

**LES PROTÉINES DE L'HÉMOLYMPHE
CHEZ L'ABEILLE *APIS MELLIFICA MELLIFICA* L.**

II. — ADULTES BUTINEUSES ET HIVERNANTES

Die Proteine der Bienen-Hämolymphe (Apis mellifica mellifica L.)

II. — Tracht-und Winterbienen

Michel BOUNIAS

avec la collaboration technique de Madame F. PARIS

*Station Expérimentale d'Apiculture,
Centre de Recherche d'Avignon, I.N.R.A.,
84140 Montfavet*

SUMMARY

**THE PROTEINS OF THE HONEYBEE (*Apis mellifica mellifica* L.)
HAEMOLYMPH. II. — FORAGING AND WINTERING WORKERS.**

The protein spectra of black bees haemolymph contains 16 main components of molecular weights grading from 40 000 to 450 000. Each component has been quantitatively determined by polyacrylamide gel electrophoresis in foraging and wintering workers, as in queens and drones. The adults-haemolymph contains the homologous fractions to those previously determined in larvae and nymphae, but their relative concentrations are different. The comparison between the castes and between busy and wintering workers shows only quantitative differences.

RÉSUMÉ

Le spectre protéique de l'hémolymphe d'Abeille, race noire, se compose de 18 fractions principales dont les poids moléculaires s'échelonnent de 40 000 à 450 000. 16 de ces fractions ont été analysées quantitativement par électrophorèse en gel de polyacrylamide chez les ouvrières butineuses et hivernantes ainsi que chez les reines et les mâles. Les fractions homologues de celles précédemment déterminées chez les larves, nymphes et naissantes ont été retrouvées

à des concentrations différentes chez les adultes. Les différentes castes ne se distinguent que par la modification des concentrations relatives de certaines protéines de poids moléculaire élevé, et les hivernantes diffèrent également des butineuses par des variations quantitatives du spectre.

INTRODUCTION

Depuis 20 ans, de nombreux travaux sont consacrés régulièrement à l'étude des protéines de l'hémolymphe des insectes au moyen de différentes techniques électrophorétiques (LAMY, 1969). L'objectif de ces recherches est bien souvent d'ordre taxonomique, avec l'étude des variations inter et intra spécifiques (STEPHEN, 1958); chez l'Abeille, les protéines de l'hémolymphe ont été analysées aux divers stades du développement (LENSKY, 1971, BOUNIAS, 1975), et LENSKY et ALUMOT, (1969) ont amorcé la comparaison de deux races, par électrophorèse sur papier.

Cependant, les techniques plus récentes de séparation en gel de polyacrylamide, tout en ayant permis la séparation d'un grand nombre de fractions protéiques, ont encore été assez peu exploitées sur le plan quantitatif. Tandis que les analyses de TOMASZEWSKA, (1968-1969) révèlent des variations quantitatives portant sur 5 fractions séparées sur papier, les travaux de LENSKY, sur les adultes (1971), ne comportent pas d'étude systématique des nombreuses fractions séparées sur gel.

Nos précédentes recherches nous ayant permis de définir les concentrations relatives de 15 fractions importantes du spectre protéique de l'hémolymphe des larves, nymphes et naissantes, de la race noire, (BOUNIAS, 1975) nous avons poursuivi l'étude chez les adultes butineuses et chez les hivernantes, afin de préparer une étude ultérieure portant sur la comparaison de plusieurs races européennes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les Abeilles, *Apis mellifica mellifica*, L. proviennent des élevages de la Station Expérimentale d'Apiculture de l'I.N.R.A. à Montfavet. Les reines ont été fécondées artificiellement au moyen du sperme de mâles sélectionnés de la même race. (FRESNAYE, 1966.)

L'hémolymphe est ponctionnée dans le vaisseau dorsal à l'aide d'une microseringue de précision (HAMILTON), généralement entre le 2^e et le 3^e tergite abdominal. Tandis que les quantités d'hémolymphe prélevées sur les larves et les nymphes peuvent atteindre aisément 20 à 30 μ l, les ouvrières butineuses permettent, en moyenne, le prélèvement de 4 à 6 μ l lorsqu'elles sont capturées au sortir de la ruche. En revanche, les butineuses de retour après une récolte de pollen ont une volémie beaucoup plus faible.

Les analyses sont réalisées, comme précédemment (BOUNIAS, 1975) par la technique d'électrophorèse « en disques » sur gel de polyacrylamide, dans les conditions expérimentales déjà décrites. Après coloration des protéines au Noir Amido 10 B, les gels sont photographiés. L'analyse quantitative des gels et des clichés est réalisée au moyen d'un photomètre intégrateur-enregistreur (VERNON pH I 5).

Les intervalles de confiance au seuil 5 % sont établis pour chaque résultat selon la formule suivante :

$$i = \pm t \frac{S}{\sqrt{N}}$$

dans laquelle S désigne l'écart-type et N le nombre de mesures.

RÉSULTATS

Dès leur sortie, aussitôt après la perforation de l'opercule, les jeunes Abeilles commencent à nettoyer les rayons, puis à jouer le rôle de nourricières. Or l'évolution rapide de ces différentes phases rend les prélèvements incertains. Le présent travail a donc été réalisé sur les butineuses prélevées au moment de leur sortie de la ruche, puis sur les hivernantes rassemblées en grappes pendant la saison froide.

1. — *Les adultes butineuses*

Parmi les 6 groupes protéiques caractérisés chez les larves, dans une zone de poids moléculaire (P. M.) comprise entre 50 000 et 400 000, tous sont représentés de façon plus ou moins complète par leurs homologues chez les adultes. La fig. 1 présente la disposition de ces groupes protéiques relativement à une courbe d'étalonnage établie expérimentalement à l'aide de protéines de poids moléculaire connu. Le P. M. de chacune des fractions séparées fera ultérieurement l'objet d'une détermination plus précise au moyen de plusieurs techniques telles que l'emploi de gels polymérisés en présence de S. D. S. (Sodium Dodécyl Sulfate), la filtration sur gel de dextrane et l'électrophorèse sur plaques de polyacrylamide avec gradient de concentration.

A. *Abeilles de printemps.*

Les Abeilles ouvrières butineuses issues du couvain de printemps (soit : du mois de mars au mois de mai) présentent un spectre protéique assez complet illustré par l'enregistrement photométrique de la fig. 2.

Les protéines du groupe A constituaient la fraction la plus concentrée chez les larves (avec 60 % du total), de même que chez les nymphes et les naissantes (avec 40 à 45 % du total) (BOUNIAS, 1975). Chez les adultes de printemps le groupe A ne présente plus que 26,5 ± 0,4 % de l'ensemble des protéines; il se compose de deux sous-groupes principaux, A I et A II, parfois accompagnés de deux autres fractions visibles mais situées à l'extrême limite de la détection.

Le groupe B tend à augmenter qualitativement et quantitativement : deux sous-groupes B I et B II correspondent respectivement aux fractions larvaires (B 1 + B 2) et B 3; B I se compose de 3 fractions dont 2 sont visibles

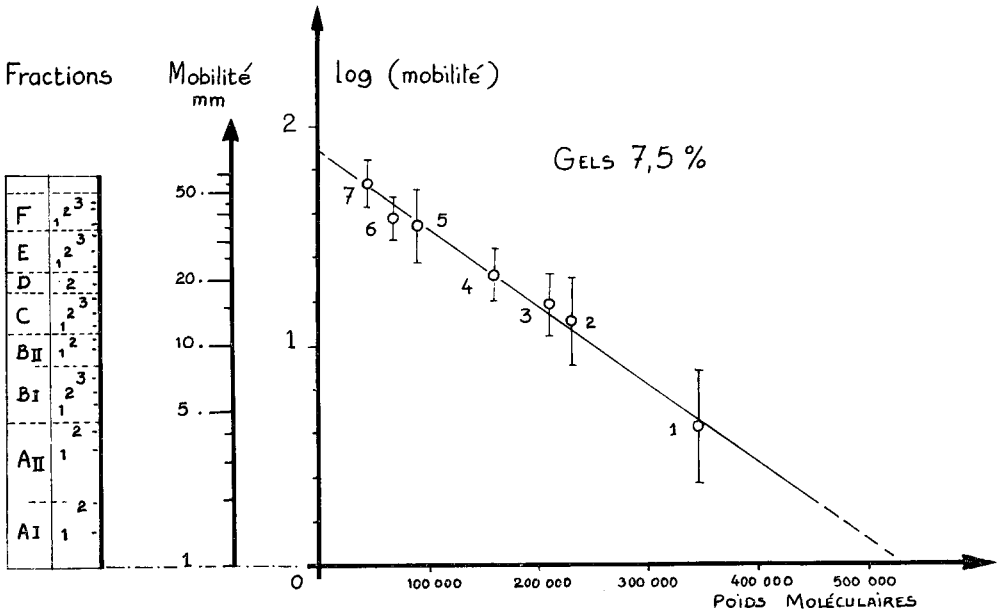


FIG. 1. — Classification des fractions protéiques de l'hémolymphe d'Abeilles noires par rapport à une courbe d'étalonnage réalisée à l'aide de protéines de poids moléculaires connus (N = 4 mesures)

1 : Fibrinogène; 2 : Catalase; 3 : β Amylase;
 4 : Globulines; 5 : Albumine Sérique Bovine;
 6 : Albumine Sérique humaine; 7 : Ovalbumine

ABB. 1. — Klassifizierung der Proteinfractionen der Bienenhämolymphe (*Apis mellifica mellifica* L) im Vergleich zu einer mit Hilfe von Proteinen bekannter Molekulargewichte aufgezeichneten Eichkurve (N = 4 Messungen)

1 = Fibrinogen 2 = Katalase 3 = β -Amylase
 4 = Globulin 5 = Rinderblut-Albumin
 6 = Menschenblut-Albumin 7 = Hühnereiwiss

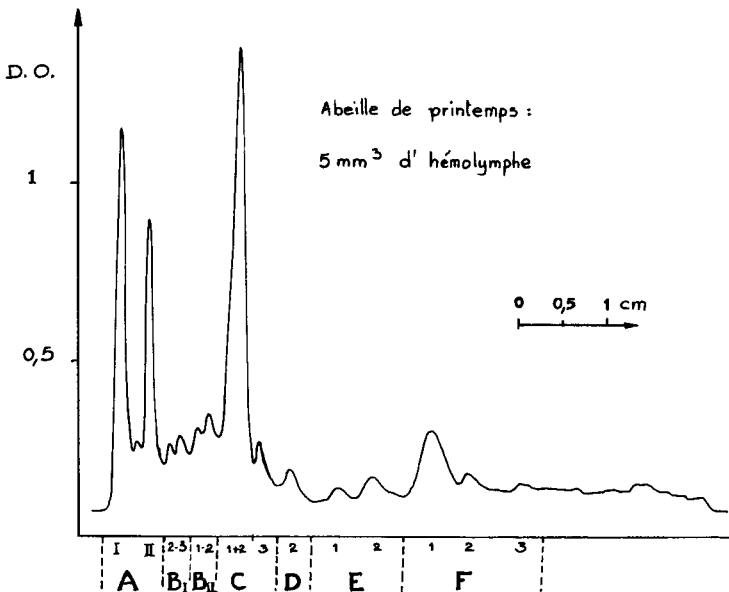


FIG. 2. — Enregistrement photométrique quantitatif caractéristique des spectres de protéines d'Abeilles ouvrières de printemps (classe I). (Volume des prises d'essais : 5 mm³ d'hémolymphe)

ABB. 2. — Quantitative photometrische Registrierung der für Frühjahrs-Arbeiterinnen charakteristischen Proteinspektren

chez l'Abeille de printemps : la mobilité électrophorétique des fractions larvaires B 1 et B 2 correspond sensiblement à celle de B I-2 et B I-3 chez les adultes. Le sous-groupe B II comporte deux fractions visibles, dont la première B II-1, correspond à la fraction larvaire B 3.

Dans le groupe C, les fractions C 1 et C 2 se rencontrent soit réunies, soit juxtaposées, l'ensemble (C 1 + C 2) constituant la plus importante fraction du spectre avec 35 % du total.

Enfin, parmi les groupes E et F, la fraction F 1 est la plus importante avec 5 ± 2 % du total.

L'examen des résultats individuels a permis d'établir une première classification des insectes selon les critères suivants :

- classe I : fractions C 1 et C 2 réunies en 1 seul pic visible atteignant 35 % du total.
- classe II : fractions C 1 et C 2 séparées en 2 pics adjacents dont la somme représente 40 % du total.
- classe III : 1) fractions C 1 et C 2 bien séparées mais ne représentant que 15 à 17 % du total.

2) Rapport $\frac{A I}{A II} = 5,3$ au lieu de 1,25 dans les autres cas.

La signification possible de ces variations spectrales sera discutée plus bas. Le tableau 1 rassemble les résultats moyens obtenus dans chaque catégorie.

B. Abeilles d'été.

Les analyses portant sur les Abeilles d'été (soit les mois de juin-juillet-août) ont pu être étendues aux mâles et aux reines.

La séparation des fractions du groupe B est ici moins fine que dans les autres cas pour des raisons purement technologiques, ces analyses étant plus anciennes.

Les résultats sont présentés dans le tableau 2. Tous les individus analysés appartiennent à la classe II, excepté les mâles, qui présentent, malgré un petit nombre d'analyses, des différences très nettes permettant de les assimiler aux classes II et III (tableau 3).

Ces résultats montrent une très légère évolution du spectre protéique des ouvrières d'été, qui ne se distinguent de celles de printemps que par une faible diminution de concentration des groupes (C 1 + C 2) et D 2.

La comparaison des résultats entre castes ne fait apparaître que de légères différences, principalement au niveau des groupes A et C : les rapports $\frac{A I}{A II}$ et $\frac{C 1}{C 2}$

TABLE I. — Détermination quantitative des différentes fractions du spectre protéique de l'hémolymphe d'Abeilles noires butineuses de printemps. Les résultats sont exprimés en proportion de la quantité totale de protéines. N désigne le nombre d'analyses individuelles

TAB. 1. — Quantitative Bestimmung der verschiedenen Fraktionen des Proteinspektrums der Hämolymphe von Frühjahrs-Trachbienen (*Apis mellifica mellifica* L.). Die Ergebnisse sind proportional zum Gesamtproteingehalt ausgedrückt. N bezeichnet die Anzahl der Bestimmungen

Fractions Fraktionen	Spectre moyen Ø Spektrum	Classe I Klasse I	Classe II Klasse II	Classe III Klasse III
A I	15,2 ± 0,9	14,8 ± 1,15	14,9 ± 3,8	22,8 ± 2,5
A II	11,0 ± 1,2	11,8 ± 1,0	11,6 ± 3,8	4,3 ± 1,8
B I — 2	2,2 ± 0,4	2,1 ± 0,4	2,4 ± 1,3	1,9 ± 0,4
— 3	2,5 ± 0,3	2,5 ± 0,4	2,3 ± 0,8	2,8 ± 0,3
B II — 1	2,6 ± 0,4	2,6 ± 0,5	2,1 ± 0,7	2,8 ± 0,3
— 2	3,0 ± 0,4	3,1 ± 0,5	2,8 ± 0,5	2,3 ± 0,4
C 1	34,1 ± 3,0	34,5 ± 4,2	21,6 ± 8,1	10,2 ± 3,3
C 2			20,1 ± 10,5	6,1 ± 1,5
C 3	3,4 ± 0,3	2,8 ± 0,4	2,9 ± 0,8	7,1 ± 1,2
D 2	2,2 ± 0,2	2,4 ± 0,3	1,9 ± 0,6	1,6 ± 0,7
E 1	1,0 ± 0,3	1,2 ± 0,1	0,9 ± 0,7	Traces
E 2	1,1 ± 0,6	1,4 ± 0,9	0,6 ± 0,2	Traces
F 1	5,1 ± 0,8	5,4 ± 1,2	4,4 ± 1,9	3,9 ± 2,2
F 2	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,8	1,8 ± 0,5	Traces
F 3	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,4	0,25 ± 0,2	Traces
N	18	10	5	3
Fréquence constatée : Häufigkeit		55 %	28 %	17 %

TABL. 2. — Analyse des fractions protéiques de l'hémolymphe d'abeilles noires : ouvrières, reines et mâles d'été. Les résultats sont exprimés en p. cent de la quantité totale; N désigne le nombre de dosages.

TABL. 2. — Analyse der Proteinspektren der Hämolymphe von Sommer - Arbeiterinnen, - Königinnen und - Drohnen. Die Ergebnisse sind in Prozenten der Gesamtmenge ausgedrückt. N bezeichnet die Anzahl der Bestimmungen

Fractions Fraktionen	Ouvrières Arbeiterinnen	Reines Königinnen	Mâles Drohnen
A I	16,5 ± 2,1	16,2 ± 2,3	18,0 ± 3,0
A II	11,7 ± 2,4	10,0 ± 0,8	8,6 ± 1,9
B I - 2 - 3	4,8 ± 1,1	2,6 ± 0,4 4,6 ± 0,6	4,6 ± 1,0
B II - 1 - 2	— 3,3 ± 0,7	2,7 ± 0,4 3,3 ± 0,4	— 4,6 ± 2,9
C 1	4,0 ± 1,7	8,2 ± 2,0	14,2 ± 4,9
C 2	25,0 ± 5,7	23,8 ± 3,0	16,1 ± 4,9
C 3	3,3 ± 1,1	2,8 ± 0,9	4,5 ± 1,2
D 2	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,3	0,8 ± 0,6
E 1	Traces Spuren	Traces	Traces
E 2	0,6 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,9 ± 0,3
F 1	5,3 ± 1,2	2,4 ± 0,3	5,0 ± 1,9
F 2	1,6 ± 0,7	Traces	Traces
N	10	16	5
Rapport $\frac{AI}{AII}$ Verhältnis	1,4	1,6	2,1
Rapport $\frac{C 1}{C 2}$	0,16	0,35	0,88

sont plus élevés chez les individus sexués et atteignent leur maximum chez les mâles. Enfin, la fraction F 1 est réduite significativement chez les reines.

Le tableau 3 présente les résultats obtenus chez les mâles appartenant respectivement aux classes II et III.

TABLE. 3. — *Variations du spectre protéique de l'hémolymphe chez les mâles A. mellifica mellifica L.* Les résultats sont exprimés en proportion de la quantité totale de protéines; N désigne le nombre de dosages.

TABLE. 3. — *Abweichungen des Proteinspektrums der Hämolymphe bei Drohnen von Apis mellifica mellifica L.* Die Ergebnisse sind proportional zum Gesamtgehalt an Proteinen ausgedrückt. N gibt die Anzahl der Bestimmungen an

Fractions Fraktionen	Spectre classe II Spektrum Klasse II	Spectre classe III Spektrum Klasse III
A I	16,7 ± 5,2	19,8 ± 6,0
A II	10,0 ± 1,6	6,6 ± 1,4
B I	4,8 ± 2,3	4,2 ± 2,0
B II	3,0 ± 1,8	7,0 ± 3,7
C 1	17,8 ± 3,0	8,8 ± 0,8
C 2	19,3 ± 5,5	11,2 ± 0,4
C 3	4,6 ± 1,7	4,3 ± 1,4
D 2	1,0 ± 0,3	0,5 ± 0,3
E 2	0,6 ± 0,3	1,3 ± 0,5
F 1	4,3 ± 1,3	6,1 ± 0,8
N	3	2

Comme dans le cas des ouvrières, les mâles appartenant à la classe III sont caractérisés par une élévation du rapport A I/A II (ici, R = 3,0 contre 1,67 en classe II) et une importante réduction du groupe (C 1 + C 2) qui ne totalise que 20 % des protéines totales contre 37 % chez les individus de classe II.

2. — Les abeilles d'hiver

Les Abeilles hivernantes offrent le spectre protéique le plus complet comme le montre l'enregistrement photométrique de la fig. 3.

Dans ce cas, la première fraction du groupe B I devient dosable. Chez tous les individus ayant fait l'objet d'analyses complètes, les fractions C 1 et C 2 étaient groupées en un seul pic (classe I). Il n'a pas encore été possible de définir si ce pic correspond à la disparition d'une fraction ou à la formation d'une intermédiaire.

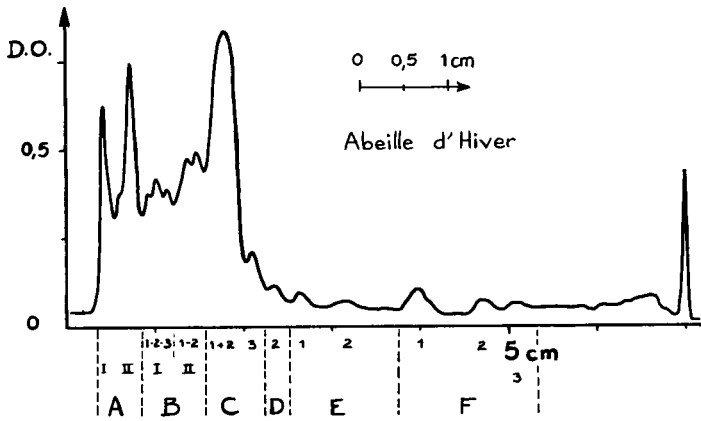


FIG. 3. — Enregistrement photométrique quantitatif caractéristique des spectres de protéines d'Abeilles ouvrières hivernantes (prise d'essai : 5 mm³ d'hémolymphe)

ABB. 3. — Quantitative, photometrische Registrierung der für überwinternde Bienenarbeiterinnen charakteristischen Proteinspektren. (Versuchsmenge — 5 mm³ Hämolymphe)

Le tableau 4 indique les résultats moyens d'analyse de chacune des fractions composant le spectre protéique de l'Abeille ouvrière noire d'hiver.

TABLE 4. — Spectres de protéines caractéristiques de l'hémolymphe des Abeilles hivernantes, ouvrières de race noire. Les résultats sont exprimés en proportion (p. cent) de la quantité totale de protéines. N = 25 mesures.

TAB. 4. — Spektrum von charakteristischen Proteinen der Hämolymphe von Winterbienen (Arbeiterinnen von *Apis mellifica mellifica* L.). Die Ergebnisse sind in Prozenten der Gesamtmenge ausgedrückt. N = 25 Bestimmungen

Fractions Fraktionen	Concentrations relatives moy. Ø relative Konzentrationen	Fractions Fraktionen	Concentrations relatives moy. Ø relative Konzentrationen
A I	8,1 ± 0,7	C 1 + C 2	33,3 ± 2,1
A II	13,8 ± 0,9	C 3	4,3 ± 0,5
B I - 1	2,7 ± 0,3	D 2	2,0 ± 0,2
- 2	4,7 ± 0,4	E 1	1,4 ± 0,34
- 3	3,3 ± 0,3	E 2	0,8 ± 0,2
B II - 1	4,5 ± 0,4	F 1	3,4 ± 0,6
- 2	4,5 ± 0,5	F 2	0,9 ± 0,2
B I + B II	19,7 ± 1,9	F 3	0,4 ± 0,2

Parmi les caractéristiques du spectre protéique d'hiver, il convient de souligner la chute du rapport $\frac{A I}{A II}$ et la diminution de la fraction F 1, tandis que le groupe B devient quantitativement plus important, en même temps que plus complet.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Ce travail constitue un premier essai de détermination quantitative des principales fractions du spectre protéique de l'hémolymphe d'Abeilles de race noire, depuis le stade larvaire jusqu'aux adultes hivernantes.

L'examen des résultats appelle diverses remarques concernant l'équipement protéique lui-même, la continuité du spectre au cours du développement ou de la saison, et ses variations en fonction des castes.

a) *L'équipement protéique de l'hémolymphe chez l'Abeille*

L'hémolymphe d'Abeille possède en définitive un équipement protéique assez important. Le tableau 5 montre à titre de comparaison indicative les principales protéines rencontrées dans le sérum humain, dans les limites de la gamme des poids moléculaires des fractions décelées dans l'hémolymphe d'Abeille.

L'équipement protéique de l'hémolymphe d'Abeille ne paraît véritablement limité que dans le domaine des fractions de très haut P. M. Parmi les plus petites protéines analysées, certaines (F 1-F 2) ont un P. M. équivalent à celui des Albumines. De telles fractions ne semblaient pas avoir été décelées au cours de travaux taxonomiques antérieurs portant sur la comparaison de 7 espèces différentes d'insectes (STEPHEN, 1958).

b) *Variations du spectre protéique au cours du développement*

La continuité de l'évolution du protéinogramme depuis les larves jusqu'aux adultes, avec les stades de transition mis en évidence (BOUNIAS, 1975) plaide en faveur d'une composition qualitative constante, et les modifications qui interviennent au cours du développement paraissent affecter plutôt les proportions relatives de chaque constituant (Tableau 6). Seules les fractions D 1 et E 3 n'ont jamais été décelées avec certitude chez les adultes, compte tenu du stade actuel d'efficacité des techniques. Cela ne signifie pas pour autant que de faibles différences de structure ne pourraient affecter les fractions homologues d'un stade au suivant : c'est ce que l'immunologie mettrait peut-être en évidence (LENSKY, 1971).

TABL. 5. — *Comparaison indicative du P.M. des fractions protéiques de l'hémolymphe d'Abeilles et de celles du sérum humain (ces dernières données sont extraites de : « Handbook of Biochemistry », Chem. Rubber Co Ed., 2nd Edition, 1970)*

TAB. 5. — *Vergleichende Untersuchung der Proteinfractionen von Bienenhämolymphe und Menschenblut.*

Protéines de l'hémolymphe d'Abeille Proteine der Bienenhämolymphe	Classes de poids moléculaires Kategorien der Molekulargewichte	Protéines du sérum humain Proteine des Menschenblutes	Classes de poids moléculaires Kategorien der Molekulargewichte
—	—	β lipo-protéines	3,10 ⁶
—	—	β globulines	plus de 10
Groupe A I	440 à 490 000	X ₂ Macroglobulines . . .	5,10 ⁵ à 10 ⁶
Groupe A II	350 à 380 000	Fibrinogène	341 000
Groupe B I	280 à 320 000	Cholinestrase	300 000
Groupe B II	230 à 260 000	X ₁ Globulines	200 000
Groupe C	190 à 220 000	HDL ₃ lipo-protéines . . .	195 000
Groupe D	160 à 180 000	Cerulo plasmine	160 000
Groupe E	100 à 150 000	Plasminogène	143 000
Groupe F	50 à 90 000	Transferrine	90 000
		Albumine	69 000
		Glyco-protéines	40 à 60 000

TABL. 6 — *Évolution des concentrations relatives des principales fractions du spectre protéique de l'hémolymphe des Abeilles ouvrières, race noire, au cours du développement. (L'incertitude relative est ± 10 %. Les données ont été arrondies au nombre entier le plus proche)*

TAB. 6. — *Entwicklung der relativen Konzentrationen der hauptsächlichsten Fraktionen des Proteinspektrums der Hämolymphe von Bienenarbeiterinnen (Apis mellifica mellifica L.) während der Gesamtentwicklungszeit. (Die relative Schwankung beträgt ± 10 %. Die Angaben sind auf die nächsthöhere ganze Zahl aufgerundet)*

Fractions Fraktionen	Stades	Nymphes Puppen	Abeilles naissantes Schlüpfende Bienen	Abeilles butineuses Trachtbienen	Abeilles hivernantes Winterbienen
	Larves 5 ^e stade Maden 5. Stad.				
Groupe A	63 %	45 %	44 %	27 %	21 %
Groupe B	3 %	8 %	8 %	10 %	20 %
(C 1 + C 2)	3 %	3 %	12 %	33 %	33 %
C 3	1 %	3 %	1 %	3,5 %	4,5 %
(D 1 + D 2)	5 %	10 %	3 %	2 %	2 %
F 1	12 %	5 %	5 %	5 %	3,5 %

En définitive, l'évolution d'un bout à l'autre du développement se caractérise par une diminution progressive de la concentration des protéines du groupe A, un accroissement du groupe B et du groupe C, et une remarquable stabilité de la fraction F I à l'exception des stades extrêmes. Enfin, le groupe D se caractérise par un maximum propre au stade nymphal auquel correspond également un maximum de la fraction voisine C 3 qui n'augmente ensuite de nouveau que chez les adultes. La fraction C 3 se présente ainsi comme intermédiaire entre (C 1 + C 2) et (D 1 + D 2), tant par sa mobilité électrophorétique que par ses variations physiologiques.

Enfin, sur la base des critères protéiques, la comparaison des stades permet de distinguer formellement d'une part les adultes (butineuses et hivernantes) des stades antérieurs (des larves aux naissantes) parmi lesquels, d'autre part, les nymphes s'apparentent plutôt aux naissantes qu'aux larves.

c) *Variations chez les adultes au cours de l'année*

Les différences entre butineuses de printemps et d'été ne sont pas significatives, mais en revanche, les Abeilles hivernantes sont différentes par l'importance du groupe B et la réduction de la fraction F I. Enfin, le groupe A, qui achève à ce stade la décroissance amorcée depuis le début du développement,

se distingue par le rapport $\frac{A I}{A II}$ qui passe de la valeur moyenne 1,40 chez les butineuses à 0,60 chez les hivernantes.

d) *Variations entre castes*

Les travaux déjà effectués sur ce sujet par divers auteurs tendaient à montrer quelquefois un nombre plus élevé de fractions chez les ouvrières que chez les individus sexués (TOMASZEWSKA, 1969), et d'autres fois l'inverse (KUBICZ et GALUSZKA, 1971).

Il est possible que les différences observées entre castes à la suite de travaux d'électrophorèse sur papier soient dues à l'insuffisance du pouvoir de résolution et de la sensibilité de cette technique. Il est, en effet, toujours difficile de conclure à l'absence d'un composant dont la concentration pourrait être simplement inférieure au seuil de détection. La même observation reste applicable au présent travail qui réalise cependant un progrès dans le domaine de la sensibilité de l'analyse quantitative : ainsi, au terme de l'examen comparé des diverses fractions protéiques chez les ouvrières, les reines et les mâles, il n'est apparu que des différences quantitatives : les principales concernent les

rapports $\frac{A I}{A II}$ et $\frac{C 1}{C 2}$ qui augmentent des ouvrières aux reines et atteignent leur maximum chez les mâles. Si des différences qualitatives existent, elles ne

peuvent s'appliquer, semble-t-il qu'à des protéines de concentration relative inférieure à 0,1 % du total, ou de P. M. inférieur à 30 000, c'est-à-dire au niveau de celles qui restent en deçà des seuils de détection ou de signification des résultats.

e) Conclusion

Le nombre de fractions protéiques caractérisées et déterminées quantitativement chez l'Abeille de race noire, dans différentes conditions, devrait nous permettre d'entreprendre maintenant certaines recherches basées sur les variations du spectre de protéines, en particulier dans le domaine de la génétique des populations et celui de la biochimie proprement dite (nutrition et métabolisme).

Quelques cas de polymorphisme ont été observés chez les ouvrières (fractions D 1, et D 2 chez les larves, C 1 et C 2 chez les adultes). Ces différences se retrouvent parfois avec plus d'acuité chez les mâles.

La prochaine étape de ce travail visera à la comparaison des spectres protéiques de l'hémolymphe d'Abeilles de plusieurs races, cependant que les recherches se poursuivent en vue de déterminer si certains variants observés au sein d'une même ruche ne seraient pas la conséquence de différences physiologiques passées inaperçues jusqu'à présent, et affectant des individus de même aspect phénotypique.

Reçu pour publication en avril 1975.

Eingegangen im April 1975.

ZUSAMMENFASSUNG

Die verschiedenen Fraktionen, aus denen sich die Proteinspektren der Hämolymphe von *Apis mellifica mellifica* L. zusammensetzen, sind quantitativ elektrophoretisch auf Polyacrylamid-Gel bestimmt worden und zwar bei Tracht- und Winterbienen, bei Königinnen und Drohnen.

Das vollständige Spektrum enthält mindestens 18 Hauptfraktionen, deren Molekulargewichte sich zwischen 40 000 und 450 000 bewegen; 15 von ihnen konnten bei den erwachsenen Bienen bestimmt werden. Das Gesamtergebnis erlaubt die nachstehenden Schlussfolgerungen:

1. Die qualitative Zusammensetzung des Proteinspektrums der Bienenhämolymphe scheint tatsächlich während der ganzen Entwicklungszeit konstant zu sein, da homologe Fraktionen in jedem Stadium wiedergefunden wurden. Indessen beeinflussen wichtige quantitative Modifikationen gewisse Fraktionen, vor allem die mit den höchsten Molekulargewichten (über 200 000, Gruppe A und B).

2. Bei Arbeiterinnen und Drohnen konnten verschiedene Klassen von Spektren bestimmt werden. Sie könnten mit äusserlich nicht erkennbaren physiologischen Unterschieden zusammenhängen oder auch auf genetische Varianten zurückzuführen sein.

3. Geringe Unterschiede wurden bei Trachtbienen im Frühjahr und Sommer beobachtet. Dagegen wiesen die Winterbienen ein vollständigeres Spektrum auf, das im Vergleich zu den Trachtbienen bedeutende Konzentrationsunterschiede aufweist.

4. Vergleichende Untersuchungen von 14 Proteinfractionen ergaben nur quantitative Abweichungen zwischen Arbeiterinnen, Königinnen und Drohnen, wobei die Arbeiterinnen den Königinnen näherstanden als den Drohnen.

5. Die zur Zeit erreichte Genauigkeit der Bestimmung des Proteinspektrums kann den Weg für biochemische, physiologische und biochemisch-genetische Arbeiten öffnen.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOUNIAS M., 1975. Les protéines de l'hémolymphe chez l'Abeille (*Apis mellifica*, *mellifica* L.). I Larves, Nymphes et Adultes naissantes *Apidologie*, 6 (3), 207-218.
- FRESNAYE J., 1966. L'insémination artificielle des reines d'abeilles. *Ann. Abeille*, 9 (3), 251-263.
- GALUSZKA H., KUBICZ A., 1968. Proteins from spermatheca fluid and seminal plasma of the honey bee (*Apis mellifica* L.) *Zool. Pol.*, 18, 239-248.
- KUBICZ A., GALUSZKA H., 1971. Polyacrylamide gel electrophoresis of proteins and the acid phosphatase iso enzymes from hemolymphs of the honey bees, *Apis mellifica* L. *Zool. Pol.*, 21 (1), 51-58.
- LAMY M., 1969. Travaux sur les protéines de l'hémolymphe des insectes séparées par les techniques d'électrophorèse. Revue Synoptique. *Proc. Verb. Séances Soc. des Sc. Phys. et Nat. de Bordeaux*, 1969, 54-98.
- LENSKY Y., ALUMOT E., 1969. Proteins in the spermatheca and hemolymph of the queen *Apis mellifica*, var. *ligustica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 30 (3), 569-575.
- LENSKY Y., 1971. Haemolymph proteins of the honey bee. II. Differentiation during the development of bee workers. *Comp. Biochem. Physiol.*, 39 B, 335-341.
- O'CONNOR R., ROSENBROOK W.J., ERIKSON R., 1964. Disc electrophoresis of hymenoptera venoms and body proteins. *Science*, 145, 1320-1321.
- POPA L. CRISAN I., 1971. Contribution à la connaissance de la structure des protéines de l'hémolymphe chez les Abeilles pendant l'hiver. *Anale S.C.A.S.*, XI, 53-61.
- SCHMIDT G.H., 1965. Elektrophoretische Fraktionierung der Hämolymphe-proteine während der Metamorphose von *Formica polyctena* F. (Hymenoptera). *J. Insect Physiol.*, 11, 71-77.
- STEPHEN W.P., 1958. Hemolymph Proteins and their use in Taxonomic Studies. *Proc. 10th Internat. Congr. Entomol.* Vol. 1, 395-400.
- TOMASZEWSKA B., 1968. Tableau des Protéines de l'hémolymphe d'*Apis mellifica* dans les conditions physiologiques et dans certains états pathologiques. *Med. Veter. Polska*, 24 (8), 487-489.
- TOMASZEWSKA B., 1969. Hemolymph proteins of the honey bee (*Apis mellifica*) as found in normal individuals and in those from colonies affected by a disease. *Zool. Pol.*, 19 (4), 469-493.