

DISTRIBUTION ET ACTIVITÉS DES ALCALOÏDES DÉFENSIFS DES COCCINELLIDAE

J. M. PASTEELS, C. DEROE, B. TURSCH, J. C. BRAEKMAN*
D. DALOZE, et C. HOOTELE*

Université libre de Bruxelles, Faculté des Sciences, † 50, avenue F. D. Roosevelt,
1050 Bruxelles, Belgique

(Received 26 February 1973)

Abstract—From a survey of 30 species and varieties of ladybugs the presence of alkaloids appears to be correlated with the existence of aposematic colour and not with being carnivorous or phytophagous. The alkaloids described until now all belong to the Coccinellini and are closely related, but other types of bases have been detected in some genera. The observed distributions are in agreement with the modern taxonomy of the family.

Ladybug alkaloids constitute an effective defence against ants, *Myrmica rubra*, and quails, *Coturnix coturnix*, but all the beetles containing alkaloids do not possess the same degree of protection. Individual quail react differently towards moderately protected species.

The bioassay used for the first isolation of coccinellin is described. The repulsive activities of aqueous solutions of coccinellin and convergin towards ants have been compared.

INTRODUCTION

LA PROTECTION relative des coccinelles aposématisques *vis-à-vis* des prédateurs a fait l'objet de plusieurs travaux, attribuant cette protection à des substances toxiques ou répulsives émises lors de la saignée réflexe (CUENOT, 1896; HOLLANDE, 1911; FRAZER et ROTHCHILD, 1960; HAPP et EISNER, 1961). Ce mécanisme de défense a cependant été mis en doute par certains (HEIKERTINGER, 1932).

Récemment, deux alcaloïdes, la coccinelline et la pré-coccinelline ont été isolés de *Coccinella 7-punctata* (TURSCH *et al.*, 1971a). Ces alcaloïdes sont responsables de l'amertume de cette coccinelle et sont fortement répulsifs pour des fourmis, *Myrmica rubra*. La structure de ces substances a été élucidée (TURSCH *et al.*, 1971b; KARLSSON et LOSMAN, 1972). Depuis lors, différents alcaloïdes ont été mis en évidence chez trois autres espèces aposématisques: *Hippodamia convergens* (TURSCH *et al.*, 1972b). *Adalia bipunctata* et variétés (TURSCH *et al.*, 1973) et *Propylaea 14-punctata* (TURSCH *et al.*, 1972a).

Toutes les coccinelles n'étant pas aposématisques, il importait d'étudier la généralité de la présence d'alcaloïdes chez ces insectes. Il était aussi utile d'évaluer

* Chargés de Recherches, F.N.R.S.

† Collectif de Bioécologie (J. M. P., C. D., B. T., J. C. B., D. D.), Unité de Biologie des Communautés animales (J. M. P., C. D.), Unité de Chimie bioorganique (B. T., J. C. B., D. D.); Service de Chimie organique (C. H.).

l'efficacité de la défense chimique des coccinelles. Celle-ci a été étudiée en utilisant des fourmis (*Myrmica rubra*) et des oiseaux (*Coturnix coturnix*).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Coccinelles

Les coccinelles européennes ont été récoltées en Belgique, France et Suisse et conservées dans du méthanol. *Hippodamia convergens* a été récoltée en Californie et *Cycloneda sanguinea* aux îles Galapagos. *Henosepilachma signatipennis*, récoltée en Nouvelle Guinée, nous a été aimablement envoyée par le Dr. B. P. MOORE.

Il ne paraît guère y avoir d'unanimité dans la classification supragénérique des coccinelles et aucune classification parue récemment ne traite de tous les genres que nous avons pu étudier.

Plutôt que d'essayer d'établir une classification hybride à partir de celles qui existent dans la littérature, nous les avons utilisées telles quelles en spécifiant leur origine, quitte à utiliser par moment des classifications supragénériques quelque peu différentes. C'est ainsi que pour les espèces et les genres européens, nous avons suivi la systématique de FURSCH (1967). *Cycloneda sanguinea* a été rangée dans la tribu des Synonychini, suivant en cela ARNETT (1968). Par contre pour les discussions phylogénétiques nous nous sommes référés au travail de SASAJI (1968).

Fourmis

Toutes nos expériences ont été réalisées sur les fourmis *Myrmica rubra*, maintenues en élevage suivant la technique décrite par TRICOT *et al.* (1972).

Cailles

Les cailles européennes, *Coturnix coturnix*, proviennent d'un élevage et ont été maintenues en laboratoire.

Méthode chimique

Environ 50 individus d'une même espèce sont broyés en présence de méthanol (10 ml). La suspension obtenue est filtrée sur ouate et rincée plusieurs fois par du méthanol. Le filtrat est évaporé à sec sous pression réduite et le résidu repris par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 10% (2 × 25 ml). La phase aqueuse acide est lavée par du chloroforme (2 × 25 ml), rendue basique par addition d'ammoniaque et à nouveau extraite par du chloroforme (3 × 25 ml). Ces dernières phases chloroformiques sont rassemblées, séchées et évaporées à sec sous pression réduite. Le résidu ainsi obtenu contient les substances basiques présentes dans la coccinelle.

Celles-ci sont ensuite purifiées par chromatographie sur colonne d'alumine (γ -alumine Merck) ou par chromatographie sur couche mince d'alumine (plaque d'oxyde d'aluminium Merck Type T; 20 × 20 cm; épaisseur: 1,5 mm). Les alcaloïdes homogènes en chromatographie sur couche mince d'alumine sont caractérisés par leur spectre de masse (HITACHI-PERKIN ELMER—RMU, 60) leur R_f (plaque d'oxyde d'aluminium Merck F 254 neutre (Type E) épaisseur: 0,20 mm.

Révélateur: réactif de Dragendorff préparé selon la méthode de Macheboeuf), et leur spectre IR quand les quantités le permettent (UNICAM SP 1000).

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Distribution des alcaloïdes chez les Coccinellidae

La distribution des alcaloïdes chez 30 espèces et variétés de coccinelles est résumée dans le Tableau 1, dont l'examen permet plusieurs constatations:

(1) Si la distinction entre espèces aposématiques et non-aposématiques n'est pas toujours facile à établir, surtout chez les espèces dont la coloration est variable, il semble que les espèces les mieux camouflées, aux couleurs ternes, soient dépourvues d'alcaloïdes. En effet, aucun alcaloïde n'a été mis en évidence chez *Pullus auritus* et *P. suturalis*, chez *Rhizobius litura* et chez *Aphidecta oblitterata*, toutes coccinelles aux couleurs grises, beiges ou brunes, et sans dessins très tranchés. Par contre, les coccinelles les plus aposématiques possèdent un ou plusieurs alcaloïdes.

(2) Les œufs, les larves et les adultes de *C. 7-punctata* possèdent de la coccinelline et de la pré-coccinelline (TURSCH *et al.*, 1971a). Par contre les pucerons dont se nourrissaient les larves sont dépourvus d'alcaloïdes. Ces derniers sont donc synthétisés par les coccinelles. Le Tableau 1 montre qu'il n'y a pas de relations entre le régime alimentaire des coccinelles et la synthèse d'alcaloïdes. En effet les espèces pourvues ou dépourvues d'alcaloïdes se rencontrent tant chez des coccinelles phytophages, Epilachinae, que chez des coccinelles carnivores.

(3) Les alcaloïdes dont la structure a déjà été complètement ou partiellement déterminée (coccinelline (I), précoccinelline (II), propyléine (III), hippodamine (IV), convergine (V), et adaline (VI)) proviennent tous de Coccinellini (sensu SASAJI, 1968), et sont étroitement apparentés (Fig. 1). En effet cette parenté est

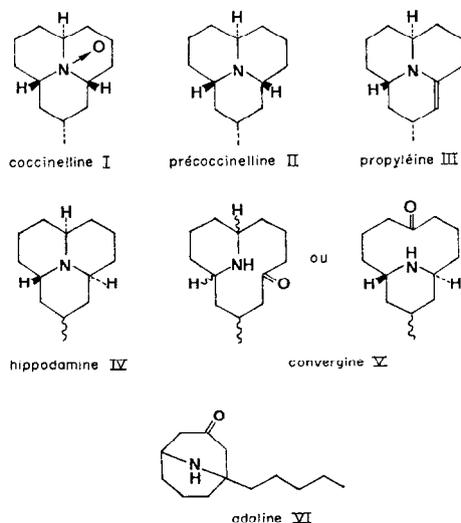


FIG. 1. Alcaloïdes de quelques coccinelles, précisées dans le Tableau 1.

TABLEAU 1.—DISTRIBUTION DES ALCALOÏDES CHEZ LES COCCINELLIDAE

	Présence d'alcaloïde	Dénomination de l'alcaloïde *	Structure	Technique d'identification			Références
				R _f †	SM (M+)	IR	
EPLACHININAE							
<i>Henosepilachna signatipennis</i>	+	HS	—	6.0† ^a	483†	+	
<i>Subcoccinella 24-punctata</i>	0	—	—	—	—	—	
COCCINELLINAE							
Coccidulini							
<i>Coccidula scutellata</i>	0	—	—	—	—	—	
<i>Coccidula rufa</i>	0	—	—	—	—	—	
<i>Rhizobius litura</i>	0	—	—	—	—	—	
Seymuni							
<i>Pullus auritus</i>	0	—	—	—	—	—	
<i>Pullus suturalis</i>	0	—	—	—	—	—	
Chilocorini							
<i>Chilocorus renipustulatus</i>	+	CR	—	5.0 ^b	191	—	
<i>Exochomus bipustulatus</i>	+	E2-P	—	7.0 ^a	209	—	
Hippodamini							
<i>Adonia variegata</i>	+	AV	—	0 ^c	280	+	
<i>Aphidecta oblitterata</i>	0	—	—	—	—	—	
<i>Hippodamia convergens</i>	+	ConverGINE + Hippodamine	V	3.0 ^b	209	+	
<i>Anisosticta 19-punctata</i>	+	Hippodamine	IV	3.1 ^a	193	+	(TURSCH <i>et al.</i> , 1972b)
<i>Semiadalia notata</i>	+	SN	IV	3.1 ^a	?	+	
			—	0 ^c	?	+	

formes de répulsion. Elles reculent généralement après avoir été en contact avec les cochenilles, mais finissent par les transporter et les rejeter loin du nid. Pendant ces opérations, les fourmis paraissent agitées, leur démarche est rapide et elles s'arrêtent fréquemment pour se nettoyer les pièces buccales et les antennes. Au bout d'une heure environ, les fourmis, moins agitées, transportent parfois quelques cochenilles à l'intérieur du nid, mais ces dernières sont ensuite rejetées du nid après un quart d'heure ou une demi-heure sans avoir été consommées. Ce comportement est très significatif car il n'a jamais été observé *vis-à-vis* d'un insecte comestible.

TABLEAU 2—COCCINELLES COMESTIBLES OU NON COMESTIBLES POUR LES FOURMIS (*M. rubra*) ET DES CAILLES (*C. coturnix*)

	Nombre testé sur les fourmis	Ramenées au nid	Rejetées hors du nid sans avoir été consommées	Nombre (sur 5) mangées par caille			Alcaloïdes
				a	b	c	
<i>Coccinella 7-punctata</i>	7	0		0	0	0	Coccinelline + précoccinelline
<i>Propylaea 14-punctata</i>	5	0		0	3	5	Propyléine
<i>Thea 22-punctata</i>	5	0		0	5	4	Théine
<i>Calvia 14-guttata</i>	5	1	1	0	5	5	C 14-G
<i>Adalia bipunctata</i>	10	5	3	0	5	5	Adaline
<i>Subcoccinella 24-punctata</i>	7	3	0	5	5	5	0
<i>Rhizobius litura</i>	11	5	0	5	5	5	0
<i>Aphidecta oblitterata</i>	5	5	0	5	5	5	0

a, b, c: réponses de trois cailles différentes.

Le Tableau 2 résume nos observations. Les fourmis ont manifesté à des degrés divers une répulsion *vis-à-vis* de toutes les cochenilles pourvues d'alcaloïdes. *Coccinella 7-punctata*, *Propylaea 14-punctata* et *Thea 22-punctata* paraissent les mieux protégées car elles n'ont jamais été transportées à l'intérieur du nid. Si *Calvia 14-guttata* et *Adalia bipunctata* sont parfois ramenées au nid, elles sont généralement rejetées ensuite sans avoir été consommées.

Parmi les cochenilles dépourvues d'alcaloïdes, *Aphidecta oblitterata* seule paraît parfaitement comestible pour *M. rubra*. Les fourmis n'ont pas toujours ramené dans leur nid les 2 autres espèces, *Rhizobius litura* et *Subcoccinella 24-punctata*, ce qui pourrait être l'indice de la présence d'autres types de substances défensives chez ces cochenilles.

(2) *Test biologique utilisé pour suivre l'isolement de la coccinelline.* Les fourmis manifestent une vive répulsion au contact d'extraits méthanoliques de cochenilles. La quantification de cette répulsion a rendu possible le premier isolement de la coccinelline (TURSCH *et al.*, 1971b).

L'extrait ou la fraction (correspondant toujours à 10 coccinelles) est déposé à la périphérie d'un disque de papier filtre de 4,5 cm de diamètre. Un papier filtre contrôle reçoit une quantité équivalente de solvant pur. Au centre des 2 papiers est placé un morceau de plastique sur lequel a été déposé une goutte d'une solution de cassonade. Après évaporation du solvant (méthanol), les papiers filtres sont disposés sur l'aire de récolte des fourmis. La proportion de fourmis se nourrissant sur le papier expérimental par rapport à l'ensemble des fourmis se nourrissant sur les 2 papiers permet de déterminer si l'extrait ou la fraction est répulsive (Fig. 3). Les papiers sont laissés sur l'aire de récolte pendant 15 min et les fourmis qui s'alimentent comptées toutes les minutes.

Nous avons pu contrôler que ces tests sont reproductibles et quantitatifs, en utilisant des quantités connues de coccinelline pure.

(3) *Mesure de l'activité répulsive de la coccinelline et de la convergine pour les fourmis.* Pour mesurer le pouvoir répulsif des alcaloïdes, nous avons utilisé un test très semblable au précédent, mais en donnant le choix aux fourmis entre de l'eau et une solution aqueuse de concentration connue en alcaloïde (Fig. 4). Le pourcentage de fourmis repoussées par la solution se calcule par la formule suivante:

$$X = 2 \left[\left(100 \frac{B}{A+B} \right) - 50 \right]$$

où X représente le pourcentage de fourmis repoussées par la solution, B le nombre de fourmis qui ont bu de l'eau pure au cours des 15 min de l'expérience, et A , le nombre de fourmis qui ont bu la solution d'alcaloïde.

Pour chaque concentration, 5 tests ont été réalisés en utilisant chaque fois un nid différent. Sur le graphique de la Fig. 5, nous reportons la moyenne de ces expériences et l'intervalle de confiance des moyennes pour un coefficient de risque de 5 pour cent.

La convergine a un pouvoir répulsif environ 1,5 fois plus grand que celui de la coccinelline. D'après le graphique de la Fig. 5, une solution $1.10^{-3}M$ de coccinelline et $7.10^{-4}M$ de convergine repousse 50% des fourmis. La concentration seuil de coccinelline active sur *M. rubra* est d'environ $5.10^{-4}M$ et celle de la convergine d'environ $2.10^{-4}M$. Les différences d'activités entre la convergine et la coccinelline, observées pour les concentrations $2.10^{-3}M$, $1.10^{-3}M$ et $5.10^{-4}M$ sont significatives respectivement aux seuils $P = 0,028$, $0,016$ et $0,004$ (test U de Mann-Whitney, in SIEGEL, 1956).

A titre de comparaison, des expériences identiques réalisées avec la benzoquinone montrent qu'une solution $1,6.10^{-3}M$ repousse 50% des fourmis, et qu'une solution $1.10^{-3}M$ n'est pratiquement plus active. La coccinelline et la convergine sont donc plus actives que la benzoquinone en solution aqueuse. ($P = 0,004$, lors de la comparaison des résultats des expériences effectuées avec des solutions de benzoquinone et de coccinelline aux concentrations $2.10^{-3}M$ et $1.10^{-3}M$.)

La coccinelline représente 1,5% du poids sec de *Coccinella 7-punctata* et sa concentration dans l'hémolymphe est de l'ordre de $3.10^{-2}M$. La présence de cet

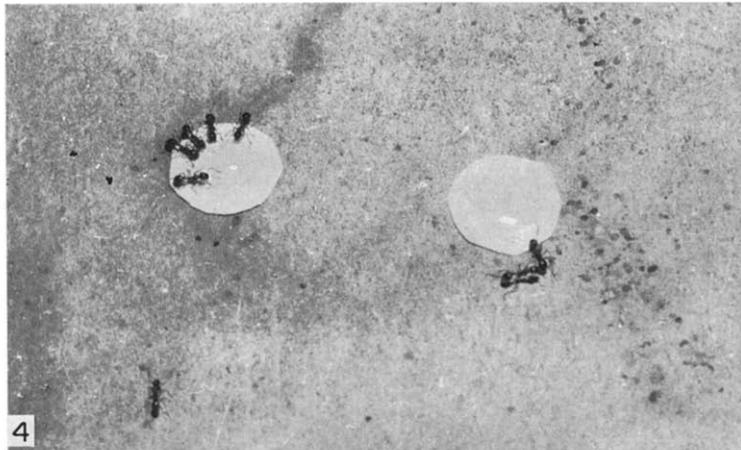
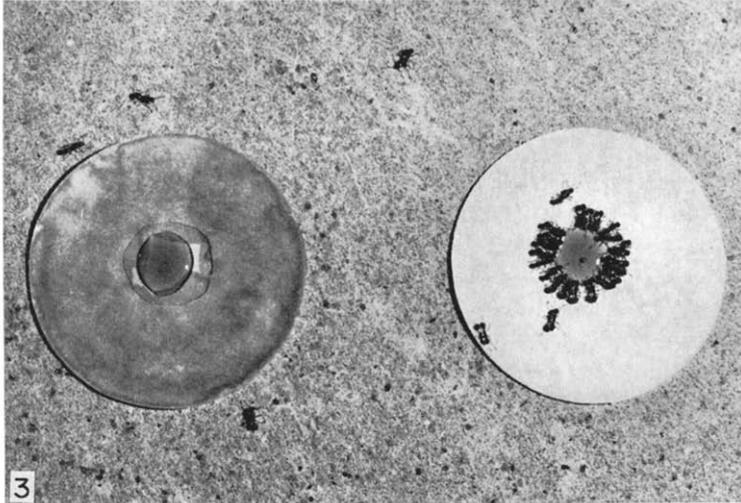


FIG. 3. Test permettant l'isolement de la coccinelle. Au centre des 2 papiers, une goutte d'une solution de cassonade est déposée sur une pastille de plastique. Le papier de gauche a été imbibé d'un extrait méthanolique total de 10 *C.7-punctata*; le papier de droite, d'une quantité équivalente de solvant pur. Le solvant est évaporé avant la présentation des papiers aux fourmis.

FIG. 4. Les fourmis boivent l'eau (à gauche), mais refusent de boire une solution 1.10^{-1} M de coccinelle.

alcaloïde permettrait donc d'expliquer à elle seule l'immunité de cette espèce vis-à-vis des fourmis.

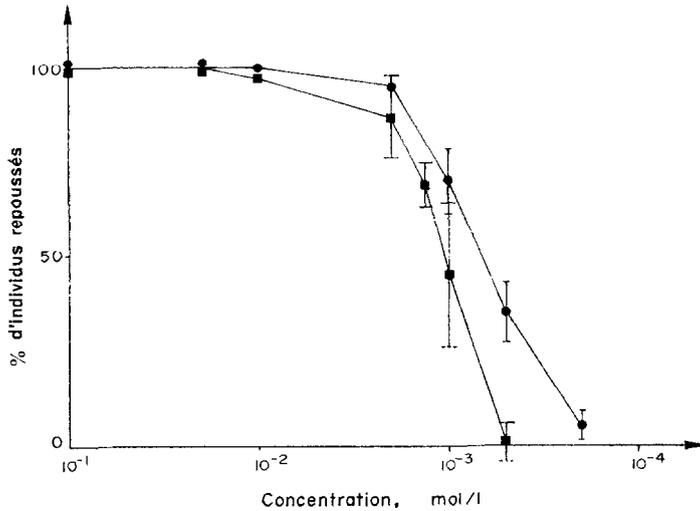


FIG. 5. Pouvoirs répulsifs sur les fourmis de solutions aqueuses de coccinelline (cercles) et de convergine (carrés) en fonction de leur concentration.,

Protection vis-à-vis des cailles

Nous n'avons pu vérifier directement l'activité répulsive des alcaloïdes vis-à-vis des vertébrés, faute de quantité suffisante de substance. Cependant nous avons pu constater que les coccinelles dépourvues d'alcaloïdes sont mieux acceptées par les cailles que les autres (Tableau 2).

Les cailles n'avalent généralement pas un insecte immédiatement, même s'il est comestible. Elles picorent d'abord, prennent l'insecte du bout du bec, puis le rejettent, recommencent ce manège 1 ou 2 fois éventuellement avant d'avalier l'insecte.

Cinq coccinelles des 8 espèces européennes reprises dans le Tableau 2 sont présentées à 3 cailles différentes. Le nombre de coccinelles avalées par chaque caille est déterminé, en vérifiant que les coccinelles refusées ne l'ont été qu'après avoir été aperçues et picorées.

Les trois espèces dépourvues d'alcaloïdes ont été acceptées par les 3 cailles. Une des cailles n'a accepté que les coccinelles dépourvues d'alcaloïde, alors que les deux autres ont avalé la plupart des coccinelles. Seule *Coccinella 7-punctata* a été refusée par toutes les cailles.

DISCUSSION

Les coccinelles sont souvent rangées parmi les insectes les mieux protégés chimiquement (FRAZER et ROTHSCHILD, 1960) bien que certains auteurs (HEIKERTINGER, 1932) aient été jusqu'à nier l'existence d'une telle défense.

Une protection chimique, due à la présence d'alcaloïdes d'un type nouveau et particuliers aux coccinelles, a pu être démontrée directement sur des fourmis.

L'activité de ces substances vis-à-vis d'oiseaux est indiquée par trois arguments indirects: (a) l'amertume prononcée de ces alcaloïdes; (b) la présence régulière d'alcaloïdes chez les espèces aposématiqués, et leur absence chez des espèces ternes; (c) le fait que seules des coccinelles dépourvues d'alcaloïdes ont toujours été acceptées par les cailles.

Les expériences réalisées sur des cailles, bien que peu nombreuses, confirment que les réactions des prédateurs au sein d'une même espèce, peuvent être hétérogènes. BROWER et BROWER (1964) avaient déjà constaté que les geais bleus (*Cyanocitta cristata bromia*) acceptent ou rejettent, suivant les individus, des papillons moyennement protégés. Les auteurs interprètent ces réactions variables comme un phénomène de seuil et suggèrent que le polymorphisme manifesté parfois chez ces papillons peut être sélectivement avantageux. Il est intéressant de noter que, parmi les coccinelles refusées par une caille mais acceptées par d'autres, *Adalia bipunctata* est une espèce très polymorphe. CREED (1971) a montré que la proportion des différentes variétés d'*A. bipunctata* peut varier en fonction des caractéristiques du milieu. Selon les circonstances, le tribut que l'espèce fournit à ses prédateurs pourrait être moins lourd si la proportion des formes aposématiqués est plus grande, ou vice versa.

Toutes les coccinelles contenant des alcaloïdes ne sont pas également protégées vis-à-vis des fourmis ou des oiseaux. Des alcaloïdes différents varient en efficacité (*vide supra*) et la teneur en un même alcaloïde varie probablement en fonction des espèces. De plus, il n'est pas exclu que la quantité d'alcaloïdes varie d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce (une variation individuelle en glycosides cardiaques a été récemment démontrée chez les papillons monarques *Danaus plexippus* par BROWER *et al.* (1972)). Une variation saisonnière pourrait également exister: la présence de coccinelline dans les œufs de *Coccinella 7-punctata* implique que, chez cette espèce au moins, la teneur en alcaloïdes est différente avant et après la ponte. La protection chimique des coccinelles n'est donc pas nécessairement totale, ni constante. Elle varie en fonction de nombreux facteurs non encore analysés, qui joints aux variations dans le comportement des prédateurs, font mieux comprendre les apparentes contradictions de la littérature à ce sujet.

La présence éventuelle d'autres substances défensives n'est pas à exclure: les fourmis manifestent de la répulsion pour certaines coccinelles dépourvues d'alcaloïdes. Les alcaloïdes sont inodores mais, d'après ROTHSCHILD (1961), l'odeur caractéristique des coccinelles contribuerait à les protéger.

Jusqu'à présent, seules les structures d'alcaloïdes de Coccinellini ont pu être établies. Une étude comparée de la structure d'alcaloïdes de lignées distinctes, telles les Epilachninae et les Chilocorinae, permettrait peut être de déterminer si la capacité de synthèse d'alcaloïdes est apparue par convergence ou s'il s'agit d'une caractéristique très ancienne de la famille, perdue secondairement

dans quelques groupes. La manière dont les coccinelles synthétisent les alcaloïdes n'est pas connue à ce jour.

Les coccinelles constituent apparemment un matériel de choix pour l'étude de l'évolution d'un mécanisme défensif en fonction des caractéristiques éthologiques et écologiques des espèces. Des recherches biologiques et chimiques en vue de préciser les divers modes de défense des Coccinelles se poursuivent dans nos laboratoires.

RÉSUMÉ

La présence d'alcaloïdes a été recherchée systématiquement chez 30 espèces et variétés de coccinelles (Tableau 1). Cette étude a montré que dans l'échantillonnage étudié:

(1) Les espèces les plus aposématiques possèdent des alcaloïdes, tandis qu'aucun alcaloïde n'a pu être décelé chez les espèces les plus ternes.

(2) Il n'y a pas de relation entre la présence ou l'absence d'alcaloïdes et le régime alimentaire -carnivore ou herbivore- des coccinelles.

(3) Il existe une gamme étendue d'alcaloïdes chez les Coccinellidae.

Ceux dont la structure a déjà été déterminée proviennent tous de Coccinellini et sont étroitement apparentés (Fig. 1). Cependant certains genres possèdent des alcaloïdes de structures différentes. Les distributions observées jusqu'à présent sont en accord avec la taxonomie moderne de la famille.

La réaction des fourmis, *M. rubra*, et des cailles, *C. coturnix*, vis-à-vis des coccinelles pourvues et dépourvues d'alcaloïdes a été observée (Tableau 2). Bien que toutes les coccinelles pourvues d'alcaloïdes ne soient pas également protégées, ces substances sont néanmoins importantes pour la défense de ces insectes. La réaction individuelle des cailles vis-à-vis des espèces moyennement protégées est variable.

Le test biologique ayant permis de suivre l'isolement de la coccinelline est décrit (Fig. 3). Les activités répulsives pour les fourmis de solution aqueuses de coccinelline et de convergine ont été comparées (Fig. 4, 5).

RÉFÉRENCES

- ARNETT R. H. (1968) *The Beetles of the United States (A Manual for Identification)*. The American Entomological Institute Press, Ann Arbor.
- BROWER L. P. and BROWER J. V. Z. (1964) Birds, butterflies, and plant poisons: a study in ecological chemistry. *Zoologica, N. Y.* **49**, 137-159.
- BROWER L. P., McEVROY P. B., WILLIAMSON K. L., and FLANNERY M. A. (1972) Variation in cardiac glycoside content of monarch butterflies from natural population in Eastern North America. *Science, Wash.* **177**, 426-428.
- CREED E. R. (1971) Industrial melanism in the two-spot ladybird and smoke abatement. *Evolution* **25**, 290-293.
- CUENOT L. (1896) Sur la saignée réflexe et les moyens de défense de quelques insectes. *Archs Zool. exp. gén.* **4**, 655-680.
- FRAZER J. F. D. and ROTHSCHILD M. (1960) Defence mechanisms in warningly coloured moths and other insects. *Proc. 11th int. Congr. Ent. Symp.* **4**, 249-256.

- FÜRSCH H. (1967) Coccinellidae. In *Die Käfer Mitteleuropas*, 7 (Ed. by FREUDE H., HARDE K. W., and LOHSE G. A.). Goece und Evers, Krefeld.
- HAPP G. M. and EISNER T. (1961) Hemorrhage in a Coccinellid beetle and its repellent effect on ants. *Science, Wash.* **134**, 329-331.
- HEIKERTINGER F. (1932) Die Coccinelliden, ihr "Ekelblut", ihre Warntracht und ihre Feinde. *Biol. Zbl.* **52**, 65-102, 385-412.
- HOLLANDE CH. (1911) L'autohémorrhée ou le rejet du sang chez les insectes (toxicologie du sang). *Archs Anat. microsc.* **13**, 171-318.
- KARLSSON R. and LOSMAN D. (1972) The crystal structure of the hemihydrochloride of coccinellin, the defensive N-oxide alkaloid of the beetle *Coccinella septempunctata*, a case of symmetrical hydrogen bonding. *Chem. commun.* 626-627.
- ROTHSCHILD M. (1961) Defensive odours and Mullerian mimicry among insects. *Trans. R. ent. Soc. Lond.* **113**, 101-121.
- SASAJI H. (1968) Phylogeny of the family Coccinellidae (Coleoptera). *Etizenia* **35**, 1-37.
- SIEGEL S. (1956) *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. McGraw-Hill, New York.
- TRICOT M. C., PASTEELS J. M., and TURSCH B. (1972) Phéromones stimulant et inhibant l'agressivité chez *Myrmica rubra*. *J. Insect Physiol.* **18**, 499-509.
- TURSCH B., DALOZE D., DUPONT M., PASTEELS J. M., and TRICOT M. C. (1971a) A defense alkaloid in a carnivorous beetle. *Experientia* **27**, 1380.
- TURSCH B., DALOZE D., DUPONT M., HOOTELE C., KAISIN M., PASTEELS J. M., and ZIMMERMANN D. (1971b) Coccinellin, the defensive alkaloid of the beetle *Coccinella septempunctata*. *Chimia* **25**, 307.
- TURSCH B., DALOZE D., and HOOTELE C. (1972a) The alkaloid of *Propylaea quatuordecimpunctata* L. (Coleoptera, Coccinellidae). *Chimia* **26**, 74.
- TURSCH B., DALOZE D., PASTEELS J. M., CRAVADOR A., BRAEKMAN J. C., HOOTELE C., and ZIMMERMANN D. (1972b) Two novel alkaloids from the American ladybug *Hippodamia convergens* (Coleoptera, Coccinellidae). *Bull. Soc. chim. Belg.* **81**, 649-650.
- TURSCH B., BRAEKMAN J. C., DALOZE D., HOOTELE C., LOSMAN D., KARLSSON R., and PASTEELS J. M. (1973) Chemical ecology of Arthropods—VI. Adaline, a novel alkaloid from *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera, Coccinellidae). *Tetrahedron Lett.* **3**, 201-202.