

## PROPRIÉTÉS PHYTOINHIBITRICES DE QUELQUES SUBSTANCES EXTRAITES DE LA COLONIE D'ABEILLES (*APIS MELLIFICA* L.)

I. — ACTION SUR LA CROISSANCE DE « *LACTUCA SATIVA* »

M. GONNET

*Station expérimentale d'Apiculture,  
Centre de Recherches agronomiques du Sud-Est, 84 - Montfavet  
Institut national de la Recherche agronomique*

---

### SOMMAIRE

L'activité phytoinhibitrice des substances extraites de la colonie d'abeilles est mise en évidence et mesurée au moyen d'une épreuve biologique. Tous les extraits se sont révélés actifs ; par ordre d'activité décroissante nous trouvons les extraits de miel, de propolis, de cire, d'abeilles, de pollen stocké et de pollen en pelotes. Des inhibitions particulièrement importantes sont provoquées par le miel et la propolis. La discussion des résultats nous conduit à supposer que l'origine des substances actives présentes dans les produits de la ruche est en grande partie végétale. Cependant, l'Abeille ajoute, dans certains cas, des substances phytoinhibitrices, par exemple lors de la récolte et du stockage du pollen.

---

### INTRODUCTION

Dès 1960, nous avons montré que certaines fractions extraites de produits de la ruche étaient inhibitrices de la germination des semences végétales (GONNET-LAVIE, 1960). Il s'agissait à cette époque d'une orientation nouvelle apportée à l'étude de ces substances. On connaissait déjà les propriétés antibactériennes de certains produits de l'Abeille, mais on savait très peu de choses de leur action phytoinhibitrice.

Ces propriétés ne constituent cependant pas un phénomène particulier. Il existe de très nombreux exemples montrant que certains extraits de substances végétales, ou animales, provoquent des phytoinhibitions. On a décelé par exemple des inhibiteurs de germination ou de croissance végétale dans les divers organes des plantes : tels les racines chez *Helianthemum*, *Aphyllanthes*, *Papaver*, *Thymus*, *Rosmarinus*, etc. (BECKER, GUYOT, 1951 ; DELEUIL, 1951) ; les feuilles, les tiges et les bourgeons chez *Xanthium*, *Centaurea*, *Allium*, *Lycopus*, *Ptelea*, *Salix*, etc. (KONIS, 1947 ; FLETCHER,

RENNEY, 1963 ; LANGE, KANZOW, 1965 ; GARESTIER *et al.*, 1966 ; KEFELI, 1966) ; les fruits et les graines enfin chez *Lycopersicum*, *Vicia*, *Oryza*, etc. (KONIS, 1940 ; PEYRONEI, 1947 ; VARGA, 1966). D'un autre côté, certains extraits de sécrétions animales sont également doués de cette activité inhibitrice ; ainsi des stérols, des terpénoïdes, des hormones et des diastases se sont révélés actifs sur les végétaux (LUSTIG et WACHTEL, 1939 ; BOITEAU et RATSIMAMANGA, 1958 ; CIZKOVA et VLRYCHOVA, 1964 ; NITSCH et NITSCH, 1965 ; MILCOU 1966 ; RATSIMAMANGA, 1966 ; MAC LAREN et BRADFUTE, 1966), la salive humaine contient un inhibiteur de germination végétale (YARDENI, 1948). Quelques auteurs enfin ont étudié l'effet inhibiteur d'antibiotiques sur la germination et la croissance des végétaux (BARTON, MAC NAB, 1954 ; DUQUESNOIS, 1955 ; BRIAN *et al.*, 1965).

Chez les Insectes certaines sécrétions ont un pouvoir phytoinhibiteur important ; citons d'après PAVAN (1958) l'action inhibitrice exercée sur *Lupinus albus* et *Allium cepa* par l'iridomyrmécine extraite de *Iridomyrmex humilis*, la cantharidine sécrétée par *Lytha vesicatoria*, la pédérine produite par *Peaderus fucipes*. Selon LEMAY (1947), le venin d'Abeille s'oppose à la germination des graines. PAVAN (1958) a isolé d'une sécrétion de l'Abeille, la gelée royale, une substance cristallisable fortement inhibitrice de la croissance de *Lupinus albus*. Nos premiers travaux (GONNET, LAVIE, 1960) furent réalisés au moyen de semences de riz (*Oryza sativa*) cultivées sur un substrat de coton hydrophile. Quelques extraits de produits de la ruche, repris en solution aqueuse, ont été apportés en irrigation aux semences. Il s'agissait d'extrait de propolis, de pollen, de miel, de cire, de gelée royale et d'abeilles entières. La propolis et le miel ont provoqué une inhibition totale de la germination du riz. Les autres extraits testés ont occasionné un ralentissement de la croissance des plantules comparés aux témoins irrigués à l'eau. DEREVICI *et al.* (1964) ont noté une inhibition de la germination de *Canabis sativa* lorsque dans la composition des substrats de culture utilisés entrent des extraits alcooliques de propolis. Ces auteurs insistent particulièrement sur le pouvoir inhibiteur plus ou moins important des diverses « qualités » de propolis qu'ils ont utilisées. Dans un travail plus récent (GONNET, 1966), nous nous sommes intéressé plus particulièrement à l'action de la propolis. Nous l'avons étudiée au moyen de semences de laitue (*Lactuca sativa*). L'inhibition se manifeste, selon les concentrations étudiées, par un ralentissement ou un arrêt de la croissance chez les jeunes plantules. Ce dernier travail nous a montré qu'il s'agit bien en fait d'une inhibition de croissance végétale et non pas d'une inhibition de germination *sensu stricto* comme le pensaient les auteurs précédents.

A la suite de ces essais préliminaires nous avons voulu étudier plus en détail les phénomènes de phytoinhibition provoqués par les substances présentes dans la ruche.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### A. — Nature et mode d'extraction de quelques substances extraites de la ruche

Les extraits que nous avons éprouvés ont été préparés de la manière suivante :

*Extrait aqueux de propolis* (P<sub>1</sub>). — Quatre-vingt grammes de propolis sont extraits par de l'eau distillée bouillante. L'extrait est récupéré, concentré au bain-marie et filtré. Un cm<sup>3</sup> de cet extrait contient 95 mg de matières sèches.

*Extrait alcoolique de propolis* (P<sub>2</sub>). — Quatre-vingt grammes de propolis sont extraits par l'alcool (1 heure à reflux). L'extrait est filtré une première fois à chaud, puis sur büchner une seconde fois à froid, après précipitation des cires. L'alcool est évaporé. Le résidu repris dans l'eau distillée est refroidi à 0°C, centrifugé et filtré. Un cm<sup>3</sup> du filtrat obtenu contient 50 mg de matières sèches.

*Extrait alcoolique de pollen en pelotes* (P<sub>p</sub>). — Vingt-grammes de pollen en pelotes récoltés par une colonie d'abeilles (ruche n° 225) sont broyés au mortier et extraits par l'alcool à froid. Après filtration l'alcool est évaporé. Le résidu repris par l'eau est refroidi à 0°C, centrifugé, puis filtré. Un cm<sup>3</sup> de solution active contient 118 mg de matières sèches.

*Extrait alcoolique de pollen stocké* (P<sub>s</sub>). — Vingt-grammes de pollen stocké en cellules par les abeilles de la même ruche (ruche n° 225) sont extraits et traités comme décrit ci-dessus. Un cm<sup>3</sup> d'extrait contient 148 mg de matières sèches.

*Extrait de miel* (C<sub>8</sub>). — Il s'agit de la fraction acide saponifiable d'un extrait éthéré de miel. Le mode d'obtention de cette fraction fera l'objet d'une description détaillée par ailleurs. Un cm<sup>3</sup> de solution aqueuse contient 3,3 mg de matières sèches.

*Extrait acéto-alcoolique de cire* (C). — Dix grammes de vieilles cires sont dissous dans l'acétone à chaud. L'acétone est en partie évaporée, l'extrait est repris par l'alcool, décanté et filtré. L'alcool est évaporé ; le résidu repris par l'eau est laissé à décanter au réfrigérateur (0°C) pendant 24 heures. On centrifuge et l'on filtre. Un cm<sup>3</sup> de filtrat contient 154 mg de matières sèches.

*Extrait alcoolique d'abeilles* (A). — Cinquante grammes d'abeilles prélevées dans une ruche (ruche n° 225) sont mis à macérer dans l'alcool durant 24 heures puis extraits pendant une heure à reflux. Après une première filtration sur Büchner, l'alcool du filtrat est évaporé et le résidu repris par l'eau. L'extrait déposé 24 heures au réfrigérateur est centrifugé puis filtré à nouveau. Un cm<sup>3</sup> de cette solution contient 270 mg de matières sèches.

Le pouvoir phytoinhibiteur de tous ces extraits a été essayé sur la croissance de *Lactuca sativa*. Nous avons en effet conservé le matériel et les méthodes de contrôle qui nous avaient donné satisfaction lors de nos premiers essais (GONNET, 1966).

#### B. — Épreuves biologiques sur *Lactuca sativa*

Cette méthode déjà employée dans notre travail précédent doit cependant être décrite plus en détails du fait qu'elle a reçu quelques améliorations.

Nous utilisons comme substrat de culture une gélose à 2 p. 100 (dans de l'eau distillée) ; additionnée de diverses concentrations de la solution à étudier ou d'eau pour les témoins. Ces mélanges sont immédiatement coulés en boîtes de Petri (diamètre 10 cm). La concentration d'extrait utilisée dans le substrat est exprimée en mg (matières sèches) par cm<sup>3</sup> de ce milieu. L'étude d'une concentration de cet extrait est réalisée au moyen de trois boîtes et dans chaque boîte sont semées cent graines. Ce semis est effectué d'une manière aussi homogène que possible pour faciliter les prélèvements ultérieurs. La semence utilisée est la laitue Batavia (*Blonde de Paris*). La croissance a lieu en étuve et à la température constante de 25°C ; l'humidité relative de l'enceinte est de 80 p. 100. Seize heures après le semis, les jeunes plantules sont exposées à la lumière pendant trente minutes. Cette exposition est répétée cinq fois pendant toute la durée de l'expérience (soit après 16, 24, 40, 48 et 64 heures). La source lumineuse provient d'une rampe de deux lampes fluorescentes de 40 watts chacune (Philips, blanc brillant). L'éclairement reçu au niveau de chaque boîte est de 1 500 lux.

Les lectures sont effectuées 70 heures après le semis. On prélève dans chaque boîte 20 plantules en opérant de la manière suivante ; afin d'éviter un choix préférentiel sur l'ensemble du semis, on glisse sous la boîte un disque de carton de 10 cm de diamètre. Sur ce disque sont dessinés cinq cercles de 2 cm de diamètre, équidistants les uns des autres (un cercle central et un cortège périphérique de 4 cercles). Les prélèvements de plantules s'effectuent par transparence à l'intérieur de chacun de ces cercles. Les résultats sont exprimés en longueurs d'hypocotyles et longueurs de radicules (mesurées sous une loupe binoculaire) et suivant les rapports :

$$\frac{(\text{Long. hypo.}) I^n}{(\text{Long. hypo.}) T}$$

$$\frac{(\text{Long. radi.}) I^n}{(\text{Long. radi.}) T}$$

où I<sup>n</sup> représente la dilution dans le substrat d'un extrait inhibiteur I et T le témoin.

## RÉSULTATS OBTENUS

Tous les extraits utilisés ont, à des concentrations diverses, provoqué un arrêt ou un ralentissement de la croissance végétale. C'est au niveau radiculaire que cette inhibition est la plus forte. Le schéma (fig. 1) illustre l'activité comparée de toutes ces substances. Sur les courbes (fig. 2) qui traduisent l'inactivation de la croissance radiculaire des plantules de laitue, on constate que l'extrait de miel ( $C_8$ ) possède un pouvoir phytoinhibiteur très élevé (inhibition totale avec 0,030 mg de matières sèches par  $\text{cm}^3$  de milieu de culture); vient ensuite l'extrait alcoolique de propolis ( $P_2$ ) (inhibition totale pour 1,5 à 3 mg matières sèches/ $\text{cm}^3$ ). Les autres substances ont une action plus faible (concentration comprises entre 1 et 5 mg matières sèches par  $\text{cm}^3$  de substrat de culture pour des inhibitions partielles); les extraits de pollen et notamment celui de pollen en pelotes sont très peu actifs (fig. 1 et 2).

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Toutes les substances extraites de la colonie d'abeilles possèdent, à des degrés divers, la faculté d'inhiber ou de ralentir la croissance des jeunes plantules chez la laitue. Nous signalerons tout particulièrement l'intérêt d'une fraction acide saponifiable extraite du miel qui inhibe le développement des plantules et ceci à de très faibles doses. Les extraits de propolis sont également doués d'une activité très valable. La fraction inhibitrice présente dans la propolis est plus facilement extractible par l'alcool que par l'eau. Les extraits d'abeilles et de cire ont une action assez faible. Enfin, le pollen stocké en rayons par l'insecte révèle une activité moindre, le pollen frais en pelotes étant encore moins actif.

Nous constatons donc que le pouvoir phytoinhibiteur de la fraction extraite du corps de l'abeille est faible, comparativement à l'activité des produits récoltés par l'insecte. Tout naturellement, ceci nous conduit à supposer que les substances inhibitrices de la croissance végétale présentes dans le miel et dans la propolis sont, tout au moins en grande partie, d'origine végétale. D'ailleurs des travaux complémentaires sont en cours et les résultats obtenus nous permettront bientôt de conclure à ce sujet. Mais nous pouvons affirmer néanmoins qu'une partie des substances phytoinhibitrices provenant de la ruche est d'origine animale. L'exemple des pollens notamment nous le confirme. Nous avons montré que le pollen stocké, déjà mélangé à de nombreuses sécrétions salivaires et tassé dans les cellules par l'abeille, est plus actif que le pollen en pelotes qui a subi seulement un début de transformation. Or, il convient de rappeler dans ce cas, que la récolte de ces pollens fut effectuée sur la même ruche et à la même époque. Les deux types d'échantillons recueillis étaient donc qualitativement comparables. D'autre part, MAURIZIO (1960) a constaté que certaines sécrétions salivaires de l'abeille, incorporées à du pollen frais (pollen de *Papaver betula* récolté à la main), empêchaient la germination et la croissance des tubes

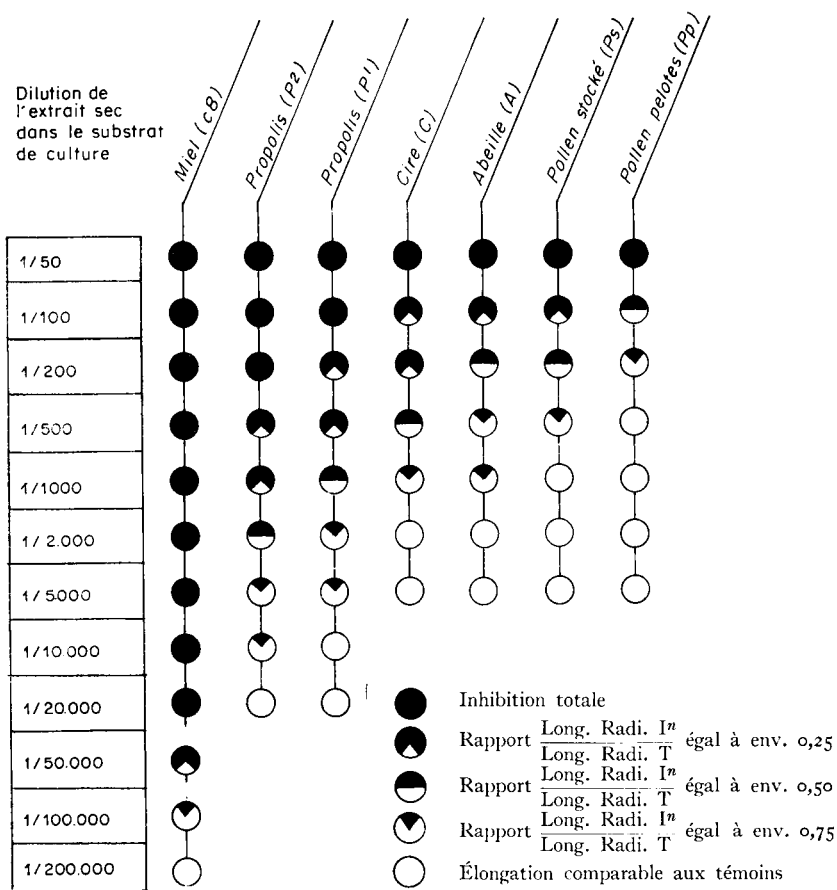


FIG. 1. — Action phytoinhibitrice de quelques substances extraites de la colonie d'abeilles sur les racines de *Lactuca sativa*

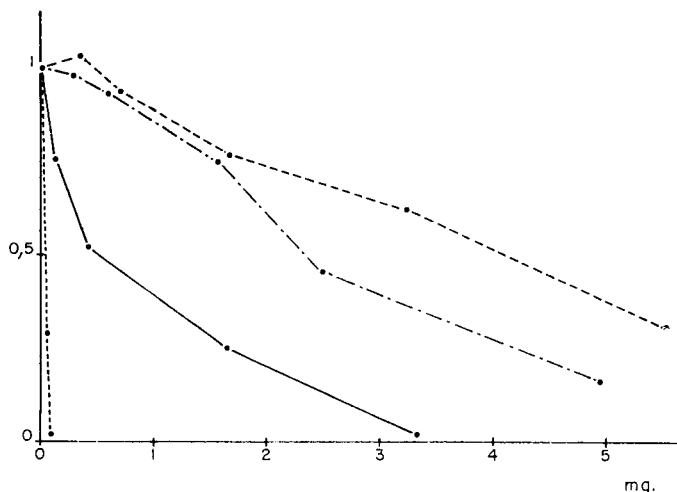


FIG. 2. — Courbes d'inactivation de la croissance radiculaire chez *Lactuca sativa* provoquée par quelques extraits de produits de la ruche mélangés aux substrats de culture

- en ordonnée le rapport  $\frac{\text{Long. Radi. } I^n}{\text{Long. Radi. } T}$   
 — en abscisse la quantité (en mg) d'extraits sec par cm<sup>3</sup> de substrat de culture
- ..... Extrait de miel (C<sub>8</sub>)  
 ——— Extrait de propolis (P<sub>2</sub>)  
 ······ Extrait de pollen stocké (P<sub>s</sub>)  
 - - - - - Extrait de pollen en pelotes (P<sub>p</sub>)

polliniques. Des extraits alcooliques d'abeilles entières lui ont donné le même résultat. *Ainsi la double origine et la pluralité des substances à caractère phytoinhibiteur semble évidente dans les produits de la colonie d'abeilles.* Ce phénomène n'a d'ailleurs rien de surprenant puisque, nous l'avons vu, les animaux comme les végétaux peuvent accumuler dans certains de leurs tissus des substances actives sur la croissance des plantes.

Enfin, cette étude complète nos connaissances sur les nombreuses propriétés biologiques des produits de la ruche; elle constitue également une suite logique des travaux développés par LAVIE (1960) et consacrés aux substances antibiotiques extraites des produits de l'abeille.

*Reçu pour publication en septembre 1968.*

## SUMMARY

THE PLANT-GROWTH INHIBITING POWER OF SOME SUBSTANCES  
EXTRACTED FROM THE BEE-COLONY (« APIS MELLIFICA L. »).

I. — EFFECTS ON THE GROWTH OF « LACTUCA SATIVA »

The inhibitory effects of substances extracted from the bee-colony were revealed and measured by means of a biological test. All the extracts appeared to be active. These effects gradually decrease from honey-extracts, over to propolis, wax, stored bee-bread and finally pollen-balls. Particularly strong inhibitions were called forth by honey and propolis. The discussion of the results has lead us to presume that the active substances existing in the products of the bee-hive mostly originate in plants. However, in some cases, bees add plantgrowth inhibiting substances, for instance during the collecting and storage of pollen.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARTON L. V., MAC NAB J., 1954. Effect of antibiotics on plant growth. *Contrib. Boyce Thomson Inst. U. S. A.*, **17**, 419-434.
- BECKER Y., GUYOT L., 1951. Sur les toxines racinaires des sols incultes. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **232**, 105-107.
- BOITEAU P., RATSIMAMANGA A. R., 1958. Effets de quelques substances triterpéniques et stéroïques sur la germination des graines et la croissance végétale. *Proc. 15th internation. Hort. Congr.*, Nice.
- BONDE E. K., 1953. Growth inhibitors and auxin in leaves of Cocklebru. *Physiol. Plant., Danem.*, **6**, 234-239.
- BRIAN P. W. et al., 1965. An inhibitor of plant growth produced by *Aspergillus wentii* WEHMER. *Nature*, **207** (5 000), 998-999.
- CIZKOVA J., VLRYCHOVA M., RUZICKA V., 1964. Influence of serum of children and adolescent on the growth of plants. *Nature*, **204** (4962), 1010.
- DELEUIL G., 1951. Origine des substances toxiques du sol des associations sans thérophytes du *Rosmarino* ericon. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **232**, 2038.
- DEREVICI A., al., 1964. Recherches sur certaines propriétés biologiques de la propolis. *Ann. Abeille*, **7** (3), 191-200.
- DUQUESNOIS P., 1965. Les antibiotiques des plantes supérieures. *Bull. Soc. bot., Fr.*, **102** (7-8).
- FLETCHER R. A., RENNEY A. J., 1963. A growth inhibitor found in *Centaurea* ssp. *Canad. J. Plant. Sci.*, **43**, 4.
- GARESTIER R., RIDEAU M., CHÉNIEUX J.-C., 1966. Présence de facteurs de croissance et de facteurs d'inhibition dans les extraits foliaires de deux rutacées. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **262**, 259-262.
- GONNET M., LAVIE P., 1960. Action antigermineuse des produits de la ruche d'abeilles sur les graines et les tubercules. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **250**, 612-614.
- GONNET M., 1966. Action inhibitrice de la propolis récoltée par l'Abeille (*Apis mellifica*) sur la germination et la croissance des jeunes plantules chez la Laitue (*Lactuca sativa*). *C. R. Acad., Sci., Fr.*, **262**, 2281-2284.
- KEFELI V. I., 1965. Localisation des inhibiteurs phénoliques naturels dans les cellules foliaires du saule. *Dokl. Akad. Nauk. S. S. R.*, **170** (2), 472-475.

- KONIS E., 1940. On the action of germination inhibiting substances in the tomato fruit. *Palest. J. Bot.*, **2** (1).
- KONIS E., 1947. The inhibiting action of leaf saps on germination and growth. *Palest. J. Bot.*, **4** (2).
- LANGE O. L., KANZOW H., 1965. Wachstumshemmung an höheren Pflanzen durch abgetötete Blätter und Zwiebeln von *Allium ursinum*. *Flora, Dtsch.*, **156** (1), 94-101.
- LAVIE P., 1960. *Les substances antibactériennes dans la colonie d'abeilles* (*Apis mellifica* L.). Thèse Fac. Sci., Paris, I. N. R. A., 1-190.
- LEMAÏ P., 1947. Sur la sécrétion possible d'antibiotiques par certains insectes. *Rev. pathol. Hyg. gen.*, **373**, 589-590.
- LUSTIG B., WACHTEL R., 1939. Action d'extraits d'organes des animaux sur la germination des plantes. *C. R. Sec. Biol.*, **132**, 224-227.
- MAC LAREN A. P., BRADFUTE O. E., 1966. Inhibition of plant growth by enzymes and histones. *Physiol. Plant.*, **19** (4), 1094-1100.
- MAURIZIO A., 1958. Pollenkeimung hemmende Stoffe im Körper der Honigbiene. *17<sup>e</sup> Congr. internation. Apiculture*, Bologne Rome, **2**, 23-25.
- MILCOU S. M., 1966. Contribution de l'école roumaine d'endocrinologie à l'étude de l'action des hormones animales sur les plantes. *Rev. roumaine Biol., Bot.*, **11**, 339-343.
- NITSCH J. P., NITSCH C., 1965. Terpénoïdes naturels actifs sur la croissance végétale. *Ann. Physiol. vég.*, **7**, 259-272.
- PAVAN M., 1958. Primi dati su un fattore fitoinibitore della gelatina reale di *Apis mellifera* L. e suo isolamento allo stato cristallino. *Atti Soc., ital. Sci., nat.*, **97**, 163-166.
- PAVAN M., 1958. Biochemical aspect of insects poisons. *17<sup>e</sup> Congr. Biochem.*, **12**, 15-36.
- PEYRONNEL B., 1947. Sulla presenza nei frutti di *Vicia faba* di sostanze inibitriche delle germinazione. *Nuovo G. bot. ital.*, **54**, 772-774.
- RATSIMAMANGA R. et al., 1966. Interaction de l'acide ascorbique et de la cortisone sur la croissance des plantules d'*Ervum Lens*. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **762**, 756-758.
- VARGA M., 1966. Germination and growth inhibiting substances in rice grains. *Acta biol. Sze.* **12** (1-2) 73-79.
- YARDENI P., 1948. Human saliva as germination inhibitor. *Science, U. S. A.*, **108**, 62-63.