

LA BIOCHIMIE DES NOURRITURES LARVAIRES
DES REINES ET DES OUVRIÈRES D'ABEILLES
(*APIS MELLIFICA* L.).

REVUE DES TRAVAUX DU MAX PLANCK INSTITUT

Janine PAIN

*Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, 91 - Bures-sur-Yvette
Institut national de la Recherche agronomique*

SOMMAIRE

L'auteur présente de façon synthétique les travaux du *Max Planck Institut* consacrés aux substances actives contenues dans la nourriture distribuée aux larves d'ouvrières et de reines chez *Apis mellifica* et plus particulièrement à la Bioptérine. L'importance des différences de composition dans le déterminisme des castes est discutée.

INTRODUCTION

Bien que DIETZ ait traduit en anglais (1965) une note de REMBOLD concernant les substances actives contenues dans la gelée royale, il m'a paru important, à l'intention des lecteurs français de résumer les travaux de l'équipe allemande du *Max-Planck Institut*. Il s'agit de ceux de BUTENANDT et de ses collaborateurs publiés depuis 1957 dans la *Zeitschrift (Hoppe-Seyler's) für physiologische Chemie, Berlin*,

En comparant la composition chimique de la gelée distribuée aux larves de reines à celle de la gelée distribuée aux larves d'ouvrières, les auteurs ont cherché à donner une explication logique du déterminisme des castes.

Dans le texte qui va suivre, nous insisterons sur le côté biologique de ces recherches, sans trop nous appesantir sur le côté purement chimique du sujet duquel nous ne donnerons que l'essentiel.

Nous commencerons par rappeler la composition chimique des deux gelées en mettant en évidence les différences constatées. Ensuite, nous parlerons plus particulièrement de l'une des substances mises en évidence, la Bioptérine, de ses variations saisonnières dans les deux gelées et de son métabolisme.

Puis nous rechercherons dans quelles glandes sont formés les différents composés chimiques des gelées. Enfin nous indiquerons, toujours selon les auteurs, où se trouve le principe de la gelée royale responsable de la transformation de la jeune larve femelle en reine.

I. — RAPPEL DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE LA GELÉE ROYALE ET DE LA GELÉE D'OUVRIÈRES

I. ÉTUDE DE LA FRACTION LIPIDIQUE

Dans une première communication parue en 1957, BUTENANDT et REMBOLD analysent la composition globale des deux gelées. Puis ils étudient la fraction lipidique qu'ils obtiennent en traitant par de l'éther la matière sèche lyophilisée. De celle-ci, ils isolent à partir de la gelée royale un acide gras nouveau dont ils établissent la constitution (1). La préparation par les auteurs allemands de son ester méthylique par le diazométhane a permis de démontrer la présence du même acide dans la gelée d'ouvrières. Le tableau 1 résume l'ensemble des données.

TABLEAU I

	Gelée royale	Gelée d'ouvrières
Quantité par cellule	20 à 300 mg selon l'âge des larves	Quelques mg (environ 1,7 mg)
Teneur en eau	60 p. 100	73 p. 100
Poids sec	40 —	27 —
<i>Fraction lipidique</i>	10 —	10 —
Fraction neutre	7 —	6 —
Fraction peu acide insoluble dans CO ₂ HNa	2,5-3 —	3 —
Fraction très acide, (<i>acide gras</i>) ..	90 —	91 —
BUTENANDT, REMBOLD (1957) :	<i>Acide hydroxy-10 décène-2 oïque</i> sous forme libre CH ₂ OH-(CH ₂) ₆ -CH=CH-COOH 30 mg/g gelée fraîche	<i>Acide hydroxy-10 décène-2 oïque</i> sous forme libre 30 mg/g gelée fraîche (par méthylation)

La teneur en lipides et en acides gras contenant l'acide hydroxy-10 décène-2 oïque est identique dans les deux nourritures larvaires. Déjà, il apparaît que cet acide ne prend pas part à la différenciation des larves d'ouvrières en reines.

2. ÉTUDE DE LA FRACTION AQUEUSE

A. — Mise en évidence de ptéridines

En 1958, les mêmes auteurs étudièrent à partir des deux gelées desséchées et de leurs larves, la fraction aqueuse. Pour la recherche d'une ptéridine, la fraction aqueuse

(1) Rappelons que cet acide gras a été déjà caractérisé par TOWNSEND et LUCAS (1940) qui lui appliquèrent la formule moléculaire suivante: C₁₀H₁₈O₃.

a été préparée pour être chromatographiée sur papier. Les auteurs observèrent sur les papiers, des taches qui, en lumière ultra violette, présentent une fluorescence bleue. Les bandes de papier contenant ces taches sont découpées pour être introduites dans un milieu de culture contenant le Flagellé : *Crithidia fasciculata*. La croissance de ce Flagellé ne peut avoir lieu qu'en présence de ce composé hétérocyclique. Le tableau 2 expose une partie de ces résultats.

La Biotéridine est contenue en plus grande quantité dans la gelée royale que dans celle d'ouvrières. Elle est identique à celle décrite par d'autres auteurs dans l'urine humaine, les yeux de *Drosophila melanogaster*, les têtes d'*Ephesia kühniella*, etc. Il est possible que les ptéridines soient des agents puissants contrôlant les processus de croissance et de différenciation, d'où l'intérêt à les trouver, les isoler et les comparer dans les deux gelées d'abeilles.

C'est pourquoi REMBOLD et BUSCHMANN (1963) continuèrent à rechercher d'autres ptéridines. Bien que leurs résultats soient publiés dans deux autres revues, nous en indiquerons l'essentiel. Ainsi la Néoptéridine : (2-Amino-4-hydroxy-6-(D-erythro-1,2,3-trihydroxy-propyl)-ptéridine est également un composant caractéristique de la gelée royale, mais sa concentration est plus faible que celle de la Biotéridine. La gelée d'ouvrières en contient beaucoup moins encore. Dans les deux gelées, le rapport entre ces deux ptéridines est de 1 à 10. La Néoptéridine n'est pas une substance de croissance pour *Crithidia fasciculata*. Elle pourrait être considérée comme un élément précurseur dans la biosynthèse de la Biotéridine. Elle apparaît également chez les butineuses mais en quantité très faible.

Les mêmes auteurs (1963) ont isolé à partir de 2 000 nymphes d'abeilles, 4 ptéridines déjà signalées dans la nature : Biotéridine, Ptéridine, Isoxanthoptéridine, Ptéridine carboxylique ainsi que deux nouvelles ptéridines : la Néoptéridine citée plus haut et la Violaptéridine. Ils ont conféré alors à la Biotéridine un rôle de premier plan.

B. — Mise en évidence de vitamines hydrosolubles

Pour la recherche des vitamines hydrosolubles (LINGENS, REMBOLD, 1959) la fraction aqueuse est obtenue à partir de gelée de larves de reines de 3 jours et de 5 jours et de gelée de larves d'ouvrières de 3 jours, toutes récoltées en juin et juillet. Cette fraction est ensuite préparée en vue d'une détermination microbiologique avec le *Lactobacillus arabinosus* pour la mise en évidence de l'acide pantothénique et de la biotine, avec le *Streptococcus lactis* pour la recherche de l'acide folique, le *Lactobacillus helveticus* pour celle de la pantothéine.

Dans le tableau 3 figurent les vitamines trouvées dans les différentes nourritures larvaires avec indication de leur quantité.

Le contenu en vitamines de la nourriture de larves de reines âgées se rapproche de celui de la nourriture de larves d'ouvrières.

PEARSON et BURGIN (1941) avaient pensé que l'acide pantothénique contenu en plus grande quantité dans la gelée royale pouvait être un facteur déterminant pour le développement de la larve d'ouvrière en reine. GARDNER (1948) trouva que l'acide pantothénique augmente la durée de vie des drosophiles. Il en conclut que cet acide serait susceptible de produire le même effet chez la reine d'abeille. Bien que la quantité d'acide pantothénique enregistrée dans la gelée royale soit 4 fois supérieure à celle

TABEAU 2
Fraction aqueuse

Auteurs	Gelée de larves de reines	Larves de reines	Gelée de larves d'ouvrières de 4 jours	Gelée de larves d'ouvrières de 1 jour	Larves d'ouvrières
BUTENANDT REMBOLD, 1958	<i>Bioptérine</i> 2-Amino-4-hydroxy-6-(L-erythro-1,2-dihydroxypropyl)-ptéridine	<i>Bioptérine</i>	Pas de variations saisonnières	Pas de <i>Bioptérine</i>	Pas de <i>Bioptérine</i>
HANSER REMBOLD, 1960	300 µg/g gelée fraîche 700 µg/g gelée sèche de mai à juin	De mai à août : très peu de <i>Bioptérine</i> , sauf en juillet (faible augmentation)	Existence de <i>variations saisonnières</i> Mai : peu de <i>bioptérine</i> (environ 40 µg) Juin : augmentation	Juillet : <i>maximum</i> (plus de 200 µg)	<i>Variations saisonnières</i> larves de 1 jour : peu de <i>bioptérine</i> larves de 2 jours : <i>maximum</i> larves de + de 2 j : diminution
REMBOLD BUSCHMANN, 1963	<i>Néoptérine</i> 10 fois moins que de <i>Bioptérine</i> dans la gelée royale			10 fois moins que de <i>Bioptérine</i> dans la gelée d'ouvrières	

notée dans la gelée d'ouvrières, LINGENS et REMBOLD ne considèrent pas cette vitamine comme principe déterminant de la transformation de la larve d'ouvrière en reine. Sa teneur pourrait varier, comme celle de la biophtérine.

TABLEAU 3
Fraction aqueuse

Auteurs	Gelée de larves de reines de 3 jours	Gelée de larves de reines de 5 jours	Gelée de larves d'ouvrières de 3 jours
LINGENS, REMBOLD, 1959	<p><i>Acide pantothénique</i> (139 µg/g gelée fraîche)</p> <p>Pas de pantothéine</p> <p>Biotine (3 à 4 µg/g gelée fraîche)</p> <p><i>Acide folique</i> (0,38 µg/g gelée fraîche)</p> <p>Adénine (3,5 mg/g gelée fraîche)</p>	<p>Acide pantothénique (49 µg/g gelée fraîche)</p> <p>Biotine (3 à 4 µg/g gelée fraîche)</p> <p>Acide folique (0,17 µg/g gelée fraîche)</p>	<p>Acide pantothénique (35 µg/g gelée fraîche)</p> <p>Biotine (3 à 4 µg/g gelée fraîche)</p> <p>Acide folique (0,17 µg/g gelée fraîche)</p> <p>Adénine (3 mg/g gelée fraîche)</p>

Au sujet de l'acide folique, les auteurs se sont demandé si son action sur la croissance du *Streptococcus lactis* était conditionnée par la présence de biophtérine, mais ce composé hétérocyclique n'agit pas de façon synergique avec l'acide folique.

II. — ÉTUDE DES VARIATIONS SAISONNIÈRES DE LA BIOPTÉRINE

I. COMPARAISON DE LA TENEUR EN BIOPTÉRINE DES DIFFÉRENTES GELÉES

La recherche de la biophtérine dans la gelée royale et la gelée d'ouvrières a permis à BUTENANDT et REMBOLD de supposer que la différence quantitative observée pouvait être due à des variations saisonnières. C'est pourquoi, utilisant le même test de caractérisation avec *Crithidia*, HANSER et REMBOLD (1960) ont comparé la teneur en biophtérine de la gelée royale récoltée de mai à juin, à celle de gelées de larves d'ouvrières de 1 et de 4 jours, prélevées au cours des mois de mai à août.

a) Pour la gelée de larves d'ouvrières de 1 jour, les résultats sont les suivants :

— de fin mai à début juin, la teneur en biophtérine est faible (de 40 à 75 µg) en comparaison de celle de la gelée royale qui atteint 700 µg par gramme de substance sèche ou 300 µg par gramme de substance fraîche ; cette quantité est assez constante ;

— de la mi-juin à la fin juin, la teneur en biophtérine augmente légèrement puisqu'elle s'approche de 100 µg ;

— de la mi-juillet à la fin juillet, la teneur s'élève régulièrement car elle atteint fin juillet plus de 200 µg par gramme de substance sèche ;

— début août, la teneur diminue pour se situer près de 100 µg vers la mi-août ;

— *fin août*, la teneur en bioptérine n'est toutefois pas aussi faible que celle enregistrée en mai et juin. Elle atteint environ 150 μg .

Il se pourrait que l'augmentation de la teneur observée fin juillet soit en relation avec la préparation des abeilles à l'hivernage.

b) Pour la gelée de larves d'ouvrières de 4 jours, la quantité de bioptérine présente une valeur assez constante. Elle est très faible et présente un maximum vers la fin juillet.

Ainsi la gelée de jeunes larves d'ouvrières se différencie de celle de larves plus âgées par l'existence de variations quantitatives de son contenu en bioptérine. Les larves de 4 jours reçoivent une gelée additionnée de pollen et de nectar, éléments nutritifs qui la diluent et peuvent abaisser sa teneur en bioptérine.

2. COMPARAISON DE LA TENEUR EN BIOPTÉRINE ENTRE LES GELÉES DE LARVES D'OUVRIÈRES ET LES LARVES ELLES-MÊMES

En fonction de ces résultats, les auteurs ont étudié la teneur en bioptérine de la gelée de larves d'ouvrières d'âges différents ainsi que celle des larves elles-mêmes et des nymphes. Les mesures ont été faites au début de juin et au début d'août.

a) Pour la gelée de larves d'ouvrières d'âge croissant, les résultats sont les suivants :

le contenu en bioptérine diminue progressivement au fur et à mesure que la larve vieillit.

— *Chez des larves de 1 jour*, la gelée prélevée en début juin comme celle prélevée en début d'août contient les quantités les plus élevées de bioptérine.

— *Chez des larves de 2 et 3 jours*, les quantités s'abaissent progressivement dans les 2 cas.

— *Chez des larves de 4 jours*, la quantité de bioptérine est la plus basse. Elle est pratiquement la même pour les gelées des mois de juin et d'août.

b) Pour les larves d'ouvrières, la teneur en bioptérine présente une valeur élevée au début de leur développement avec un maximum quand elles atteignent l'âge de 2 jours sans doute parce que les larves d'ouvrières ont consommé au cours du premier jour beaucoup de gelée et que cette absorption de nourriture ne se fait sentir chez la larve que 24 heures plus tard. Ce maximum est plus élevé pour les larves d'ouvrières prélevées en août (environ 50 μg). La teneur en bioptérine de ces larves reste plus faible que celle de la gelée correspondante.

A partir du deuxième jour, le contenu en bioptérine des larves d'ouvrières diminue. Au quatrième jour, il est très faible et à peu près identique à celui trouvé dans les gelées d'ouvrières du même âge, ceci aussi bien pour le mois de juin que pour le mois d'août.

Le contenu en bioptérine des nymphes est encore plus bas que celui des larves de 4 jours. Il est le même pour le mois de juin et le mois d'août alors qu'elles ont absorbé une nourriture larvaire différente pendant ces 2 mois.

La bioptérine restante est évacuée avec les fèces avant la nymphose, à partir du cinquième stade larvaire.

Il est frappant de constater que la teneur en bioptérine des larves de 1 et de 2 jours est très importante alors que le poids du corps de larves de même âge est à ce moment-là très faible. Lorsque leur poids augmentera la teneur en bioptérine diminuera.

Les auteurs ont en même temps analysé de mai à juillet le contenu en lipides de la gelée de larves de 1 jour et montré que celui-ci reste constant et représente 10 p. 100 du poids de la gelée sèche.

III. — MÉTABOLISME DE LA BIOPTÉRINE

Poursuivant leurs travaux, les mêmes auteurs (HANSER et REMBOLD, 1960) mirent en évidence par séparation chromatographique sur papier la présence de 8 taches fluorescentes dans les extraits de larves de reines et de 4 taches dans les extraits de larves d'ouvrières. Ils se sont demandé si la présence de ces taches supplémentaires dans les larves de reines provenait de la bioptérine contenue dans la gelée royale et s'il existait des différences qualitatives et quantitatives dans le métabolisme de la bioptérine entre reines et ouvrières.

Pour cela, ils ont nourri des larves de reines de 2 jours, dans la ruche et des larves d'ouvrières de 2 jours en étuve avec de la bioptérine marquée ($2\text{-}^{14}\text{C}$). En outre, ils en décrivent la synthèse. Ils ont suivi le comportement de cette substance pendant les différents stades de développement des reines et des ouvrières. Ils notent que l'activité de 10^4 impulsions par minute correspond à une quantité de $0,18 \mu\text{g}$ de bioptérine contenue dans 10 mg de gelée d'ouvrières fraîche ou dans 0,5 mg de gelée royale.

Dans les deux cas, la radioactivité augmente rapidement, aussitôt après la prise de nourriture, mais elle diminue brutalement dès le troisième jour. Elle est éliminée en partie avec les fèces avant la nymphose. Après cette élimination, la radioactivité est faible. Elle reste au même niveau chez les reines et les ouvrières jusqu'au sixième jour et chez les reines jusqu'au stade imaginal. Par conséquent, l'utilisation quantitative de la bioptérine marquée est la même chez les reines et les ouvrières.

Pour étudier les produits de transformation de la bioptérine, les auteurs l'ont administrée marquée à des larves de reines de 2 jours. Après élimination des fèces, ils ont examiné les nymphes royales du point de vue de leur fluorescence et de leur radioactivité après chromatographie de leur extrait sur un échangeur à base de cellulose.

La bioptérine absorbée reste inchangée chez les nymphes de reines et ne subit aucune transformation en autres composés fluorescents. Il en est de même pour tous les autres stades de développement des reines et des ouvrières.

Le maximum de la radioactivité se place au même endroit que celui de la fluorescence caractéristique de la bioptérine. Seulement, chez les larves qui n'ont pas éliminé leurs fèces, on trouve en plus de la bioptérine, d'autres produits fluorescents nettement radioactifs.

De plus, dans les extraits de larves de reines et de larves d'ouvrières séparés par chromatographie sur papier, les auteurs trouvent à côté de la bioptérine de petites quantités de substances sensibles au test de croissance avec *Crithidia fasciculata*. Ce sont peut-être des composés actifs du métabolisme de la bioptérine.

IV. — ORIGINE DES DIFFÉRENTS COMPOSÉS CHIMIQUES DES GELÉES

Par la suite, les auteurs, après avoir étudié les différents composés des gelées en arrivent tout naturellement au problème de l'origine glandulaire de ces sécrétions.

Étant donné que les glandes hypopharyngiennes au moment de la période d'élevage du couvain sont très développées, qu'elles le sont beaucoup moins avant et après cette période, il est possible de les considérer comme productrices de gelée chez les nourrices de 5 à 15 jours. REMBOLD et HANSER (1960, V) ont cherché à savoir si ces glandes pouvaient sécréter l'acide hydroxy-10-décène-2-oïque et la biophtérine. Tout en tenant compte de leur résultat, nous résumerons en même temps ceux qui furent obtenus en 1964 et publiés dans une autre revue, ceci afin d'avoir une vue d'ensemble aussi complète que possible de toutes ces recherches.

Deux méthodes ont été utilisées :

1. La première méthode consiste à marquer d'un colorant des jeunes abeilles écloses à l'étuve. Ces ouvrières sont remises dans la colonie jusqu'à ce qu'elles aient atteint l'âge d'être des nourrices, entre 5 et 15 jours. A ce moment, les ouvrières sont prélevées et toutes les glandes sont disséquées puis soumises à une extraction en vue de l'obtention, soit de leur fraction lipidique, soit de leur fraction aqueuse.

La fraction lipidique est ensuite préparée en vue d'une chromatographie sur papier, pour la mise en évidence de la fraction très acide contenant l'acide hydroxy-10-décène-2-oïque et celle de la fraction neutre.

La fraction aqueuse est également préparée en vue d'une chromatographie sur papier. Les bandes de papier sont découpées et mises dans une solution nutritive contenant soit le flagellé *Crithidia fasciculata* dont la croissance est sensible à la présence de biophtérine, soit le *Lactobacillus arabinosus* qui permet de tester la présence d'acide pantothénique.

a) Pour la fraction lipidique, les résultats sont les suivants :

α) Les glandes hypopharyngiennes et labiales des nourrices ne présentent pas la même composition en fraction acides gras libres et en fraction neutre. Les glandes hypopharyngiennes sont les plus riches en acides gras et les glandes labiales en fraction neutre.

L'importance de la fraction acides gras des glandes hypopharyngiennes est en relation avec la présence de l'acide décénoïque. A partir de 1 300 glandes hypopharyngiennes, les auteurs ont obtenu 140 µg de cet acide sous forme d'azoester.

β) Les auteurs (1964) ont aussi étudié sa concentration dans les glandes mandibulaires. Ils trouvent que celles-ci contiennent plus d'acides gras que les glandes hypopharyngiennes. C'est aussi dans les glandes mandibulaires que la fraction neutre est la plus importante. La fraction neutre proviendrait de la matière grasse des cellules glandulaires.

Les glandes labiales ne contiendraient que des traces de cet acide gras.

b) *Pour la fraction aqueuse, les résultats sont les suivants :*

α) En ce qui concerne la bioptérine, les chromatogrammes des extraits de glandes hypopharyngiennes examinés en UV présentent une faible fluorescence bleue caractéristique des dérivés puriques. De plus, ils réagissent de façon positive au test de croissance avec *Crithidia fasciculata*. Un extrait de 200 glandes hypopharyngiennes contient environ 0,1 µg de bioptérine. Dans le pollen, les auteurs ne purent démontrer la présence de ce composé. Ils en concluent que l'abeille peut synthétiser elle-même la bioptérine.

Les glandes mandibulaires contiennent également de la bioptérine. Les auteurs (1964) ont étudié sa concentration dans toutes les glandes en fonction de différentes conditions expérimentales :

— Pour des essais réalisés en juin, les glandes mandibulaires et hypopharyngiennes d'ouvrières appartenant à une colonie normale contiennent la même quantité de bioptérine.

Les glandes mandibulaires d'ouvrières alimentées 4 jours en étuve avec du sucre et du pollen, en l'absence de reine et de couvain, contiennent 10 fois plus de bioptérine que les glandes hypopharyngiennes d'ouvrières maintenues dans les mêmes conditions.

Les glandes mandibulaires de nourrices prélevées d'une colonie ne comprenant comme couvain que des larves de reines, contiennent 100 fois plus de bioptérine que les glandes hypopharyngiennes d'ouvrières placées dans des conditions identiques.

Par contre, les glandes labiales céphaliques et thoraciques en contiennent très peu, quelles que soient les conditions expérimentales.

Cette augmentation de la teneur en bioptérine est donc seulement caractéristique des glandes mandibulaires.

Quelques expériences faites en août sur les glandes d'ouvrières de colonie normale et sur celles d'ouvrières maintenues en étuve montrent qu'elles contiennent encore un peu plus de bioptérine. La teneur varie avec les saisons. Ces variations sont analogues à celles que les mêmes auteurs ont observé dans la gelée d'ouvrières.

β) En ce qui concerne l'acide pantothénique, les résultats sont exactement les mêmes. En août les auteurs trouvent toujours davantage de cet acide dans les glandes mandibulaires, en fonction des différentes conditions expérimentales que nous venons de décrire. En juin de l'année suivante des déterminations d'acide pantothénique ont conduit à des résultats semblables.

γ) Pour les composés hétérocycliques autres que la bioptérine, des extraits aqueux glandulaires ont été étudiés par chromatographie comparative. D'après l'observation des substances absorbantes à 260 mµ, les auteurs ont pu établir que les composés puriques (adénine et dérivés) sont sécrétés uniquement par les glandes hypopharyngiennes.

2. La deuxième méthode consiste à administrer à de jeunes ouvrières maintenues en étuve de la bioptérine marquée dans une nourriture à base de miel dilué. Les auteurs déterminent après 48 heures la répartition de la radioactivité dans les différentes glandes et parties du corps de l'ouvrière.

Les mesures ont montré une augmentation de la radioactivité dans les glandes hypopharyngiennes.

Par la suite (1964), ces expériences ont été complétées par des histo-autoradiographies des différentes glandes d'ouvrières de 8 à 12 jours ayant reçu de la bioptérine marquée dans leur nourriture ou en injection. Puis elles ont été fixées à des temps différents : 1, 4, 24 et 48 heures. L'apparition de la radioactivité est bien notée sélectivement dans les glandes hypopharyngiennes et non dans les glandes mandibulaires.

Dans certains cas, l'apparition de bioptérine marquée a cependant eu lieu dans les glandes mandibulaires, mais seulement après un délai de 24 heures.

Les glandes labiales céphaliques et thoraciques ne fixent pas la bioptérine radioactive.

La bioptérine n'étant pas fixée dans les glandes mandibulaires, ces dernières doivent la synthétiser ; elle serait éliminée ensuite par les glandes hypopharyngiennes.

Appliquant le même raisonnement à l'acide hydroxy-10 décène-2 oïque, les auteurs allemands considèrent alors, en tenant compte des travaux anglais CALLOW et coll., BARKER et coll., (1959) que les glandes mandibulaires des ouvrières sont des organes de production de cet acide et que les glandes hypopharyngiennes sont des organes d'élimination. D'ailleurs la structure histologique de ces dernières glandes est assez simple.

Les glandes mandibulaires, à l'inverse des glandes hypopharyngiennes ne régissent pas chez les butineuses. D'après une communication orale de CALLOW elles contiennent beaucoup d'acide hydroxy-10 décène-2 oïque. BOCH et SHEARER (1967) en trouvèrent 60 µg par abeille âgée de 21 jours.

En fonction des résultats de 1964 concernant l'augmentation de la teneur en bioptérine et en acide pantothénique chez les nourrices, les auteurs allemands suppo-

TABLEAU 4

Glandes mandibulaires	Glandes hypopharyngiennes	Glandes labiales
Fraction acides gras (++)	Fraction acides gras (+)	Fraction acides gras (±)
Fraction neutre (++)	Fraction neutre (±)	Fraction neutre (+)
Bioptérine (+ à +++) selon les conditions d'élevage et la saison	Bioptérine (+)	Bioptérine (±)
Acide pantothénique (++ à +++) selon les conditions d'élevage et la saison	Acide pantothénique (+)	Acide pantothénique ± dans les glandes céphaliques + dans les glandes thoraciques
Autres composés hétérocycliques (—)	Autres composés hétérocycliques (adénine et dérivés) (+)	Autres composés hétérocycliques (—)

+++ Présence importante,
 ++ Présence très nette
 + Présence nette
 ± Présence faible
 — Absence.

sent que ce sont les glandes mandibulaires qui jouent une fonction décisive dans la fabrication des différentes qualités de gelée. Les glandes hypopharyngiennes sécrèteraient la gelée d'ouvrières considérée comme un aliment de base.

Ils font remarquer que les glandes mandibulaires contiennent aussi bien des composés solubles dans l'eau que dans l'éther.

Les glandes labiales ne contenant que très peu de bioptérine et d'acides gras ne participent probablement pas à la formation de la gelée d'abeilles.

Le tableau 4 récapitule les principales substances mises en évidence dans les glandes des ouvrières.

V. — PREUVE D'UN PRINCIPE DÉTERMINANT DANS LA GELÉE ROYALE

Parmi toutes ces substances isolées des glandes et des gelées, en existe-t-il une qui soit responsable de la transformation de la jeune larve d'ouvrière en reine ?

Pour mettre en évidence un principe déterminant, REMBOLD et HANSER (1964) ont procédé à l'élevage artificiel classique en étuve de jeunes larves d'ouvrières de 1 à 2 jours, pesant 0,5 à 2 mg. Ces larves ont été alimentées avec les régimes suivants :

- gelée royale fraîche ou de 1 an conservée à — 30°C,
- gelée d'ouvrières,
- gelée royale améliorée avec les fractions protéique, lipidique, hétérocyclique et dialysable de la gelée royale ainsi qu'avec des vitamines.

La gelée améliorée a été additionnée ou non d'acide pantothénique, de bioptérine et de néoptérine de synthèse, de bases puriques et pyrimidiques, d'une fraction hétérocyclique provenant de butineuses, de différentes fractions de la gelée d'ouvrières et enfin d'une fraction « f » du dialysat de gelée royale (1).

Pour juger de l'efficacité des régimes alimentaires, les auteurs ont fait porter leur observation sur certains caractères morphologiques des imagos tels que la forme des mandibules, la différenciation des pattes postérieures, le développement des ovaires. Ce sont ces caractères qui permettent de distinguer les reines des ouvrières.

En même temps, les auteurs ont effectué des mesures respiratoires avec l'appareil de Warburg sur des larves d'ouvrières et de reines âgées de 3 et 4 jours, pesant de 50 à 99 mg.

La différence de consommation d'oxygène entre ces deux types de larves est particulièrement nette : la consommation est plus élevée chez les larves de reines que chez les larves d'ouvrières.

Les résultats sont les suivants :

En présence de gelée royale fraîche, les larves indifférenciées se transforment dans les mêmes proportions en reines, formes intermédiaires et ouvrières. En présence de gelée royale stockée, les larves deviennent presque toutes des ouvrières.

(1) A ce propos, rappelons que la gelée royale d'abord dégraissée par l'éther se compose d'une fraction non dialysable contenant des éléments qui sont solubles soit dans l'eau, soit dans l'éther et d'une fraction dialysable soluble dans l'eau contenant des éléments adsorbables sur le charbon actif (les hétérocycles...). Les éléments non adsorbés restent dans l'eau-mère que les auteurs désignent par le terme de dialysat. Dans celui-ci se trouve une fraction *f* révélée par chromatographie.

Pour la croissance des larves, 4 fractions isolées de la gelée royale sont nécessaires : la fraction non dialysable, celle qui est soluble dans l'éther, la fraction dialysable et le dialysat.

L'acide pantothénique, la bioptérine et la néoptérine, substances très caractéristiques de la gelée royale ne sont cependant pas des substances déterminantes. Cependant deux d'entre elles, l'acide pantothénique et la bioptérine ajoutées à la gelée royale améliorée élèvent sensiblement le taux de survie.

Le principe actif n'est pas contenu dans la fraction hétérocyclique de la gelée royale.

L'activité biologique est localisée dans la fraction dialysable de la gelée royale. Les auteurs ont pu trouver le principe actif dans une fraction « f » chromatographiée du dialysat. Cette fraction « f » n'est pas encore très bien caractérisée car elle est instable. C'est elle qui ajoutée à la gelée royale améliorée permet aux jeunes larves de se différencier en reines. Cette fraction « f » active peut être enrichie par des extraits de têtes d'abeilles nourrices. L'absence de la fraction « f » ne conduit qu'à l'obtention d'ouvrières.

Deux autres travaux publiés dans la même revue, ne présentant pas un rapport direct avec ces problèmes et ayant un caractère essentiellement chimique, n'ont pas été mentionnés (REMBOLD, BUSCHMANN, 1962 ; REMBOLD, METZGER, 1967).

CONCLUSION

Si j'ai tenu à présenter cette revue, c'est parce qu'à mon avis les recherches touchant au déterminisme des castes ont toujours soulevé certaines difficultés. De nombreux spécialistes ont essayé de les résoudre non pas seulement en Allemagne mais aussi dans beaucoup d'autres pays.

J'ai voulu simplement faire ici le point des résultats d'une équipe.

Les conclusions de REMBOLD et HANSER (1964) indiquent que l'on s'approche de la solution sans cependant y parvenir totalement.

Avec mon collègue chimiste, M. BARBIER, nous avons aussi effectué de nombreux dosages, non pas dans la gelée royale mais chez les reines, leurs larves et les ouvrières d'abeilles. Chez ces dernières nous avons mis en évidence (1960) comme d'ailleurs d'autres chercheurs (BARKER *et al.*, CALLOW *et al.*, 1959) dans les glandes mandibulaires, la présence de l'acide hydroxy-10 décène-2 oïque. Nous avons montré que les ouvrières naissantes en secrètent très peu et en 1962 (PAIN *et al.*) que les larves de reines en contiennent également. En 1967 (PAIN *et al.*) ont été effectués des dosages individuels de cet acide, par tête d'ouvrière. Nous avons établi que les quantités détectées sont très faibles par rapport à celles d'un autre acide, l'acide céto-9 décène-2 oïque contenu dans les têtes de reines.

Les variations sont importantes d'une ouvrière à l'autre. Actuellement, nous nous demandons si elles ne pourraient pas être mises en parallèle avec les variations de la teneur en bioptérine et en acide pantothénique observées par les auteurs allemands.

SUMMARY

THE BIOCHEMISTRY OF THE LARVAL NOURISHMENT OF QUEEN AND
WORKER BEES (« *APIS MELLIFICA* » L.),
REVIEW OF THE WORK OF THE MAX PLANCK INSTITUTE

In comparing the chemical composition of the jelly distributed to the queen larvae with that of the jelly distributed to the worker larvae, the German authors have sought to explain how the castes are determined. The content in lipides and in fatty acids containing 10-hydroxy-2-decenoic acid is identical in both larval foods.

Bioplerin is contained in greater quantities in the royal jelly than in that of the workers. Neopterin is also a characteristic component of the royal jelly, but it is less concentrated than the bioplerin. Other pteridins have been isolated in the nymphs, such as isoxanthopterin, carboxylic pterin, neopterin and violapterin. Although the quantity of pantothenic acid appearing in the royal jelly was four times that found in the worker's jelly, the authors do not consider this vitamin to be the chief one determining the transformation of the worker larva into a queen. The jelly of the young worker larvae differed from that of older larvae by the existence of variations in quantity in the bioplerin content.

The authors suppose that it is the mandibular glands which play a decisive function in differentiating the jellies. The hypopharyngeal glands secrete the worker's jelly which is considered as a basic food. The biological activity responsible for determining castes would be localized in the dialysable fraction of the royal jelly.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARBIER M., PAIN J., 1960. Étude de la sécrétion des glandes mandibulaires des reines et des ouvrières d'abeilles (*Apis mellifica*) par chromatographie en phase gazeuse. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **250**, 3740-3742.
- BARKER S. A., FOSTER A. B., LAMB D. C., JACKMAN L. M., 1959. Biological origin and configuration of 10-hydroxy- Δ^2 -décénoic acid. *Nature*, **184**, 634.
- BOCH R., SHEARER D. A., 1967. 2-heptanone and 10-hydroxy-trans-dec-2-énoic acid in the mandibular glands of worker honey bees of different ages. *Z. vergleich. Physiol.*, **54** (1), 1-11.
- BUTENANDT A., REMBOLD H., 1957. Über den Weisenzellenfuttersaft der Honigbiene, I. Isolierung, Konstitutionsermittlung und Vorkommen der 10-Hydroxy- Δ^2 -decensäure. *Hoppe-Seyler's Z., physiol. Chem.* : **308**, 284-289.
- BUTENANDT A., REMBOLD H., 1958. Über den Weisenzellenfuttersaft der Honigbiene, II Isolierung von 2-Amino-4-hydroxy-6-(1-2-dihydroxy-propyl)-pteridin. *Hoppe-Seyler's Z., physiol. Chem.* **311**, 79-83.
- CALLOW R. K., JOHNSTON N. C., SIMPSON J., 1959. 10-hydroxy- Δ^2 -decenoic acid in the Honeybee (*Apis mellifera*). *Experientia*, **15**, 11, 421.
- GARDNER T. S., 1948. Pantothenic acid as a longevity factor in Royal Jelly. *J. gerontol.*, **3**, 1-8.
- HANSER G., REMBOLD H., 1960. Über den Weisenzellenfuttersaft der Honigbiene, IV. Jahreszeitliche Veränderungen im Biotperingehalt des Arbeiterinnenfuttersaftes. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **319**, 200-205.
- HANSER G., REMBOLD H., 1964. Analytische und histologische Untersuchungen der Kopf und Thoraxdrüsen bei der Honigbiene *Apis mellifica*. *Z. Naturforsch.*, **19**, 10, 938-943.
- LINGENS F., REMBOLD H., 1959. Über den Weisenzellenfuttersaft der Honigbiene. III. Vitamingehalt von Königinnen und Arbeiterinnenfuttersaft. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **314**, 141-146.
- PAIN J., BARBIER M., BOGDANOWSKY D., LEDERER E., 1962. Chemistry and biological activity of the secretions of queen and worker Honey-bees (*Apis mellifica* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **6**, 233-241.
- PAIN J., BARBIER M., ROGER B., 1967. Dosages individuels des acides céto-9 décène-2 oïque et hydroxy-10 décène-2 oïque dans les têtes des reines et des ouvrières d'abeilles. *Ann. Abeille*, **10** (1), 45-52.
- PEARSON P. H., BURGIN C. J., 1941. The pantothenic acid content of Royal Jelly. *Proc. Soc. expt. Biol. Med.*, **48**, 415-417.
- REMBOLD H., 1965. Biologically active substances in Royal Jelly. *Vitam. et Hormones*, **23**, 359-382. (Traduction DIETZ A.)

- REMBOLD H., BUSCHMANN L., 1962. Trennung von 2-Amino-4-hydroxypteridinen durch Ionenaustauscher-Chromatographie. *Hoppe-Seyler's Z., physiol. Chem.*, **330**, 132-139.
- REMBOLD H., BUSCHMANN L., 1963. Struktur und Synthese des Neopterins. *Chem. Ber.*, **96**, 5, 1406-1410.
- REMBOLD H., BUSCHMANN L., 1963. Untersuchungen über die Pteridine der Bienenpuppe (*Apis mellifica*). *Liebigs Ann. Chem.*, **662**, 72-82.
- REMBOLD H., HANSER G., 1960. Über den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene, V. Untersuchungen über die Bildung des Futtersaftes in der Ammenbiene. *Hoppe-Seyler's Z., physiol. Chem.*, **319**, 206-212.
- REMBOLD H., HANSER G., 1960. Über den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene, VI. Der Stoffwechsel des Biopterins in der Honigbiene. *Hoppe-Seyler's Z., physiol. Chem.*, **319**, 213-219.
- REMBOLD H., HANSER G., 1964. Über den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene, VIII. Nachweis der determinierenden Prinzips im Futtersaft der Königinnenlarven. *Hoppe-Seyler's Z., physiol. Chem.*, **339**, 251-254.
- REMBOLD H., METZGER H., 1967. Mikrohydrierung und polarographische Charakterisierung von Bipterin. *Hoppe-Seyler's Z., physiol. Chem.*, **348**, 194-198.
- TOWNSEND G. F., LUCAS C. C., 1940. The chemical nature of Royal Jelly. *Biochem. J.*, **34**, 1155-1162.
-