

LES SECRETIONS DE LA GLANDE DE KOSCHEWNIKOW : NATURE ET FONCTION  
CHEZ L'OUVRIERE D'ABEILLE (*APIS MELLIFERA L.*) HYMENOPTERE.

D. GRANDPERRIN, B. MAUCHAMP, M. SAINT-JAMES

ERA 620, Cytophysiology des Arthropodes, 105, bd. Raspail.  
75006 Paris, Division de Phytopharmacie, INRA. Versailles,  
et SEITA. Paris.

INTRODUCTION

Des perturbations (intrusion d'un ennemi, excitation d'une gardienne) survenant aux abords immédiats d'une ruche occupée par une société d'abeilles provoquent chez les gardiennes une réaction d'alarme (MASCHWITZ, 1963, 1964). Au cours de la réaction d'alarme, l'abeille perturbée effectue une course rapide vers l'intérieur de la ruche en battant des ailes ; son abdomen est dressé verticalement, la chambre du dard ouverte, elle expose la membrane poilue du dard et laisse poindre l'aiguillon.

La réaction d'alarme déclenche une sortie d'ouvrières qui courent de manière désordonnée sur la planche d'envol, prêtes à attaquer un éventuel agresseur. Ce comportement est attribué à une phéromone d'alarme (FREE, 1961 ; MASCHWITZ, 1964) dont le composant principal serait l'acétate d'iso-amyl, identifié par BOCH, SHEARER et STONE (1962). Cependant, malgré son caractère attractif, son pouvoir alarmant se révèle inférieur à celui d'extraits de dards (BOCH, SHEARER et PETRASOVITS, 1970), ce qui suggère la présence d'autres composés dans la phéromone d'alarme naturelle.

Effectivement, BLUM *et al.* (1978) identifient au niveau du dard une dizaine de substances chimiques volatives pouvant également faire partie de la phéromone d'alarme. Sa véritable composition est imparfaitement définie, de même que son origine.

Chez l'ouvrière d'abeille, l'appareil vulnérant comporte plusieurs formations susceptibles de participer à l'élaboration de ces composés : glandes de la gaine du dard, glande à venin, glande de Dufour, et glande de Koschewnikow. Selon MASCHWITZ (1964), la membrane poilue enveloppant la base de l'aiguillon serait le lieu d'émission de la substance d'alarme mais aucune des glandes précitées n'a été reconnue comme responsable de sa production. Pour GHENT et GARY (1962), elle serait élaborée par les glandes de Koschewnikow dont les sécrétions s'écouleraient jusqu'à la membrane poilue assurant leur rétention (voir figure 1).

La chromatographie en phase gazeuse et spectroscopie de masse sont adoptées ici pour rechercher les éléments volatiles présents sur la membrane poilue et éventuellement les détecter dans les glandes de Koschewnikow.

A. - ANALYSE CHIMIQUE DE LA SUBSTANCE D'ALARME

1/ Recherche des composés volatiles de la membrane poilue

a) Matériel et Méthode

Les membranes poilues sont prélevées sur des ouvrières d'*Apis mellifera ligustica* d'âge indéterminé tuées par un court séjour au froid (- 14°C). Des échantillons comprenant 50 membranes poilues dans 50 ul d'hexane sont conservés en capsules hermétiques au réfrigérateur. Ils sont analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectroscope de masse Ribermag R.10-10B. relié à un système de traitement des données. La séparation est obtenue grâce à une colonne pleine (5 % FFAP sur qcq 100.120) de 2,5 m de long ; les produits séparés sont identifiés par impact électronique et en ionisation chimique (NH<sub>3</sub>).

b) Résultats

Les chromatogrammes (voir fig. 2) obtenus montrent une quarantaine de pics de taille très variable. L'analyse en spectroscopie de masse a permis d'identifier les substances correspondant à certains pics tels que l'isoamyl acétate (fig. 3 et 4), isoamyl alcool, 2 nonanol, benzyl acétate déjà cités par BLUM et al. (1978). Certains n'ont pu être identifiés.

2/ Origine des composés volatiles de la membrane poilue

a) Matériel et Méthode

Un nombre réduit d'insectes est utilisé en introduisant quelques glandes au niveau de l'injecteur (technique d'injection directe). Les pièces disséquées sont conservées en micro-capsules de verre scellées, conservées au réfrigérateur ; elles sont brisées en tête de colonne et balayées par le gaz vecteur (N<sub>2</sub>).

Les produits séparés par chromatographie en phase gazeuse sont déterminés par leur temps de rétention comparé à celui de standard et grâce à leur spectre de masse.

b) Résultats

Certains des composés identifiés précédemment sur des membranes poilues (isoamyl acétate, isoamyl alcool, 2 nonanol, benzyl acétate) sont présents dans les glandes de Koschewnikow (fig. 5) mais à des concentrations très différentes puisque les chromatogrammes 5.b et 5.c correspondent respectivement à une membrane poilue et 20 glandes de Koschewnikow.

B. - ESSAI BIOLOGIQUE D'UN MELANGE DE SYNTHÈSE

1/ Elaboration du mélange

Les 4 substances citées plus haut ont été diluées dans 1 litre d'hexane dans des proportions telles que 2 µl du mélange obtenu correspondent à 1 dard d'ouvrière (ouvrière vivant à l'intérieur de la ruche). Un tel dard contient 1 µg d'acétate d'isoamyl (BOCH et SHEARER, 1966). La méthode de détection utilisée précédemment ne permet pas de préciser les pourcentages pondéraux relatifs de ces substances, mais BLUM *et al.* (1978) en donnent une meilleure approximation à partir d'extraits de dards entiers. En connaissant la masse et la densité des produits présents, le volume à diluer peut être facilement calculé (voir tableau 1).

2/ Essai biologique en conditions naturelles

a) Principe

Ces tests ont pour but de comparer les effets recruteurs du mélange et de l'acétate d'isoamyl seul à l'entrée de ruches occupées par des colonies d'*Apis mellifera ligustica*.

b) Matériel et Méthode

Les essais ont porté sur dix ruches faiblement agressives et de même importance numérique. Ils se sont déroulés en matinée (7 h. à 9 h.) période où l'activité est faible.

Deux supports (papier filtre blanc de 4,5 cm de diamètre fiché sur une punaise métallique) sont déposés côte à côte sur la planche d'envol d'une colonie. Simultanément un de ces supports reçoit 2 µl de "mélange" alors que l'autre reçoit 2 µl d'acétate d'isoamyl.

Les ouvrières venant sur chaque papier pendant la minute qui suit sont dénombrées ; il n'est pas tenu compte des butineuses de retour à la ruche.

Pour éviter une interférence des odeurs développées par les différentes substances volatiles, une cloison verticale divise la planche de vol par son milieu et sépare les deux supports. Pour plus de rigueur, un second essai est réalisé en inversant les positions : deux mesures sont donc réalisées sur chaque ruche.

c) Résultats (voir tableau 2) :

Sur les 323 ouvrières attirées par les substances volatiles, 197 (61 %) ont été recrutées par le "mélange", 126 (39 %) par l'acétate d'isoamyl.

### C. - DISCUSSION ET CONCLUSION

---

Les chromatogrammes obtenus avec la membrane poilue et les glandes de Koschewnikow y révèlent la présence commune de nombreux produits dont l'acétate d'isoamyl composant actif et abondant de la phéromone du dard d'ouvrière (BOCH, SHEARER et STONE, 1962). D'autre part, certaines des substances identifiées par BLUM *et al.*, (1978) et des composés volatiles inconnus sont retrouvés au niveau de ces deux formations. Ces résultats confirment l'hypothèse de GHENT et GARY (1962) sur l'origine de la phéromone d'alarme et précisent le rôle des deux formations étudiées :

- élaboration au niveau des glandes de Koschewnikow : elles produisent des sécrétions riches en composés volatiles tels que des alcools (alcool isoamylique, nonanol) et des esters (acétate d'isoamyl, benzyl acétate) mais ce ne sont pas les seuls et beaucoup restent à déterminer ;

- rétention de ces composés volatiles sur la membrane poilue et émission au cours de la réaction d'alarme.

La phéromone d'alarme apparaît donc constituée d'un mélange de produits volatiles comme le montrent les tests biologiques mais le nombre total des composants, leur nature, leur proportion restent à déterminer avec plus de précision.

### BIBLIOGRAPHIE

---

- BLUM M.S., FALES H.M., TUCKER K.W., COLLINS A.M., 1978. - Chemistry of the sting apparatus of the worker honeybee. *J. Apicultural Res.* 17 : 218-221.
- BOCH R., SHEARER D., 1966. - Iso pentyl acetate in stings of honeybee of different ages. *J. Apicultural Res.* 5 : 65-70.
- BOCH R., SHEARER D., PETRASOVITS A., 1970. - Efficacies of two alarm substances of the honeybee. *J. Ins. Physiol.* 16 : 17-24.
- BOCH R., SHEARER D., STONE B.C., 1962. - Identification of isoamyl acetate as an active component in the sting pheromones of the honeybee. *Nature, Lond.* 195 : 1018-1020.
- FREE J.B., 1961. - Stimuli releasing the stinging response in honeybees. *Animal behaviour* 9 : 193-196.
- GHENT R.L., GARY N.E., 1962. - A chemical alarm releaser in honeybee stings (*Apis mellifera* L.). *Psyche* 69 : 1-6.
- MASCHWITZ U.W., 1964. - Alarm substances and alarming process for danger in social hymenoptera. *Z. Vergl. Physiol.* 47 : 586-655.

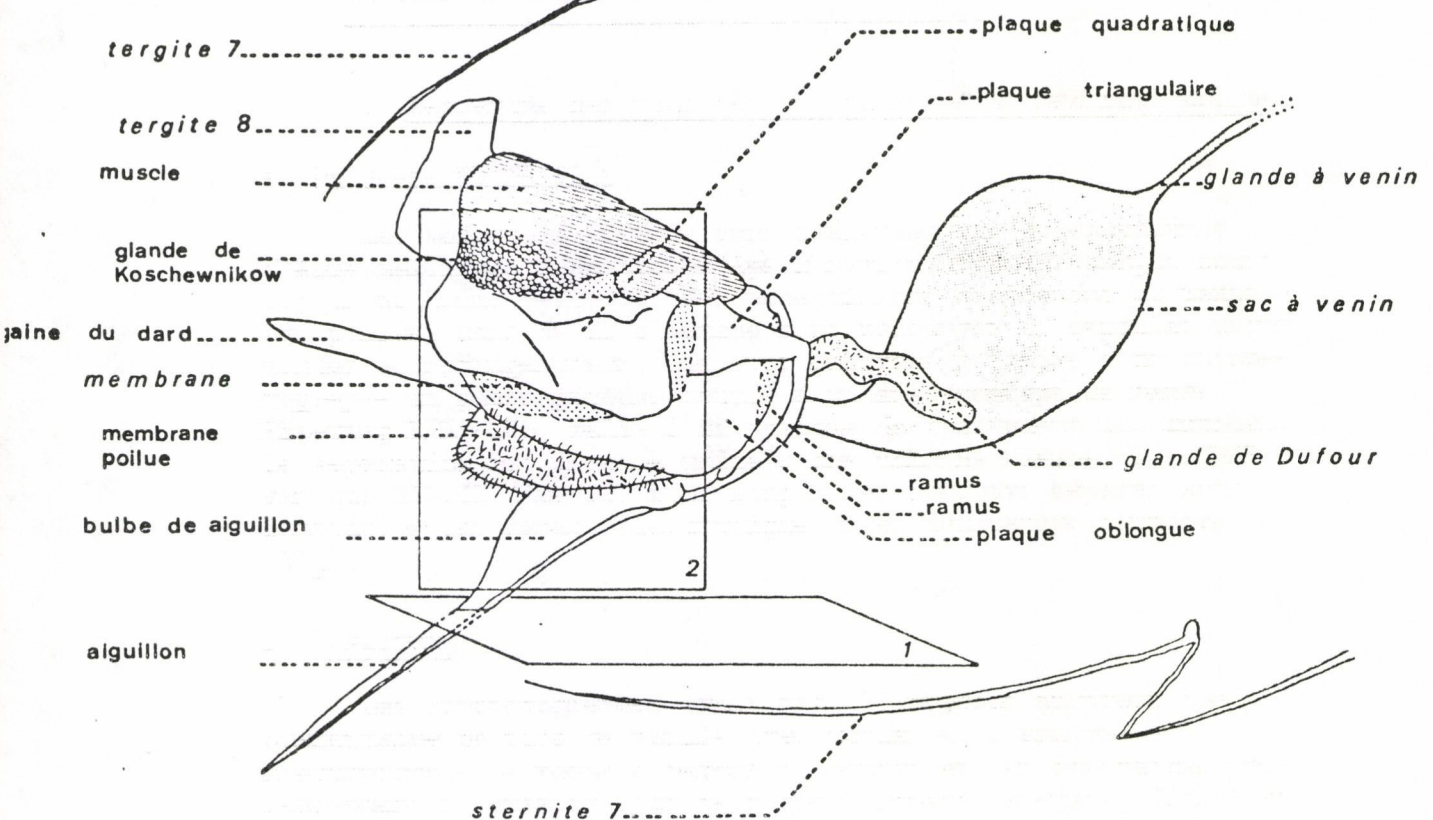


figure 1 : Schéma d'un dard d'abeille ouvrière en vue latérale droite (d'après Snodgrass, 1956).

STORP #  
 FICHER: ABE3 .DA TABLE D'ACQUISITION: ABE DATE: 4/8/1981

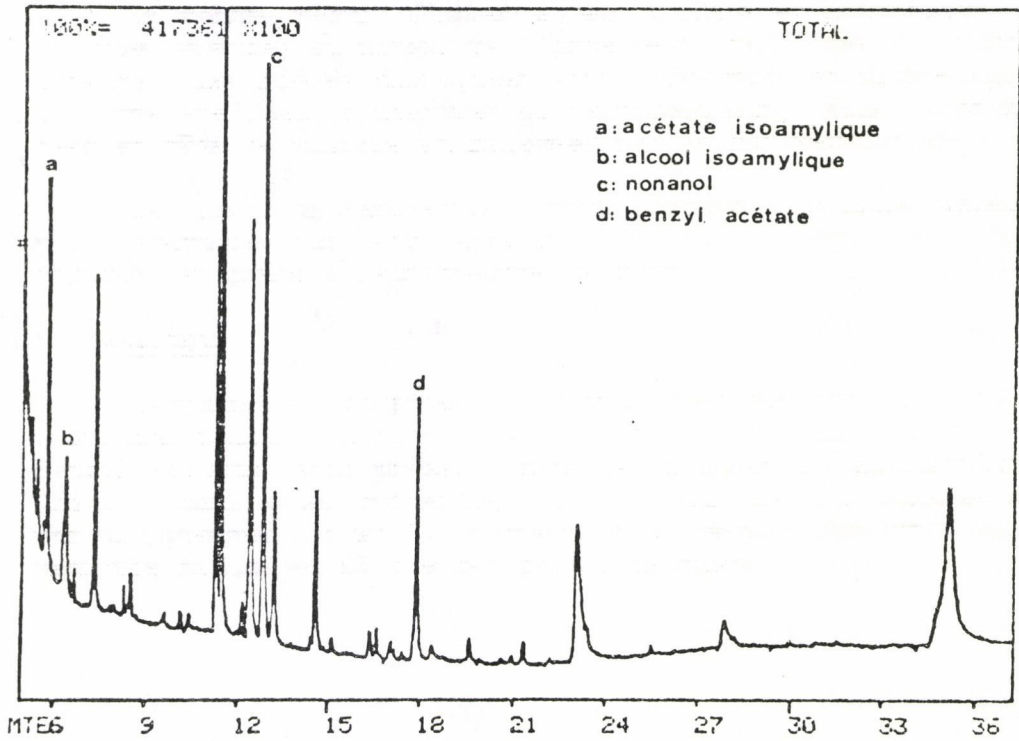
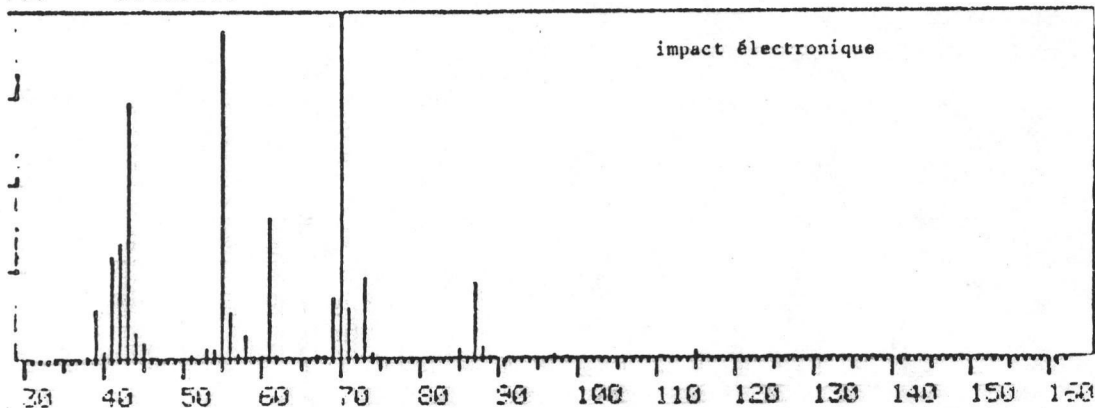


figure 2 : Chromatogramme obtenu avec des extraits de membranes poilues dans l'hexane.  
 (Colonne FFAP 5% sur QCQ 100-120 de 2.5 m).



NOM DU FICHIER: ABE3 SPECTRE: 48 FOND: 41 DATE 4 / 8 / 1981

2047 CORRESPONDANCES EN PRERECHERCHE.

ISO-AMYL ACETATE 130 C7.H14.O2  
NUM 13103 DI= .254

ISO-AMYL ACETATE 130 C7.H14.O2  
NUM 21267 DI= .254

ISOAMYL-ACETATE 130 C7.H14.O2  
NUM 1774 DI= .259

N-AMYL-ACETATE 130 C7.H14.O2  
NUM 1775 DI= .314

2-PENTYL ACETATE 130 C7.H14.O2  
NUM 1205 DI= .469

1-CHLORO-3-METHYLBUTANE 106 C5.H11.CL  
NUM 14863 DI= .485

E-3-ACETOXY-THIOACRYLIC ACID DIMETHYLAMIDE 173 C7.H11.N.O2.S  
NUM 15934 DI= .500

3-METHYL-2-BUTYL ACETATE 130 C7.H14.O2  
NUM 1204 DI= .505

figure 3 : Spectre de masse de l'acétate d'isoamyl et noms des substances correspondantes après recherche par le système de traitement des données.

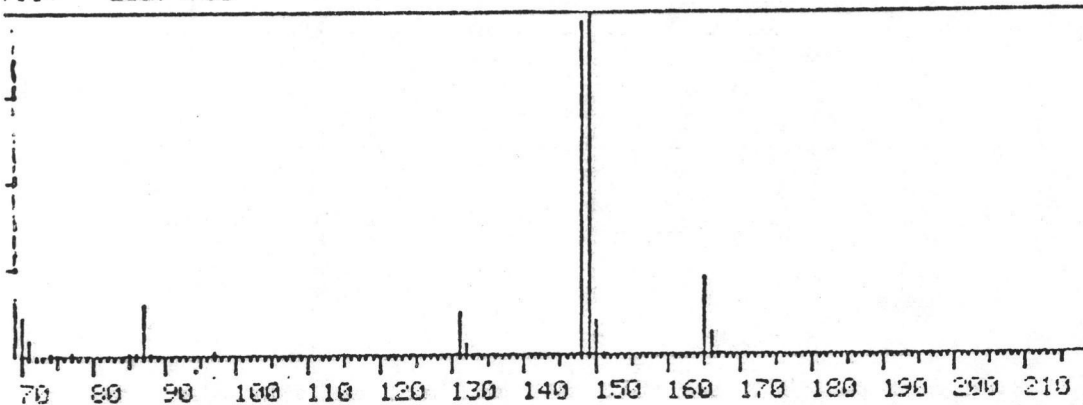
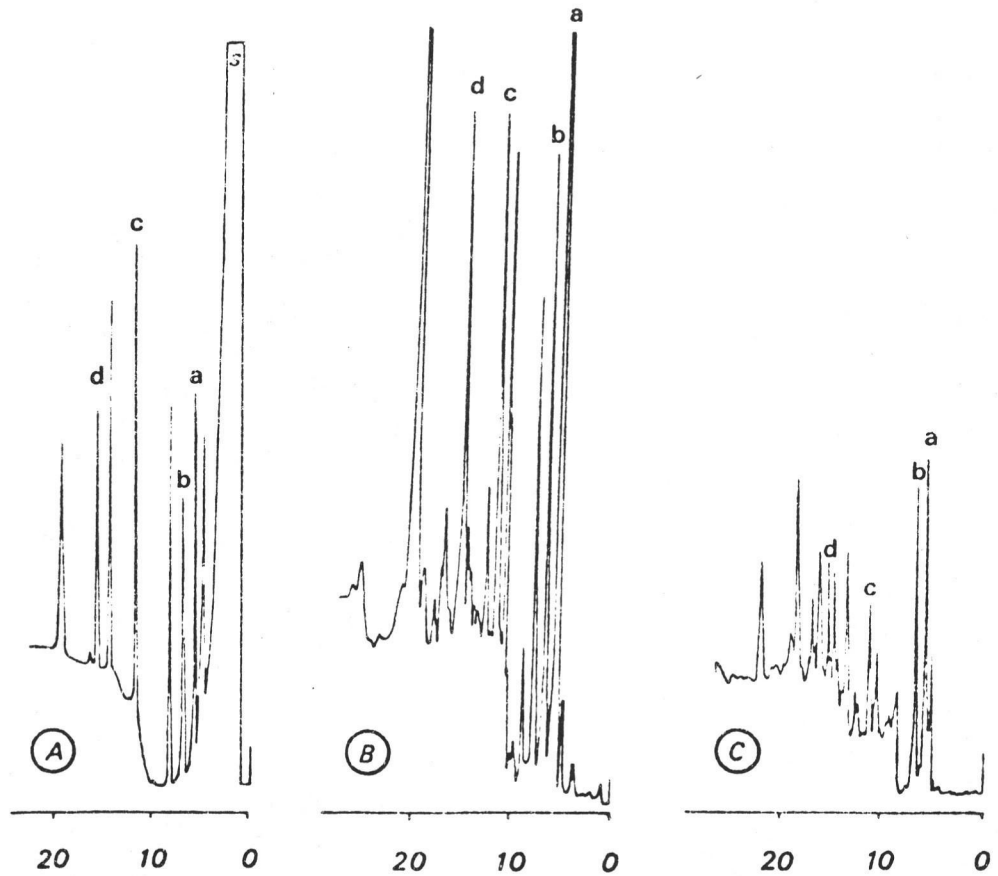


figure 4 : Spectre de masse de l'acétate d'isoamyl obtenu par ionisation chimique.

Figure 5 : Chromatogrammes obtenus avec des standards en solutions dans l'hexane (A) une membrane polluee (B) 20 glandes de Koschewnikow (C).

a: acétate isoamylique -73 -  
 b: alcool isoamylique  
 c: nonanol  
 d: benzyl acétate



	isoamyl acetate	isoamyl alcool	2 nonanol	Benzylacetate
pourcentage pondéral moyen	27%	12%	9%	13%
poids à diluer dans 1 litre d'hexane	500 mg	222 mg	166 mg	240 mg
densité	0,87	0,83	0,82	1,06
volume à diluer dans 1 litre d'hexane	574 µl	267 µl	203 µl	226 µl

Tableau 1 : Composition du mélange de synthèse

Colonie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total
acétate d'isoamyl	6	14	7	6	58	22	3	1	2	7	126
"mélange"	21	26	14	10	66	35	7	2	7	9	197

Tableau 2 : Nombre d'abeilles recrutées pendant 1 minute par les substances volatiles