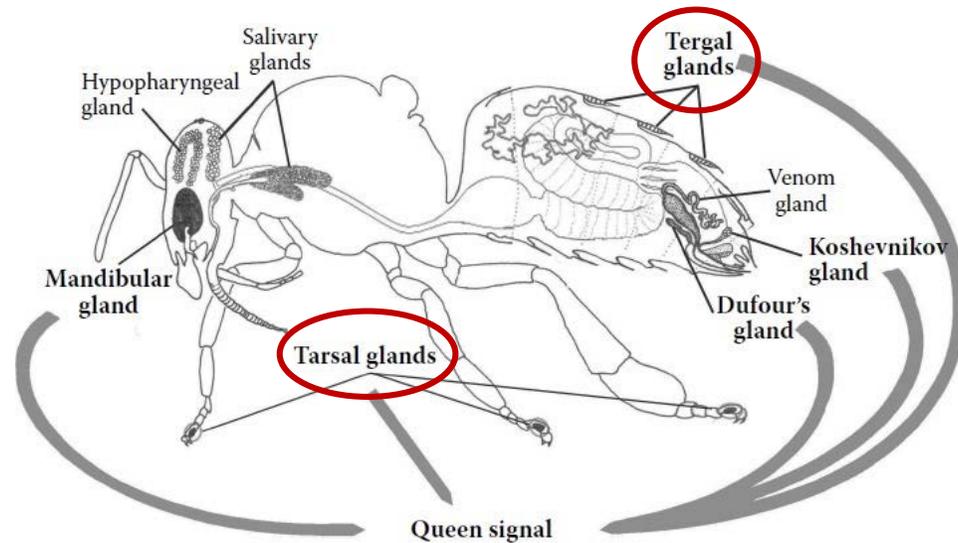


La phéromone royale: effets multiples du bouquet phéromonal produit par les glandes mandibulaires de la reine



Une phéromone cruciale pour l'organisation et la cohésion sociale

Autres phéromones royales: redondance et synergie



Phéromone d'empreinte tarsale :

Une sécrétion composée qui comprend des alcanes, des alcènes, des alcools, des acides organiques, des éthers, des esters et des aldéhydes.

Les sécrétions tarsiennes inhibent la construction de cellules royales.

Lensky & Slabezky J. Insect Physiol 1981

Phéromone des glandes tergaes:

- Une sécrétion composée qui comprend des esters cuticulaires, des alcènes, des acides carboxyliques, entre autres.
- Un effet synergique avec la phéromone mandibulaire royale: un mélange de ces composés s'est avéré aussi efficace que la phéromone royale mandibulaire dans l'inhibition de la reproduction des ouvrières.

Princen et al Proc Royal Soc B 2019

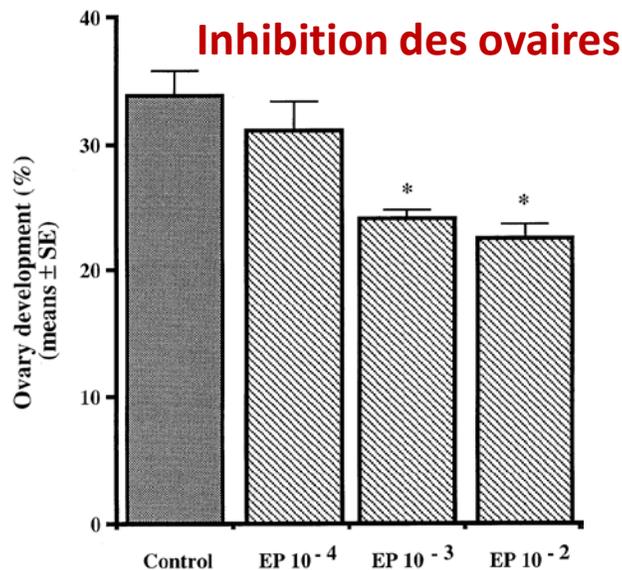


La phéromone du couvain : quand les larves dictent le travail des ouvrières



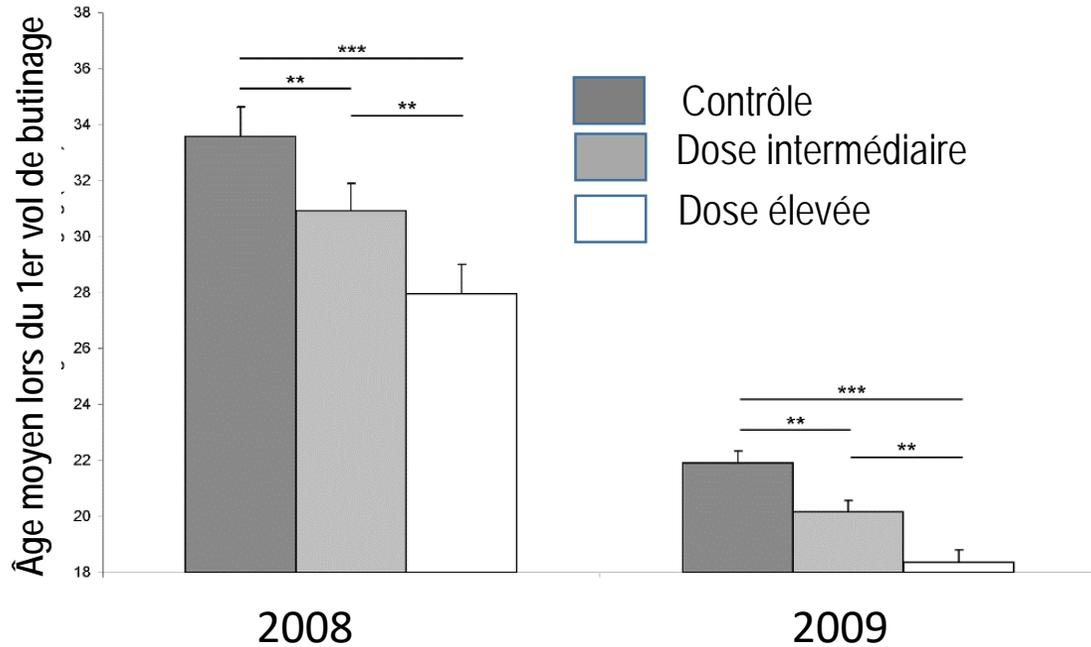
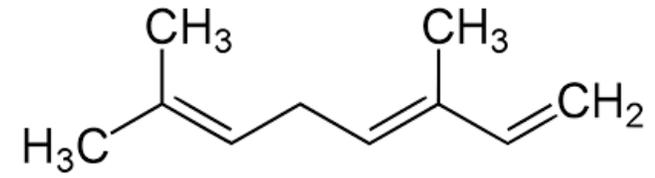
Yves Leconte

- Le couvain libère des substances olfactives produites au niveau de la cuticule.
- **La phéromone stérique du couvain:** Un ensemble de **10 esters d'acides gras**, principalement dans le couvain plus âgé : *palmitate de méthyle, palmitate d'éthyle, oléate de méthyle, oléate d'éthyle, stéarate de méthyle, stéarate d'éthyle, linoléate de méthyle, linoléate d'éthyle, linolenate de méthyle et linolenate d'éthyle*. Caractérisé par Yves Leconte en 1989.



- Inhibe le développement des ovaires chez les ouvrières
- Favorise la recherche de nourriture, en particulier de pollen
- Favorise le nettoyage des cellules larvaires
- Chez les larves plus âgées, favorise la fermeture des cellules

Une phéromone supplémentaire du couvain : le β -ocimène



Maisonnasse et al PLoS One 2010

β -ocimène, Principalement chez le **jeune couvain**, favorise l'activité de recherche de nourriture (il diminue l'âge des 1^{ers} vols de butinage).

La phéromone accélère la maturation des ouvrières (elles deviennent butineuses plus tôt que prévu).

Elle inhibe également le développement des ovaires des ouvrières (effet synergique avec la phéromone royale !).

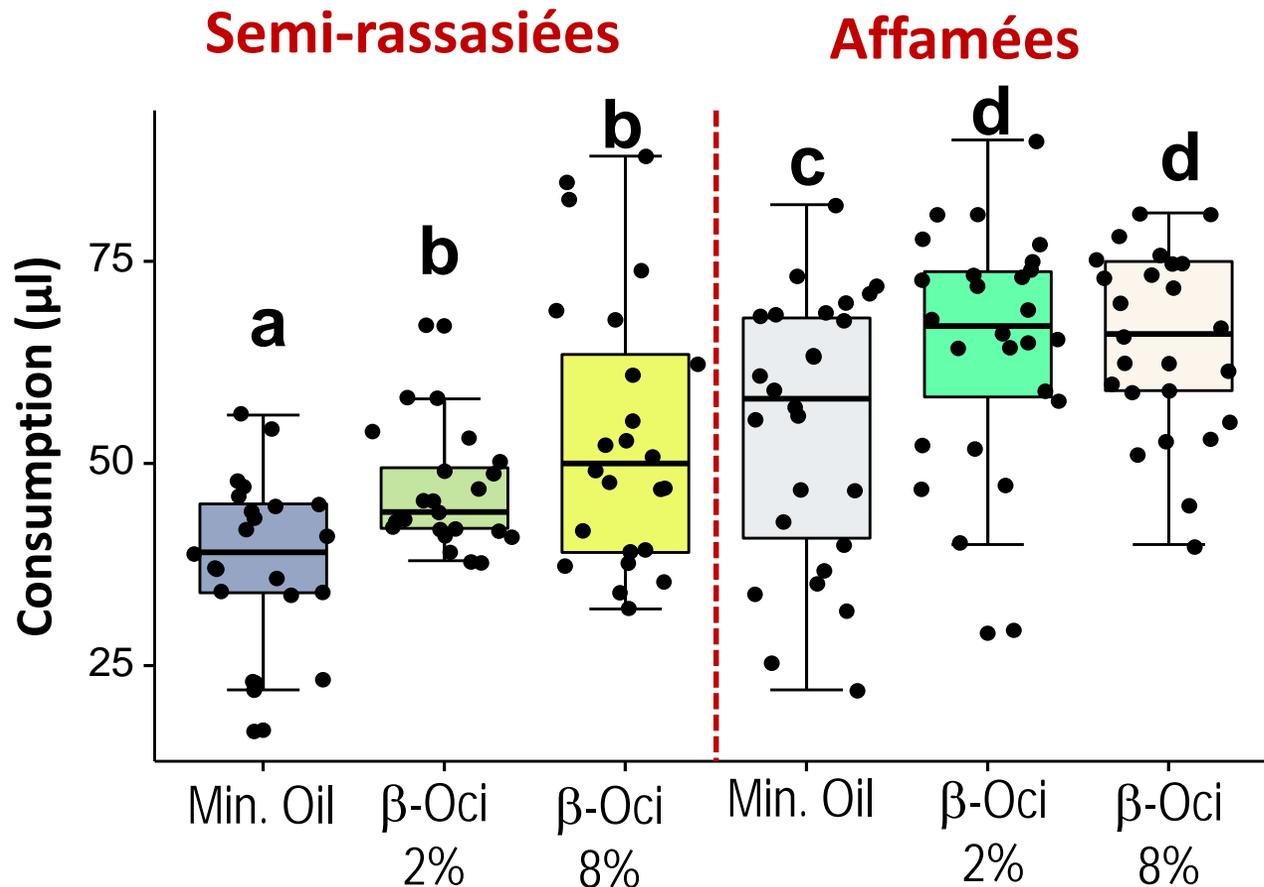
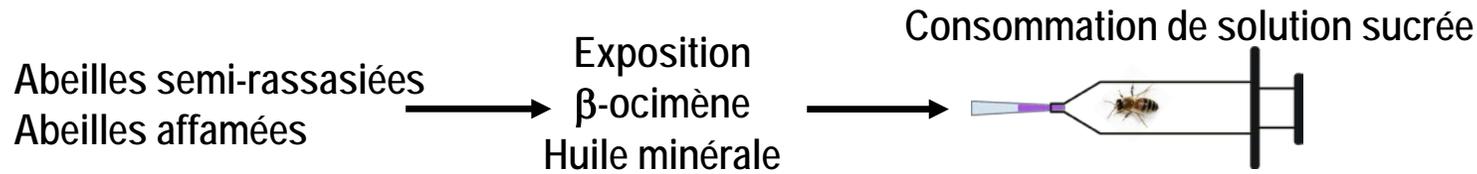
β -ocimène favorise la consommation alimentaire chez les butineuses



Rafael Carvalho da Silva



Gabriela de Brito Sanchez

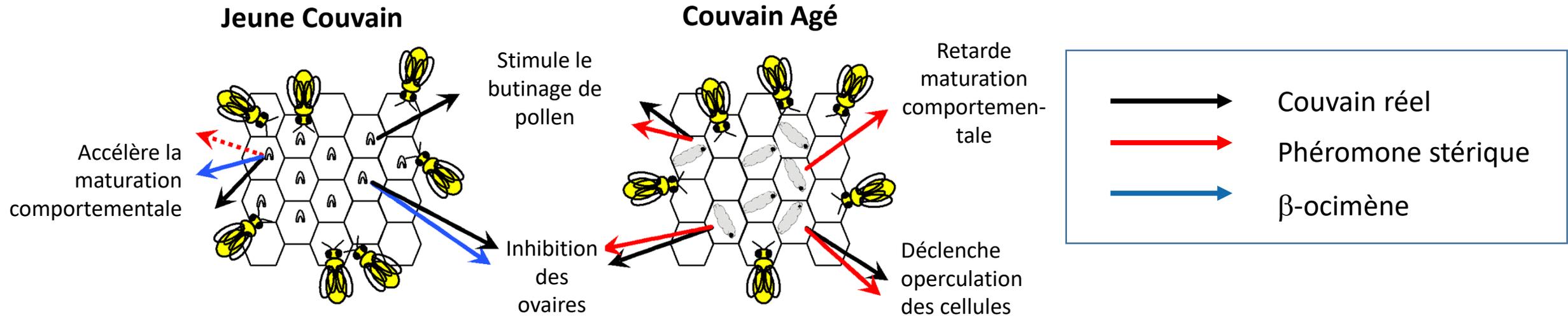


- Les abeilles semi-rassasiées consomment logiquement moins de solution sucrée que les abeilles affamées.
- Exposition au β -ocimène augmente la consommation de solution sucrée chez les abeilles semi-rassasiées et chez les abeilles affamées.
- Les abeilles retournent à la ruche avec plus de nourriture.

Les deux phéromones du couvain agissent ensemble à des niveaux et à des échelles différents

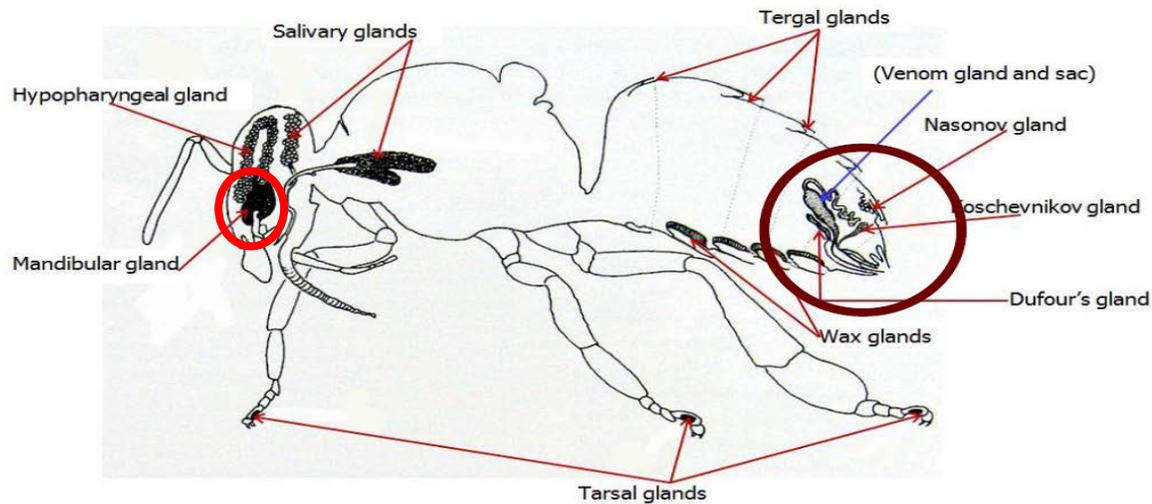
Jeune couvain : principalement β -ocimène

Vieux couvain : principalement la phéromones stérique





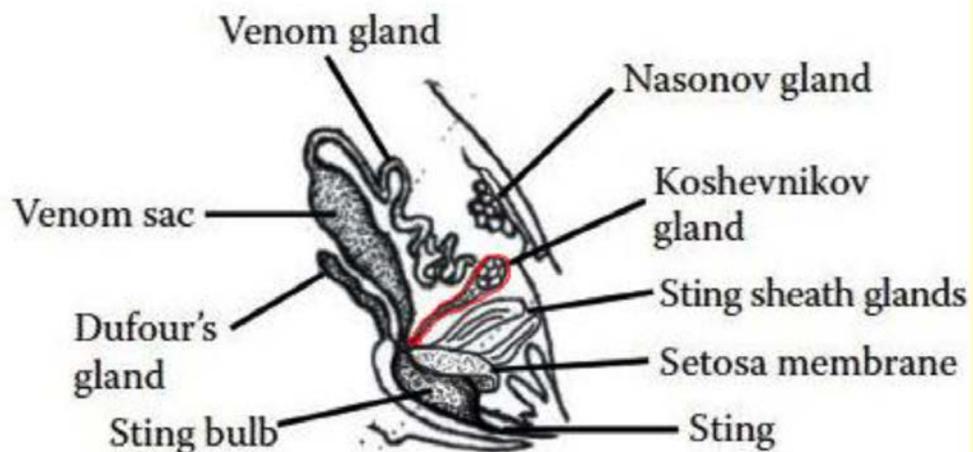
Phéromones d'alarme et de défense des gardiennes : libération dans un contexte aversif



Glande de Kostchevnikov: Production de la phéromone de dard (bouquet) - *Déclenche l'attaque coordonnée.*

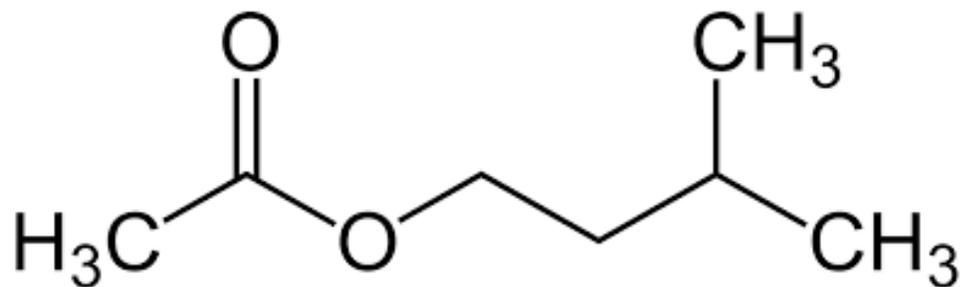
Glandes mandibulaires: Production de la phéromone répulsive (2-Heptanone) - *Déclenche le rejet des intrus.*

La phéromone du dard : un bouquet de 40 molécules



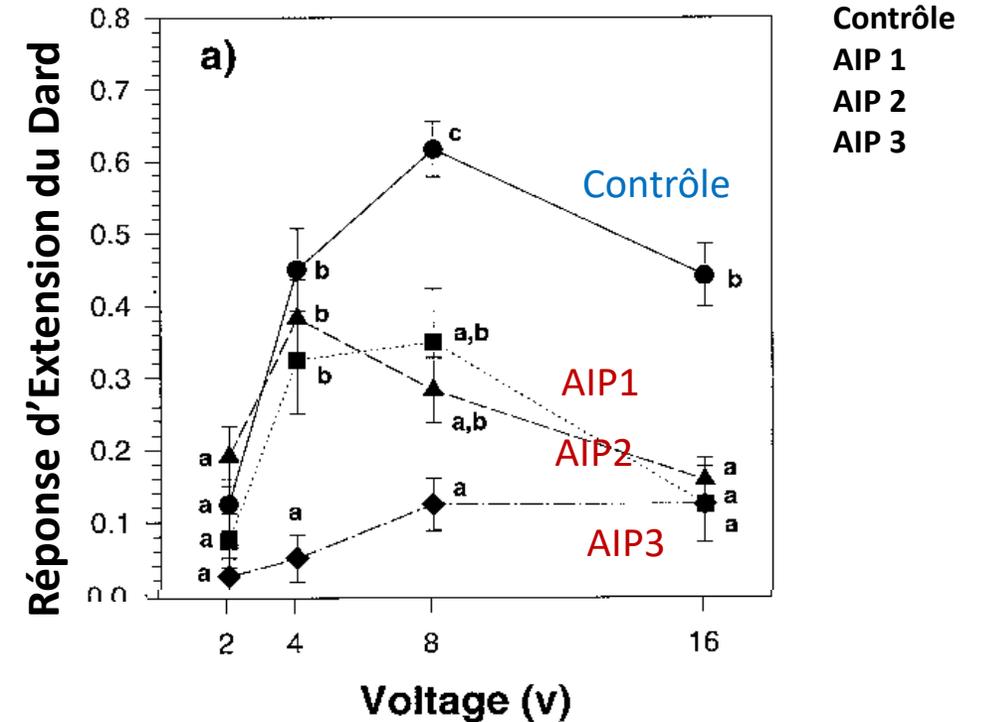
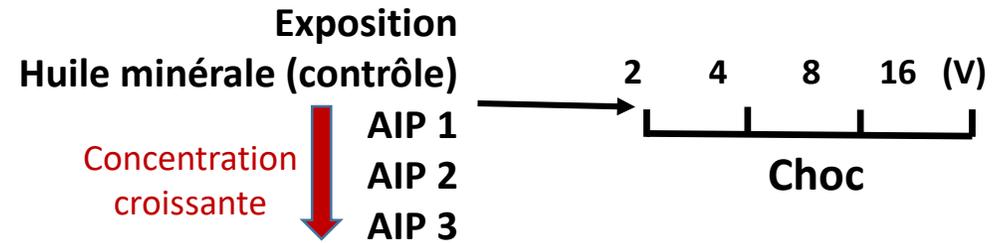
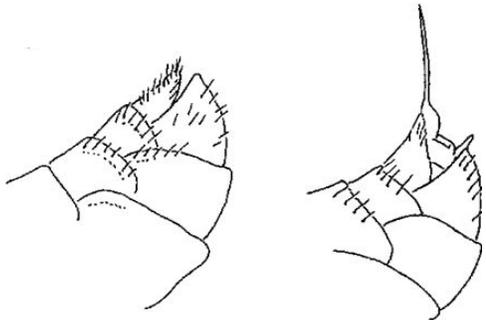
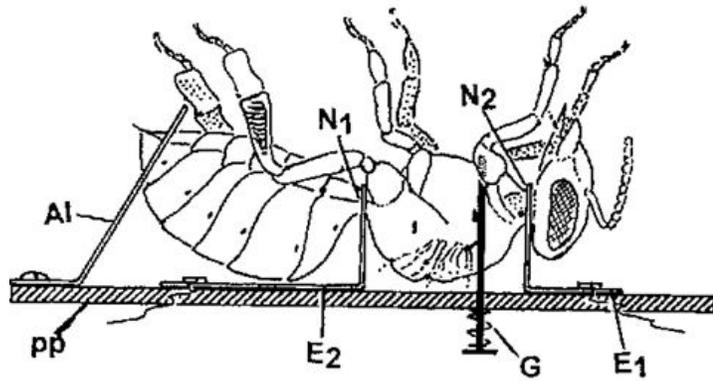
- Bouquet de 40 molécules dont l'acétate d'isopentyle (AIP) est la plus importante.

Attaque coordonnée (en fait défense coordonnée !)



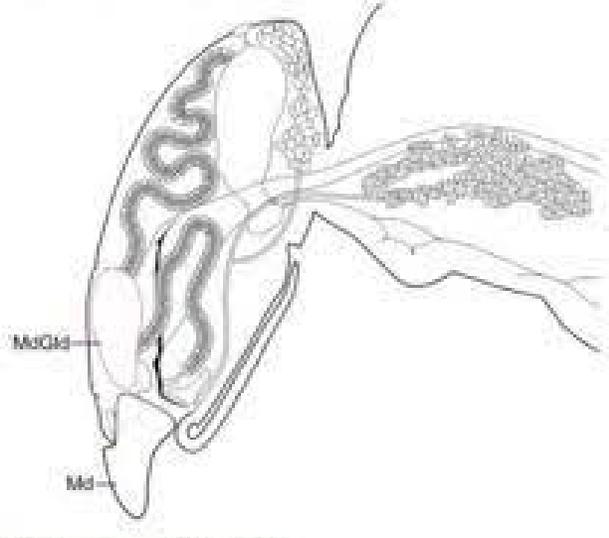
Acétate d'isopentyle (aussi appelé acétate d'isoamyle)

L' AIP induit une état d'analgésie similaire à celui produit par des opioïdes chez les abeilles qui piquent



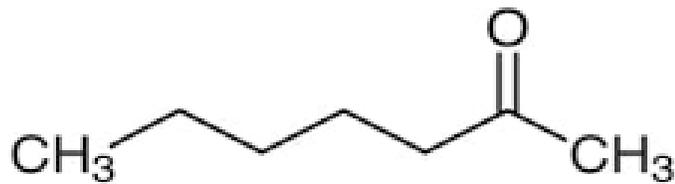
La phéromone de la glande mandibulaire : une molécule répulsive identifiée, la 2-heptanone

Mandibular glands, side view



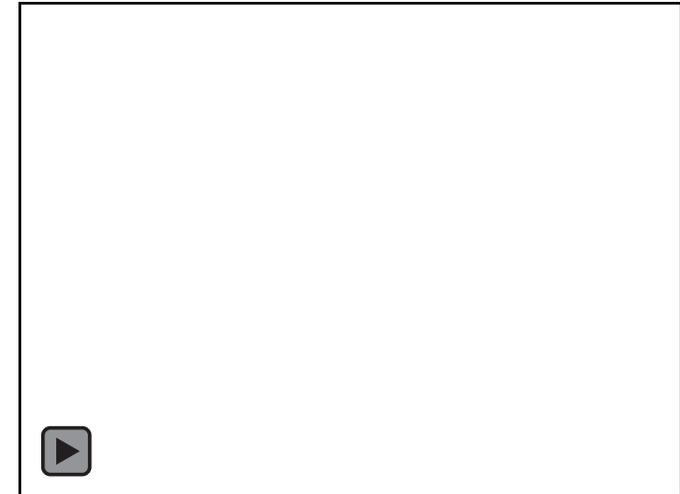
Libération d'une molécule répulsive, *2-heptanone (2H)*

Rejet des intrus – effet répulsif

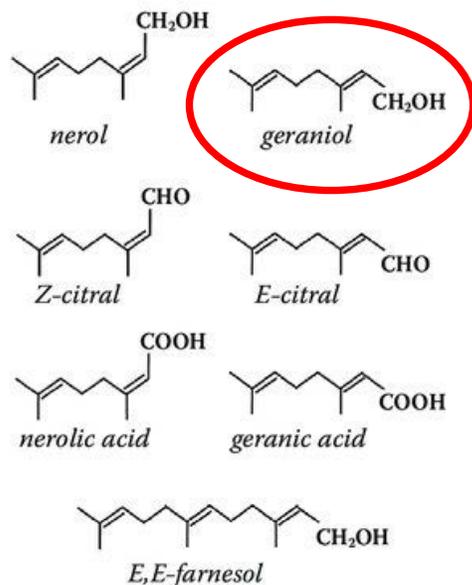
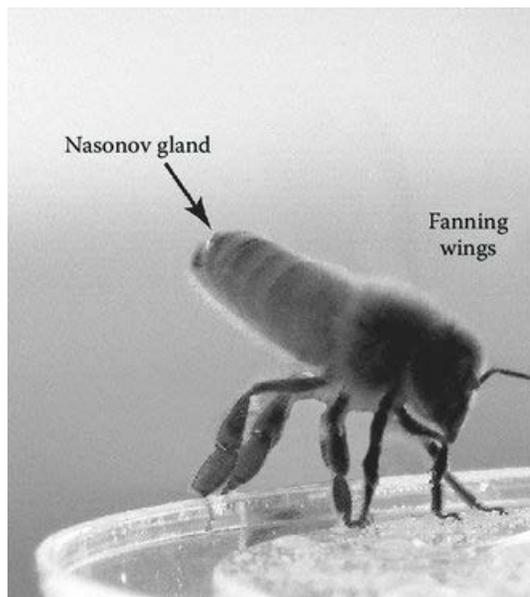


2-Heptanone

Également suggérée comme phéromone de marquage olfactif pour des fleurs récemment visitées et vidées (induit le rejet) **chez les butineuses.**



Phéromones d'attraction chez les butineuses : libération dans un contexte appétitif



- La **phéromone de la glande de Nasonov** : Glande à l'extrémité de l'abdomen
- Un bouquet à 7 molécules dont le Géraniol est la plus importante.
- La libération de la phéromone s'accompagne du battement des ailes pour augmenter le rang d'action de la phéromone.
- **Attire vers des endroits marqués** : sources de nourriture, entrée de la ruche, etc.

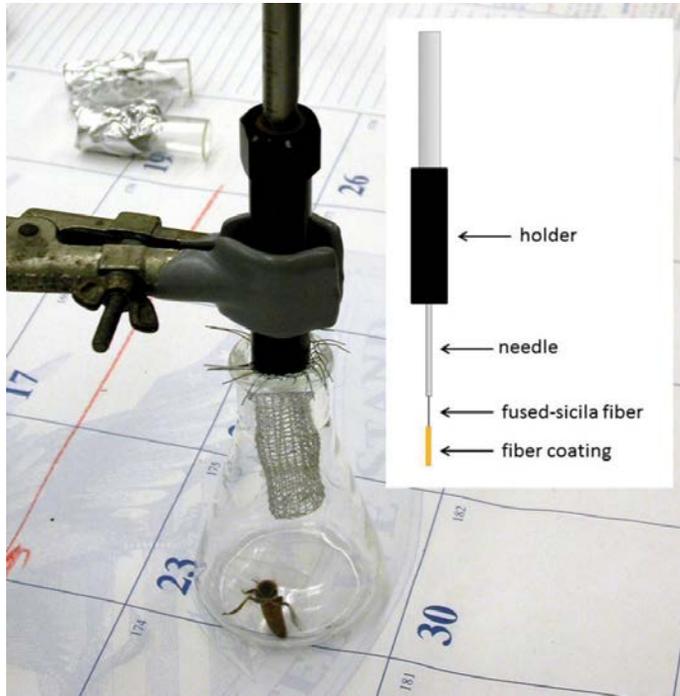


Une « nouvelle » phéromone : la phéromone activatrice du butinage libérée lors des danses

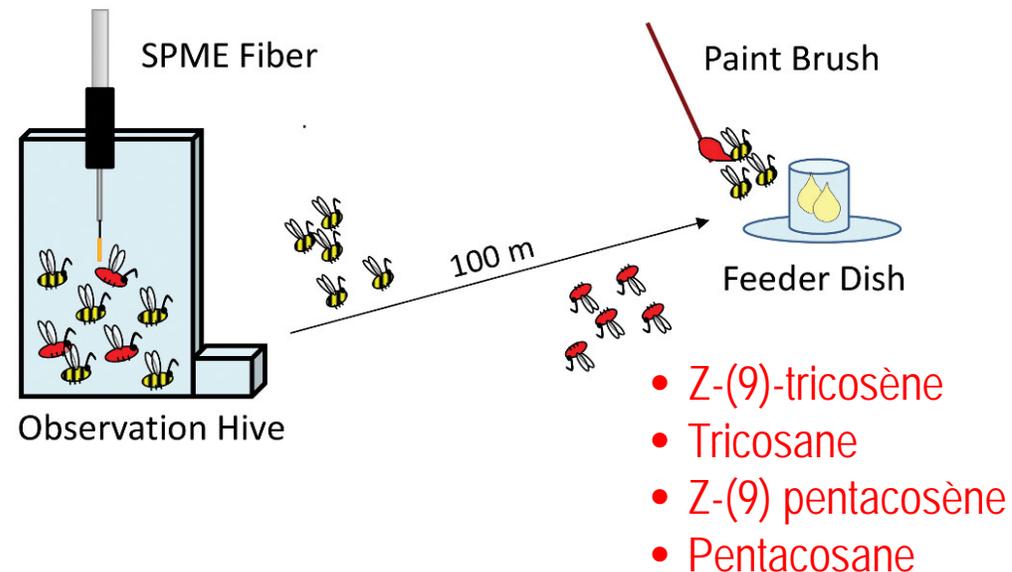


Harald Esch
(1931 – 2017)

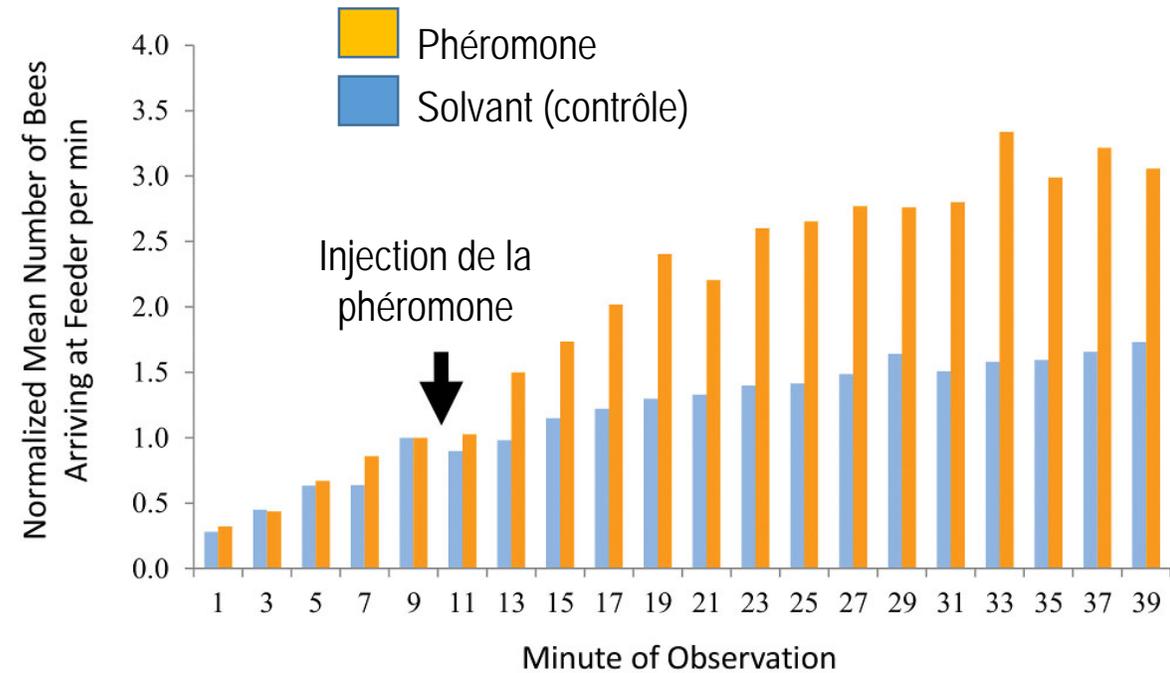
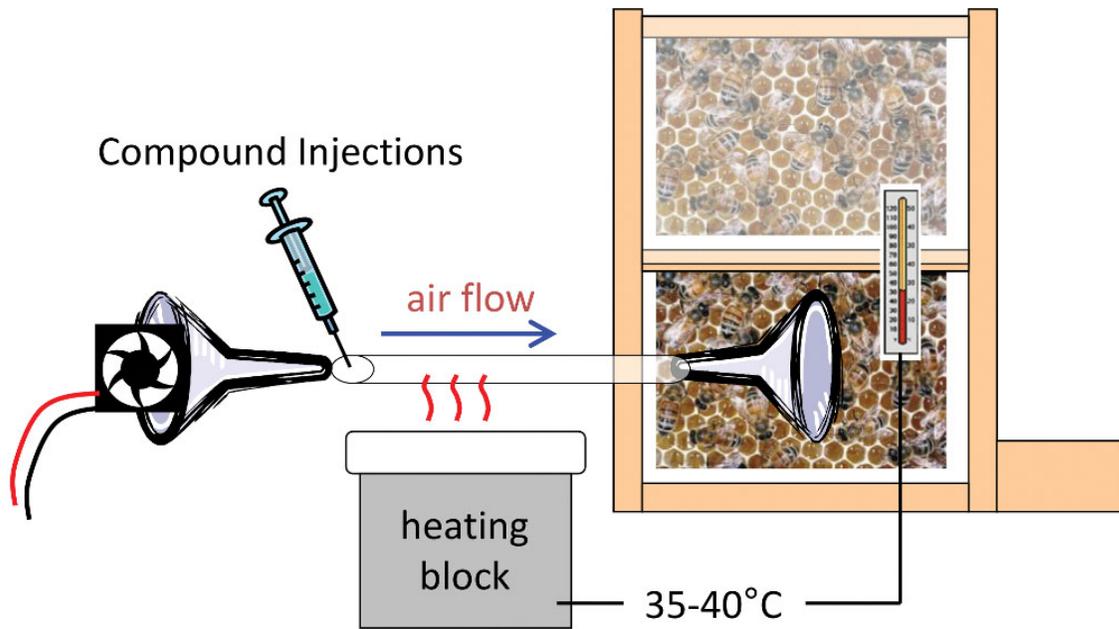
Analyse des odeurs par chromatographie sur fibre et en phase gazeuse / spectrométrie de masse



La même technique a été appliquée à des abeilles dansantes identifiées dans la ruche: **Quatre molécules détectées dans l'environnement immédiat de l'abeille dansante (pas ailleurs)**



La phéromone libérée pendant les danses



- ❑ L'injection du mélange de 4 composés active le départ des abeilles ayant suivi la danse.
- ❑ La phéromone libérée pendant la danse stimule les abeilles à quitter le nid et à atteindre la source de nourriture signalée.

Une perspective différente sur la fonction des phéromones



- ❑ Les phéromones peuvent-elles avoir un rôle au-delà de la communication intraspécifique ?
Peuvent-elles agir comme des modulateurs de comportements qui ne sont pas nécessairement directement liés à leur contenu informationnel ?
- ❑ Les phéromones peuvent-elles affecter la *réponse à la récompense ou à la punition*, affectant ainsi les états motivationnels ? Peuvent-elles, de cette manière, affecter *l'apprentissage et la mémoire* ?
- ❑ En termes plus simples, *l'exposition aux phéromones modifie-t-elle la capacité individuelle d'apprendre et de mémoriser ?*

Phéromones et sensibilité à la récompense alimentaire

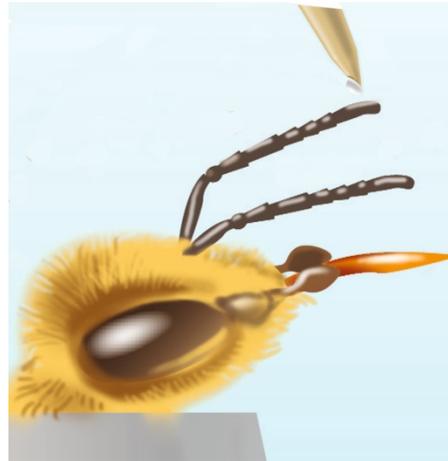


David Baracchi



Patrizia d'Ettorre

Nous avons analysé si l'exposition à des phéromones de valence différente (attractives, dissuasives) modifie la façon dont les abeilles individuelles réagissent aux solutions de saccharose



Un test standard de réactivité au saccharose

Les abeilles affamées étendent leur proboscis à partir de la stimulation de leurs antennes avec une solution de saccharose appétitive.

Ce réflexe peut être provoqué chez les abeilles harnachées en laboratoire.

Une autre façon de quantifier les réponses appétitives : **les scores appétitifs individuels**

	0	0	0	0	0	1	=	1
	0	0	0	1	1	1	=	3
	0	0	1	1	1	1	=	4
	0	0	0	0	1	1	=	2

plus la proportion d'abeilles qui étirent le proboscis est élevée

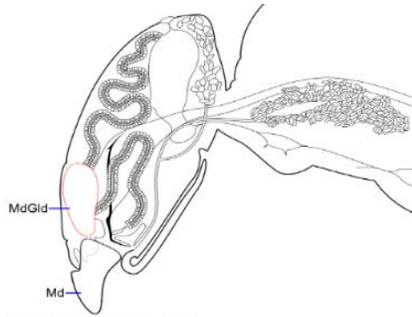
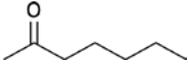
0.1 0.3 1 3 10 30 (%)

concentrations

son est élevée,

Exposition à des phéromones de valence différente

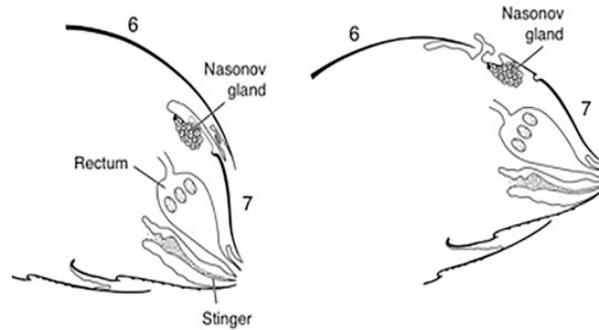
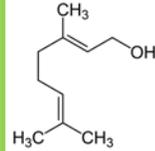
2-heptanone (2H) (negative valence)



© Adam Tortois - www.honeybee-drawing.org

2H est une phéromone d'alarme libérée par la glande mandibulaire. Elle a un effet répulsif sur les intrus et est aussi utilisée pour marquer et rejeter les fleurs épuisées.

Geraniol (GER) (positive valence)



GER est le composant principal de la phéromone attirante de la glande de Nasonov, qui est utilisée pour marquer les sites d'intérêt (entrée de la ruche, sources de nourriture rentables, etc.) > induit l'attraction des ouvrières



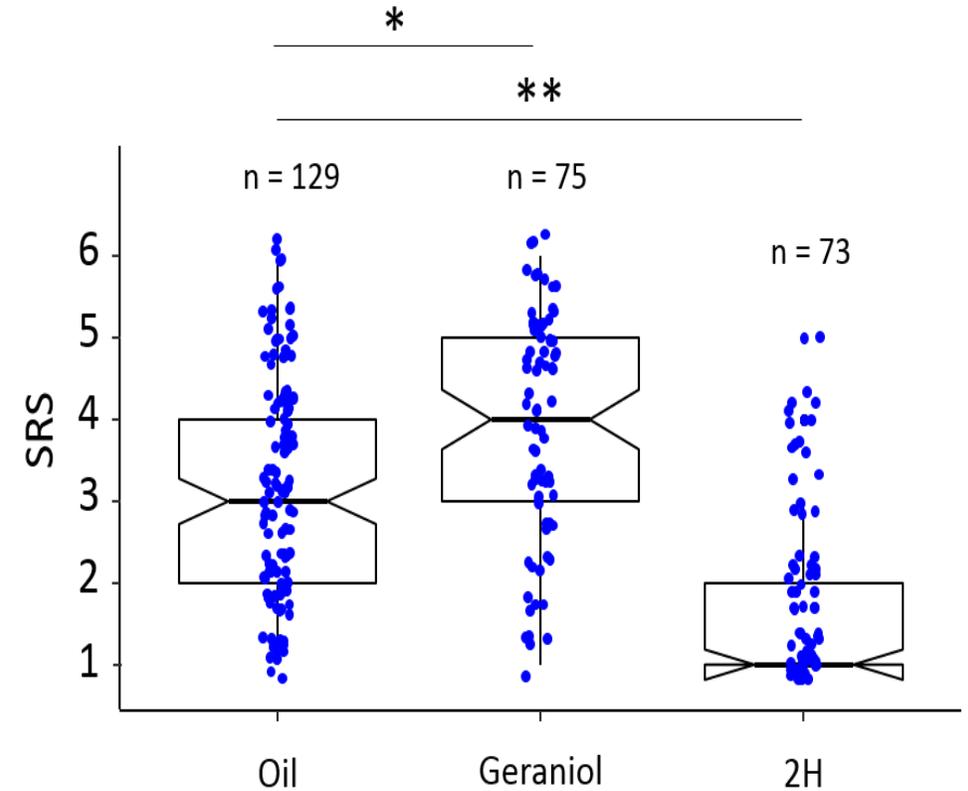
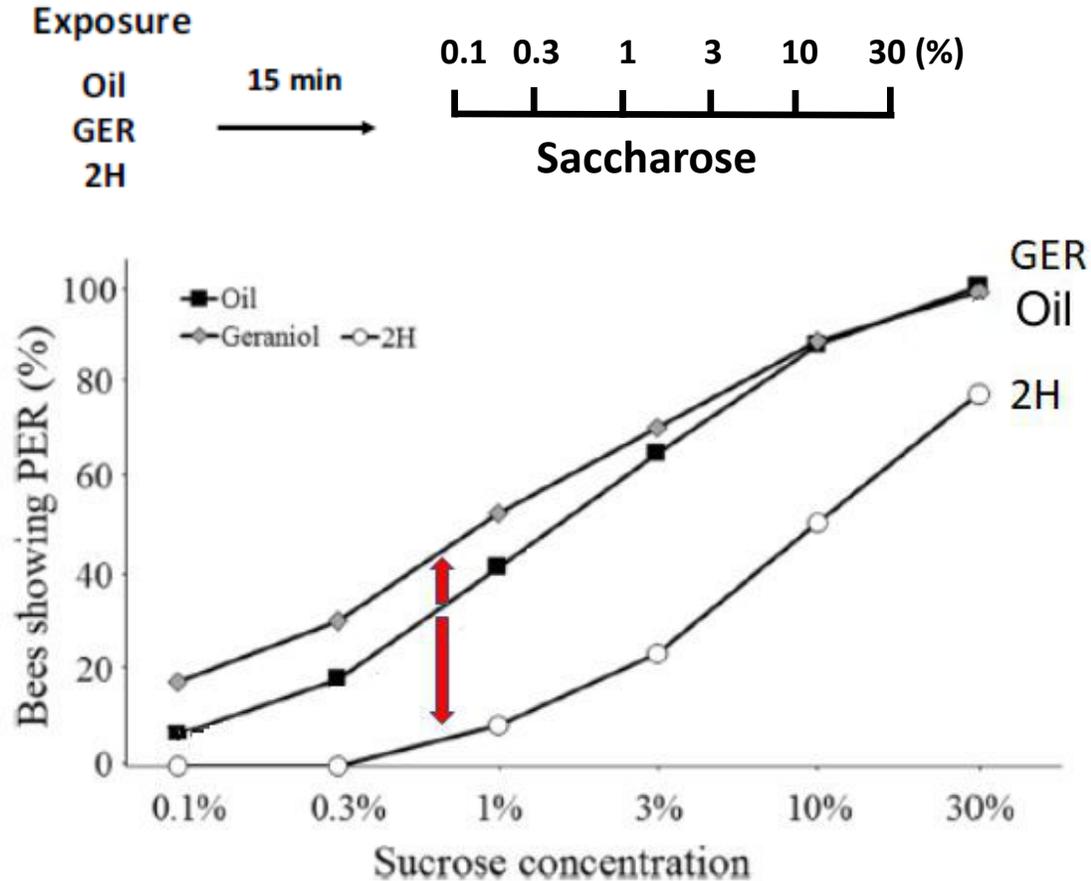
15 min d'exposition à :

- 25µl d'huile minérale (contrôle)
- 24% (**Geraniol, 2H**)
- 15 min de repos (minimum) a posteriori

L'exposition aux phéromones modifie la valeur subjective de la récompense de saccharose



David Baracchi



- La phéromone appétitive GER → Augmente la réactivité au saccharose; les abeilles deviennent plus sensibles au saccharose
- La phéromone aversive 2H → Diminue la réactivité au saccharose; les abeilles deviennent moins sensibles au saccharose

Phéromones, apprentissage et mémoire

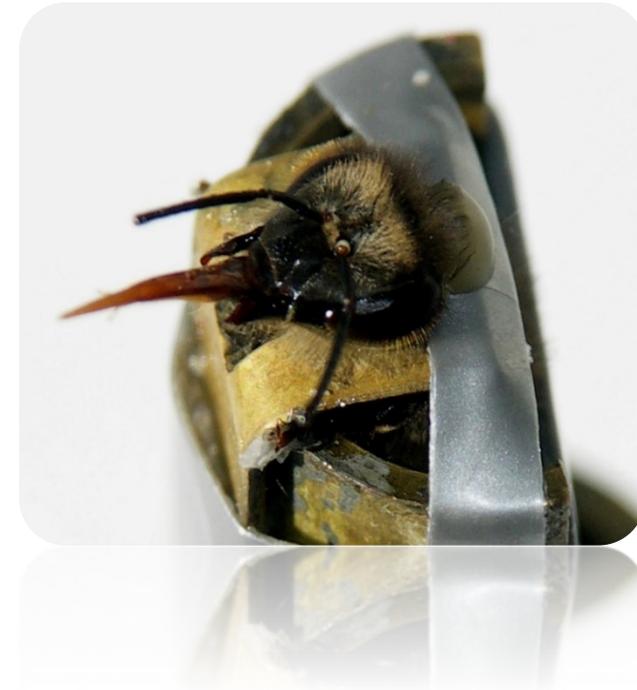


David
Baracchi

Étant donné que les phéromones modifient la sensibilité au renforcement, et que le renforcement est ce que les animaux apprennent à prédire par l'apprentissage...

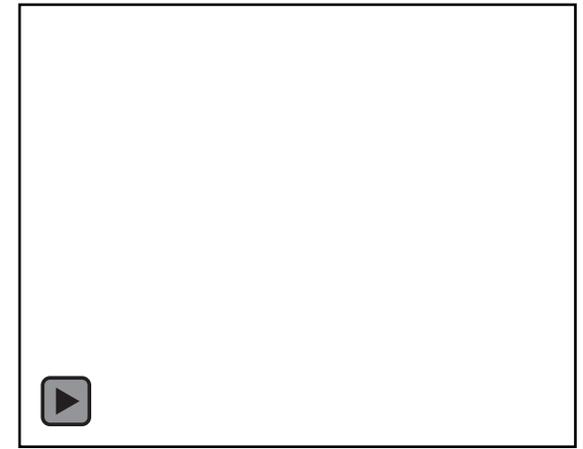
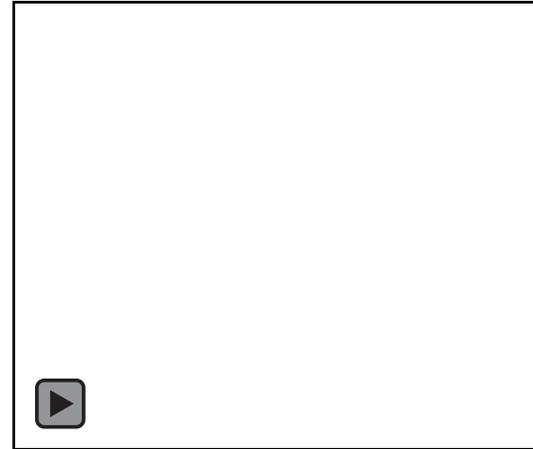
...Les phéromones modifient-elles l'apprentissage et la formation de la mémoire chez les abeilles mellifères ?

Ces changements sont-ils persistants et s'expriment-ils sur le long terme, lorsque les phéromones ne sont plus présentes ?



L'apprentissage olfactif associatif en laboratoire : Conditionnement pavlovien de la réponse d'extension du proboscis

Apprentissage appétitif : les abeilles apprennent à associer une odeur neutre (SC) à une récompense en sucre (SI)

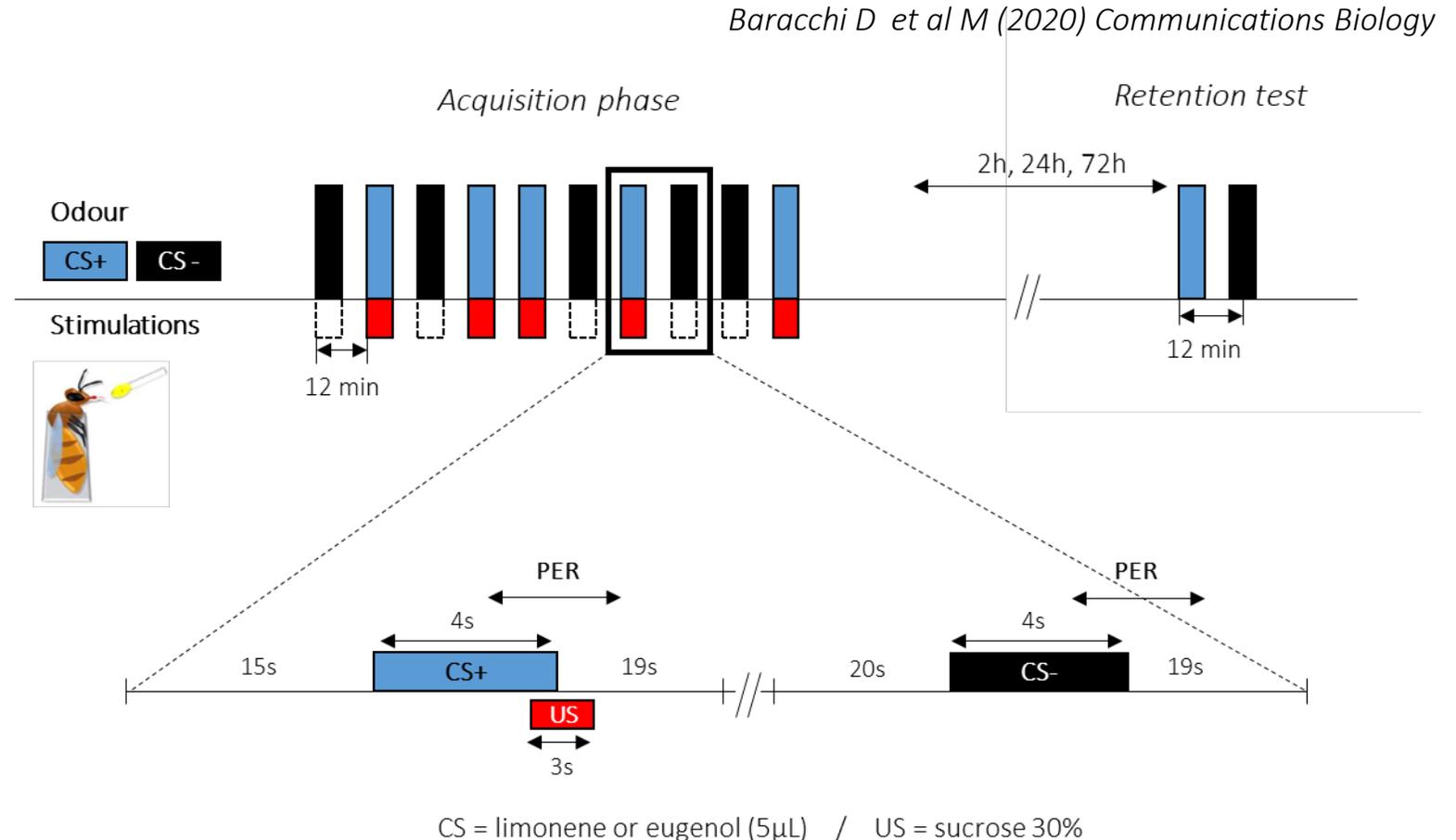


Un apprentissage rapide et robuste qui se déroule en quelques essais (2 ou 3) et qui permet d'obtenir des souvenirs à long terme récupérables plusieurs jours plus tard

Conditionnement différentiel olfactif: apprendre la différence entre deux odeurs

L'odeur A (CS+) est associée 5 fois à la récompense de sucre tandis que l'odeur B (CS-) est présentée 5 fois sans récompense.

Les abeilles apprennent à étirer le proboscis à A et non à B



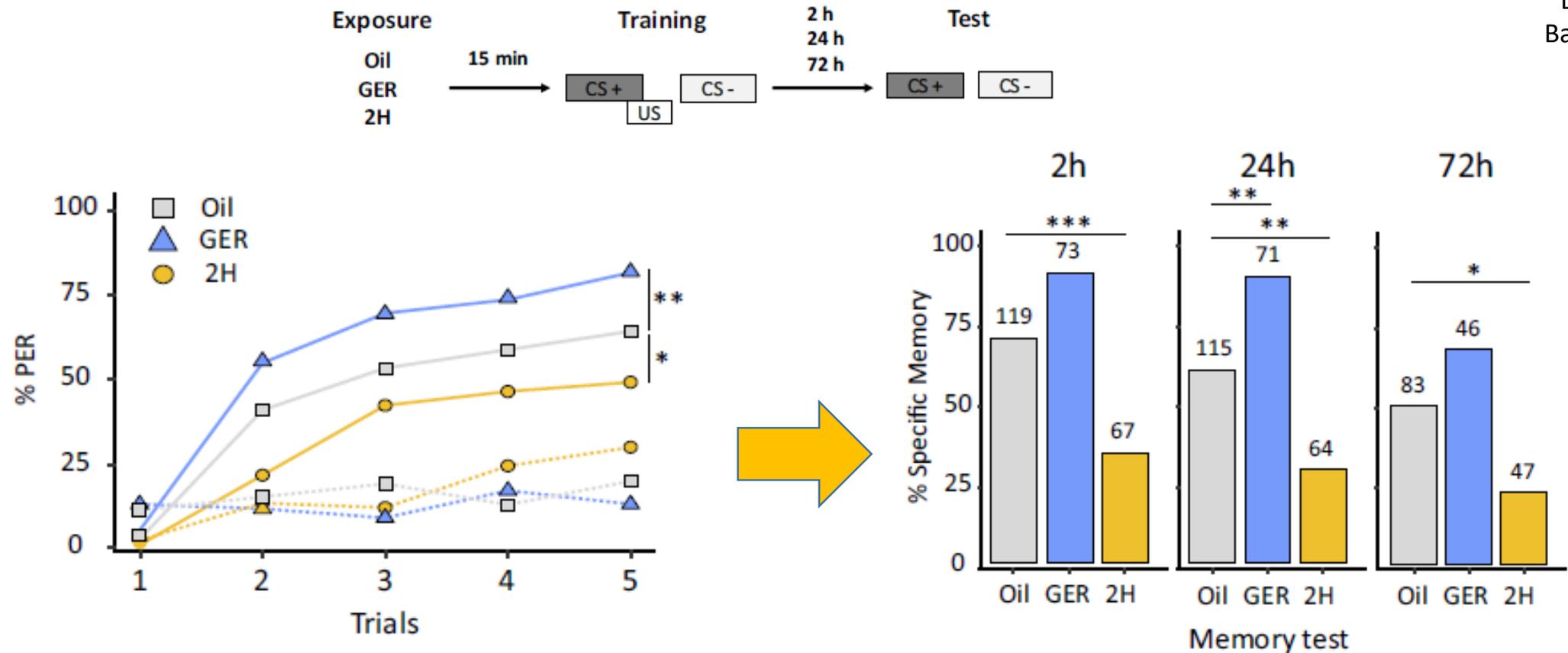
Exposition aux phéromones (GER, 2H) avant le conditionnement: Effet sur l'apprentissage et sur la formation de la mémoire ?

Tests de mémoire effectués 2h, 24h et 72h après la fin du conditionnement

Les phéromones affectent l'apprentissage d'odeurs non phéromonales et la formation de la mémoire



David Baracchi



- Abeilles pré-exposées à la **phéromone appetitive GER** ont amélioré leur apprentissage appétitif & leur mémoire.
- Abeilles pré-exposées à la **phéromone aversive 2H** ont montré des déficits d'apprentissage et de mémoire

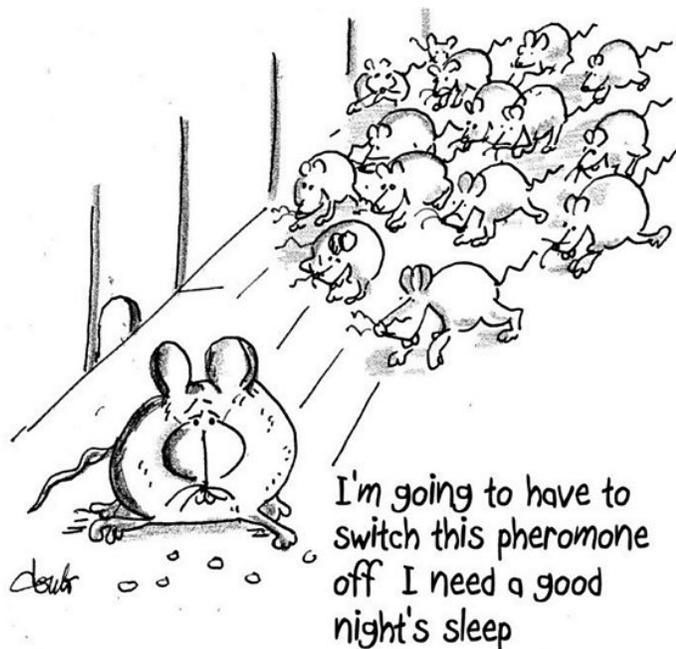
Les phéromones modulent l'apprentissage olfactif appétitif et la mémoire à plus long terme que leur perception immédiate

- En fonction de leur valence (appétitive/aversive), les phéromones augmentent ou diminuent l'apprentissage et la mémoire appétitive. Le type de message « prépare » les abeilles à un apprentissage approprié et plus efficace.
- Les abeilles butineuses exposées au GER, composante principale de la phéromone de Nasonov, apprendront plus efficacement les caractéristiques du site marqué par des phéromones.
- Au contraire, les abeilles butineuses exposées à 2H, qui signale des événements aversifs, ne seront pas prédisposées à en apprendre davantage sur les signaux alimentaires, mais plutôt à éviter ou à réagir de manière défensive à ces signaux.
- L'exposition aux phéromones améliore les réponses comportementales, même lorsque les phéromones perçues ne sont plus présentes.

Ce « rôle cognitif » est-il une spécificité des phéromones d'insectes ?



- Chez la souris, l'attraction innée des femelles est provoquée par la phéromone non volatile **Darcin** présente dans l'urine des mâles (nommée d'après Darcy, le héros séduisant du roman de Jane Austen « Orgueil et Préjugés »).



Article

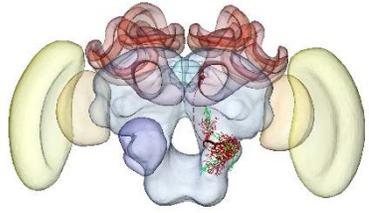
The pheromone darcin drives a circuit for innate and reinforced behaviours

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-1967-8>

Ebru Demir^{1,2}, Kenneth Li¹, Natasha Bobrowski-Khoury^{1,2}, Joshua I. Sanders^{2,3}, Robert J. Beynon⁴, Jane L. Hurst⁵, Adam Kepecs^{2,6,7*} & Richard Axel^{1,8*}

Received: 16 July 2018

- L'exposition à Darcin améliore l'apprentissage spatial des femelles dans un contexte de reproduction.
- L'activation des neurones sensibles à Darcin prépare les femelles à répondre de façon plus adaptée dans un contexte de rencontres avec un partenaire dans différentes circonstances environnementales.



Conclusions générales



- ❑ Les insectes sont à l'origine de la découverte et de la définition même du concept de phéromone.
- ❑ Les phéromones, présentes chez la plupart des espèces animales, sont **Un canal de communication privilégié permettant la transmission de messages de contenu différent entre les membres d'une même espèce.**
- ❑ Les phéromones sont un véritable **pilier de la socialité** chez les abeilles.
- ❑ Les phéromones sont produites par les différents membres de la société : reine, couvain, ouvrières (gardiennes, butineuses, etc.). Elles ont de multiples effets, assurant le bon fonctionnement de la société.
- ❑ Les phéromones ne sont pas exclusivement des agents de communication mais aussi des **agents cognitifs** fondamentaux, en raison de leur capacité à moduler l'apprentissage et la mémoire. Elles « préparent » les abeilles à apprendre et à mémoriser de manière appropriée et persistante des situations en accord avec le message phéromonal précédemment perçu.

Merci à:



Prof. David Baracchi



Prof. Patrizia d'Ettore



Dr. Natacha Rossi



Dr. Amelie Cabirol

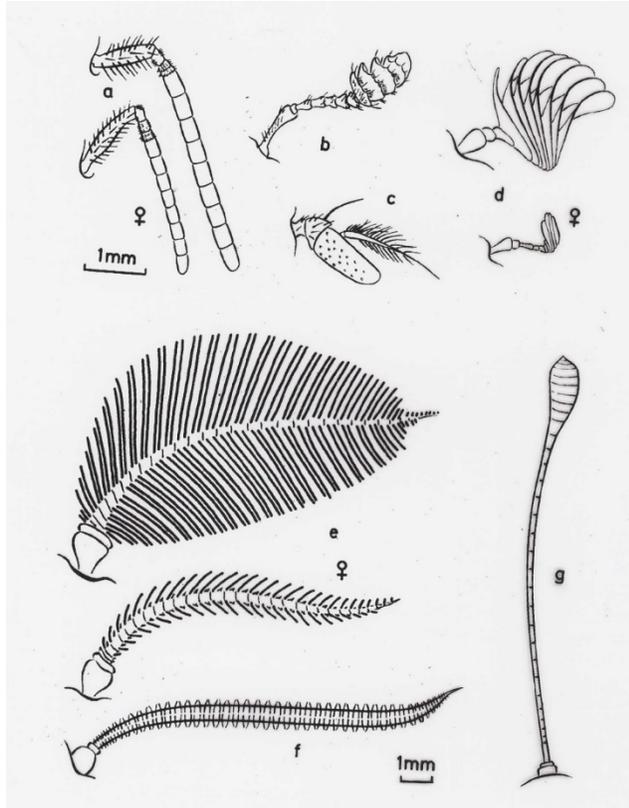
L'équipe à Paris...



European
Research
Council



Pheromone detection by insects: where is their "nose"?

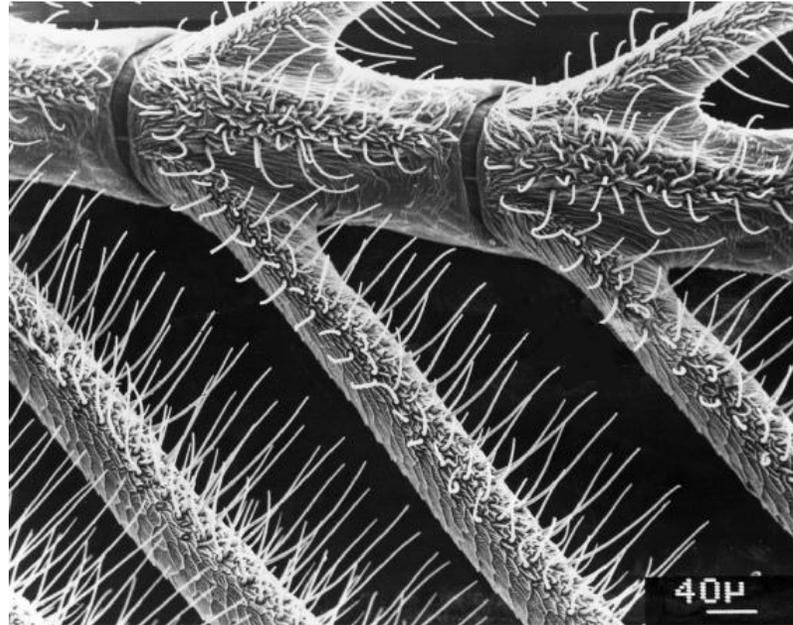


- The antennae are the primary organ of olfactory detection of insects.
- As in our nose, olfactory receptors are housed in specialized structures (sensilla) on the antennae.



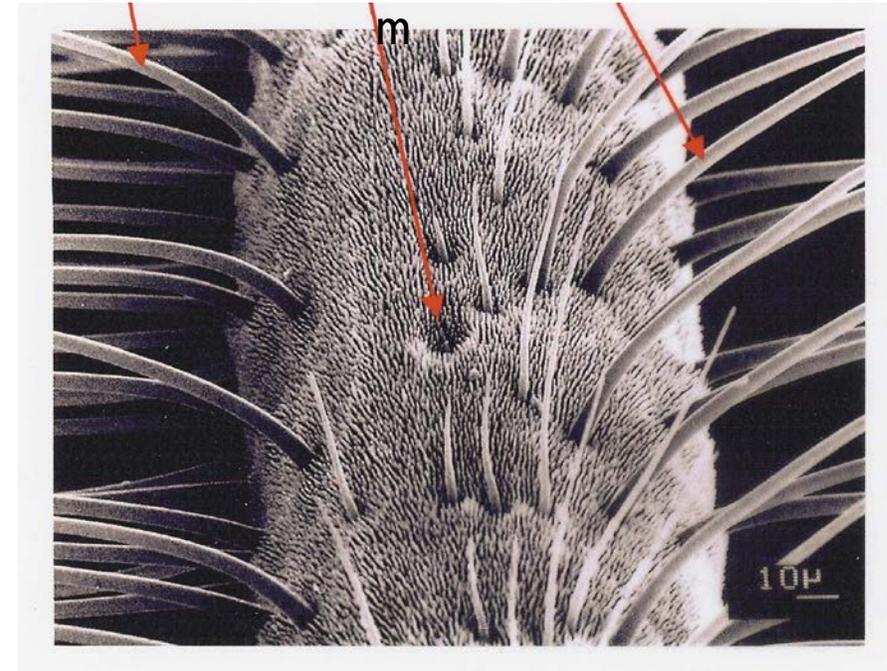


Detail of an antennal branch of *Bombyx mori*



Surface of the antenna covered by sensory hairs called "**sensilla**"

Sensillum
trichodeum Sensillum
coeloconicum Sensillum
trichodeum



Olfactory receptors are hosted in the sensillae trichodea, the long hairs on the surface of the antenna