

## LES PROTÉINES DE L'HÉMOLYPHE CHEZ L'ABEILLE

### III. — COMPARAISON DU SPECTRE PROTÉIQUE DES OUVRIÈRES DE DIFFÉRENTES RACES

*Die Proteine der Bienenhämolymphe  
III. — Vergleich des Proteinspektrums  
der Arbeiterinnen verschiedener Rassen*

---

Michel BOUNIAS

avec la collaboration technique de Madame F. PARIS

*Station Expérimentale d'Apiculture  
et Laboratoire de Biochimie  
Centre de recherches d'Avignon, I.N.R.A.  
84140 Montfavet*

---

#### SUMMARY

THE PROTEINS OF THE HONEYBEE (*Apis mellifica* L.) HAEMOLYMPH  
III. — PROTEIN SPECTRA OF WORKER BEES OF DIFFERENT RACES

Analysis of the haemolymph protein-spectra of *mellifica*, *caucasica*, *ligustica* and *carnica* worker bees was performed by polyacrylamide-gel electrophoresis at the larval, nymphal and wintering-adult stages.

The haemolymph of these 4 races contain the same qualitative fractions, but quantitative differences could be observed and significant comparisons carried out on samples of 5 individuals of each strain.

One fraction of the protein spectrum is 3 times more concentrated in the haemolymph of *caucasica* wintering-workers than in other races : in that case, samples of only 1 or 2 individuals were required for significative comparison, and *caucasica* hybrids could be clearly marked.

Evidence is then given for quantitative inter-relations between some proteic fractions of the spectrum : the 4 races can be classified by this means, and their linear relative distances calculated along the regression curve.

## RÉSUMÉ

Les spectres protéiques de l'hémolymph de d'Abeilles ouvrières de race *mellifica*, *caucasica*, *ligustica* et *carnica* ont été analysés aux stades de larves, nymphes et adultes hivernantes par électrophorèse en gel de polyacrylamide.

Les races étudiées présentent toutes le même spectre qualitatif, mais quelques différences quantitatives ont cependant été observées : les écarts les plus importants sont généralement significatifs à partir d'échantillons de 5 individus.

La protéinémie des ouvrières hivernantes de la race *caucasica* se distingue de celle des autres races par la concentration 3 fois plus élevée d'une des fractions du spectre, ce qui permet une identification formelle à partir de 1 à 2 individus et favorise l'analyse des hybrides.

Enfin, la mise en évidence d'inter-relations quantitatives entre certaines fractions protéiques du spectre a permis d'effectuer un classement des différentes races deux à deux sous forme de distances relatives calculées le long des droites de régression correspondantes.

## INTRODUCTION

Chez différents ordres d'Insectes, l'analyse des spectres protéiques a permis de mettre en évidence des variations significatives inter-spécifiques (LOUGHTON et WEST, 1965, LAMY, 1969) et intra-spécifiques (MARTY et ZALTA, 1967).

Chez l'abeille, les travaux les plus récents, faisant appel à l'électrophorèse en gel de polyacrylamide (POPA et CRISAN, 1971, LENSKY, 1971) ont été appliqués à l'étude de races isolées. Les premières comparaisons entre races ont été ébauchées au moyen de l'électrophorèse sur papier par LENSKY (1968), et LENSKY et ALUMOT (1969) qui ont observé entre la race italienne et la race syrienne une différence de concentration au niveau de l'une des trois fractions séparées.

Au cours de récents travaux, une détermination quantitative portant sur plus de 15 fractions séparées par électrophorèse en gel de polyacrylamide a été effectuée à partir de l'hémolymph de d'abeilles noires françaises (*Apis mellifica mellifica* L.) aux différents stades du développement (BOUNIAS, 1975 a et b).

Ces recherches sont maintenant étendues à des souches italiennes, caucasiennes et carnioliennes, dans le but de déterminer avec quelle sensibilité la distinction entre races pourrait être possible sur la base des critères protéiques.

Quelques observations préliminaires effectuées aux stades de larves et de nymphes seront suivies d'une étude plus approfondie chez les abeilles d'hiver de chaque race ainsi que de l'analyse d'une colonie d'hybrides.

## MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Les Abeilles de race *mellifica*, *caucasica*, *ligustica* et *carnica* proviennent des élevages de la Station expérimentale d'Apiculture de l'I.N.R.A. à Montfavet. La dernière souche *carnica* disponible sur place ayant été croisée naturellement peu après le début de nos travaux, le

nombre de mesures effectuées sur cette race a été limité dans l'exposé aux cas présentant de suffisantes garanties de pureté.

Les techniques de prélèvement de l'hémolymphe dans le vaisseau dorsal, d'électrophorèse en gel de polyacrylamide (pH 8,5, 7,5 % d'acrylamide), ainsi que d'enregistrement quantitatif des photographies de gels, sont en tous points identiques à celles décrites précédemment (BOUNIAS, 1972 a et b). Chaque tube de gel reçoit l'hémolymphe d'une seule Abeille.

Au cours de la présentation des résultats, les abréviations suivantes ont été utilisées : Mel. = *mellifica*, Lig. = *ligustica*, Cau. = *caucasica*, Car. = *carnica*.

RÉSULTATS

Les abeilles ouvrières des différentes races ont été comparées aux stades de larves, de nymphes et d'adultes hivernantes. Dans les trois cas, les résultats numériques indiqués au cours de l'exposé ont été limités à ceux obtenus au cours d'une même époque pour les 4 races.

TABL. 1. — Comparaison du spectre protéique de l'hémolymphe de larves du 5<sup>e</sup> stade d'abeilles de différentes races.

La teneur de chaque fraction est exprimée en p. cent de la teneur totale. Les moyennes ( $\bar{x}$ ) sont accompagnées de l'indication du nombre de mesures (N) et de l'écart type correspondant (sx).

TABL. 1. — Vergleich des Proteinspektrums der Hämolymphe von Bienennaden des 5. Stadiums verschiedener Rassen. Der Gehalt jeder Fraktion ist in % des Gesamtgehaltes ausgedrückt. Die Durchschnittswerte ( $\bar{x}$ ) sind von den Zahlen der Messungen (N) und vom entsprechenden Abweichtyp (sx) begleitet.

Races Rassen	Mellifica		Caucasica		Ligustica		Carnica	
	$\bar{x}$ (N = 5)	sx	$\bar{x}$ (N = 5)	sx	$\bar{x}$ (N = 5)	sx	$\bar{x}$ (N = 2)	sx
A .....	67,0	4,30	60,0	9,5	66,4	7,4	41,5	0,71
B <sub>1</sub> .....	1,25	0,87	1,14	0,32	1,11	0,62	1,7	0,46
B <sub>2</sub> .....	1,14	0,48	4,87	1,79	1,41	0,35	4,1	1,63
B <sub>3</sub> .....	1,27	0,54			1,68	0,65	1,24	0,58
C <sub>1</sub> .....	1,84	0,70	1,60	0,49	1,36	0,95	2,70	0,42
C <sub>2</sub> .....	1,90	1,35	1,1	0,34	1,39	1,66	2,1	0,95
C <sub>3</sub> .....	0,84	0,58	0,92	0,23	0,82	0,76	Trace	...
D <sub>1</sub> .....	0,81	1,13	1,38	0,50	0,43	0,63	Trace	...
D <sub>2</sub> .....	5,80	2,94	8,30	2,32	4,16	2,31	5,65	0,21
E <sub>1</sub> .....	0,66	0,27	0,27	0,27	0,76	0,41	0,25	0,21
E <sub>2</sub> .....	2,11	0,64	0,92	0,69	1,19	0,26	1,43	0,30
E <sub>3</sub> .....	0,62	0,47	0,62	0,56	0,91	0,65	1,43	0,30
F <sub>1</sub> .....	15,72	0,12	18,60	3,43	15,12	3,36	16,17	1,45
F <sub>2</sub> .....	Trace	...	0,27	0,18	0,91	0,64	3,5	0,24
F <sub>3</sub> .....	1,03	0,74	0,14	0,22	0,54	0,33	1,10	1,50

### 1. — Comparaison de la protéinémie des larves

Les résultats figurant dans le tableau 1 ont été obtenus à partir de l'hémolymphe de larves de chacune des races prises en fin de 5<sup>e</sup> stade, peu avant l'opération.

Qualitativement, le spectre protéique comporte les mêmes fractions pour chaque race, la limite de détection étant la seule cause des absences de mesures (traces).

Une étroite parenté de composition est observée d'une part entre *mellifica* et *ligustica* et d'autre part, entre *caucasica* et *carnica* sauf en ce qui concerne le groupe A, moins concentré chez *carnica*.

Les fractions A, B 2, D 2 et E 2 présentent des différences significatives d'une race à l'autre. Le tableau 2 précise dans quelles conditions la distinction est possible entre les races prises deux à deux à partir d'échantillons dont les effectifs correspondent au tableau 1.

TABL. 2. — Principales fractions protéiques ayant permis d'observer une différence significative entre les larves de diverses races comparées deux à deux.

L'effectif minimum nécessaire pour chaque échantillon est indiqué entre parenthèses.

TAB. 2. — Hauptsächliche Proteinfractionen, die es erlauben, bei paarweisem Vergleich einen signifikanten Unterschied zwischen den Maden verschiedener Rassen festzustellen.  
Das tatsächlich notwendige Minimum jeder Probe ist in Klammern angegeben.

Races comparées vergleichene Rassen	Mel./Lig.	Mel./Cau.	Mel./Car.	Lig./Cau.	Lig./Car.	Cau./Car.
Fractions caractéristiques et (effectifs) .....	E <sub>2</sub> (5)	E <sub>2</sub> (5)	A (2) B <sub>2</sub> (5)	D <sub>2</sub> (5)	A (5) B <sub>2</sub> (5)	A (8)
Bezeichnende Fraktionen und (tatsächlich. Minimum)						

### 2. — Comparaison de la protéinémie des nymphes

Le tableau 3 présente les spectres protéiques des nymphes prises à un stade moyen de leur évolution : yeux violets, corps orangé-clair (de N 3 à N 4). La comparaison a porté, dans ce cas, sur 3 races, la lignée *ligustica* n'étant pas accessible à l'époque des expériences.

La race *caucasica* possède la plus forte concentration au niveau du groupe A, et la plus faible pour la plupart des autres fractions. *Mellifica*

se situe en tête pour les groupes B, C, D et *carnica* pour E et F sans que les différences soient significatives à partir d'échantillons de petite taille.

TABL. 3. — *Comparaison du spectre protéique de l'hémolymphe des nymphes de trois races d'abeilles* (expression en pour cent de la teneur totale).

$\bar{x}$  désigne les moyennes, (N) le nombre de mesures et *sx* les écarts types correspondants.

TAB. 3. — *Vergleich des Proteinspektrums der Hämolymphe der Puppen dreier Bienenrassen* (in % des Gesamtgehaltes ausgedrückt).

$\bar{x}$  = Durchschnittswerte, (N) = Anzahl der Messungen, *sx* = entsprechende Abweichtypen.

Fractions Fraktionen	Mellifica		Caucasica		Carnica	
	$\bar{x}$ (N = 5)	<i>sx</i>	$\bar{x}$ (N = 3)	<i>sx</i>	$\bar{x}$ (N = 2)	<i>sx</i>
A .....	42,5	4,40	49,1	6,10	32	0,50
B <sub>1</sub> .....	2,23	0,20	2,03	1,15	2,9	0,60
B <sub>2</sub> .....	4,93	1,72	2,71	1,11	3,6	0,50
C <sub>1</sub> + C <sub>2</sub> .....	4,08	1,70	1,62	1,01	2,7	0,50
C <sub>3</sub> .....	2,40	0,94	1,38	0,35	1,70	0,30
D <sub>1</sub> .....	5,96	0,75	1,20	1,01	3,9	0,70
D <sub>2</sub> .....	6,00	1,98	1,90	0,33	3,9	0,70
D <sub>1</sub> + D <sub>2</sub> .....	11,96	2,14	3,1	1,33	3,9	0,70
E <sub>1</sub> .....	1,86	0,56	0,25	0,09	1,45	0,30
E <sub>2</sub> .....	5,44	2,90	5,13	1,41	6,0	1,00
E <sub>3</sub> .....	2,36	0,93	0,78	0,42	2,90	0,50
F <sub>1</sub> .....	5,79	1,83	3,98	2,23	6,0	1,00
F <sub>2</sub> .....	1,81	0,47	2,48	0,56	1,70	0,30
F <sub>3</sub> .....	5,50	1,95	4,13	0,60	6,0	1,00

D'autre part, la teneur en protéines de l'hémolymphe des nymphes présente des variations quantitatives au cours du développement (Bounias, 1971 a) et ce stade n'est donc pas particulièrement favorable aux comparaisons.

Il en est de même pour les Abeilles naissantes dont le spectre protéique, à l'exception des fractions du groupe A, n'est pas toujours résolu avec suffisamment de netteté.

### 3. — *Comparaison de la protéinémie des ouvrières hivernantes*

Chez les abeilles adultes, le spectre protéique de l'hémolymphe présente une meilleure stabilité à l'approche de l'hiver (Bounias, 1975 b). Le tableau 4 présente donc un ensemble de résultats obtenus à partir de lots d'Abeilles prélevées en posture d'hivernation au cours d'une même période (novembre).

TABLE 4. — *Comparaison du spectre protéique des abeilles d'hiver de plusieurs races*  
(expression en pour cent de la quantité totale de protéines).  
(N) désigne le nombre de déterminations,  $\bar{x}$  la moyenne et  $sx$  l'écart type correspondant.

TABLE 4. — *Vergleich des Proteinspektrums von Winterbienen verschiedener Rassen*  
(in % der Gesamtproteinmenge ausgedrückt).  
(N) = Anzahl der Bestimmungen;  $\bar{x}$  = Durchschnitt;  $sx$  = entsprechender Abweichtyp

Fractions Fraktionen	Mellifica		Ligustica		Caucasica		Carnica	
	$\bar{x}$ (N = 5)	$sx$	$\bar{x}$ (N = 5)	$sx$	$\bar{x}$ (N = 5)	$sx$	$\bar{x}$ (N = 4)	$sx$
A I .....	9,02	1,16	11,60	1,63	14,01	2,22	7,05	1,41
A II .....	12,22	1,43	13,70	1,56	14,00	1,17	11,32	1,44
A I A II .....	0,752	0,17	0,85	0,072	1,00	0,11	0,621	0,099
A .....	21,24	1,043	25,30	3,01	27,70	3,21	18,37	2,49
B I. 1 .....	2,42	1,04	2,18	0,77	2,09	0,250	1,02	0,40
2 .....	4,10	1,28	4,56	0,86	3,68	0,61	3,23	1,06
3 .....	2,38	0,88	1,40	0,34	2,39	0,54	1,78	0,29
B II. 1 .....	3,64	1,20	3,62	1,02	10,52	2,48	3,84	0,41
2 .....	3,62	0,94	3,72	1,19	3,85	0,88	3,88	0,71
C <sub>1</sub> + C <sub>2</sub> .....	35,20	3,70	34,50	3,00	28,1	5,86	39,12	5,60
C <sub>3</sub> .....	3,02	0,96	3,58	0,57	3,20	0,79	4,94	1,24
D <sub>2</sub> .....	2,82	0,93	1,91	0,56	2,14	0,57	2,81	0,57
E <sub>1</sub> .....	1,55	0,45	1,10	0,093	0,88	0,62	1,88	0,21
E <sub>2</sub> .....	0,93	0,35	0,72	0,38	0,24	0,41	0,80	0,59
F <sub>1</sub> .....	4,36	1,47	4,33	0,97	2,20	0,62	4,91	1,99
F <sub>2</sub> .....	0,85	0,36	0,75	0,46	0,404	0,35	1,13	0,098
F <sub>3</sub> .....	0,056	0,12	0,33	0,35	0,054	0,12	0,28	0,38

Les résultats montrent que certaines fractions protéiques présentent des variations significatives d'une race à l'autre, en particulier le groupe A, les fractions B II, (C<sub>2</sub> + C<sub>2</sub>), D<sub>2</sub>, E<sub>2</sub> et F<sub>1</sub>. Les principaux résultats de comparaison des races deux à deux sont présentés dans le tableau 5.

A l'exception de *mellifica* et *carnica*, dont les spectres protéiques d'hiver sont très voisins, toutes les races peuvent être distinguées les unes des autres à partir d'échantillons de 5 individus. De plus, la race Caucasienne se distingue très nettement par une concentration environ 3 fois plus élevée de la fraction B II-1, qui constitue un critère significatif avec un échantillon de 2 individus seulement.

Une classification des races peut être effectuée, par ailleurs, suivant une échelle basée sur les relations quantitatives observées entre certaines fractions du spectre.

TABL. 5. — Fractions protéiques ayant permis la comparaison des races deux à deux au stade d'adultes hivernantes à partir d'échantillons dont les effectifs minimaux (N) sont indiqués entre parenthèses.

TAB. 5. — Proteinfraktionen, aufgrund derer die Rassen paarweise im Stadium der überwinterten Adulten verglichen werden konnten, ausgehend von Proben, deren tatsächliche Minima (N) in Klammern angegeben sind.

Races comparées Verglichene Rassen	Mel./Lig.	Mel./Cau.	Mel./Car.	Lig./Cau.	Lig./Car.	Cau./Car.
Fractions caractéristiques (N)	A I (5)	B II-1 (2) A I (5) A II	B I-1 (10)	B II-1 (2) F <sub>1</sub> (5)	D <sub>2</sub> (5)	B II-1 (2) A II (5)
Bezeichnende Fraktionen (N)	—	F <sub>1</sub> (5)				C(1 + 2) (5) F <sub>1</sub> (5)

Ainsi, au sein du groupe A, les fractions A I et A II et le rapport A I / A II sont en forte corrélation positive avec la somme A I + A II et permettent de classer les races dans l'ordre des valeurs croissantes : Car., Mel., Lig., Cau. (fig. 1). Par contre la corrélation est plus faible entre A I et A II. Les équations de régression et les coefficients de corrélation respectifs calculés dans chaque cas à partir de l'ensemble des races, ont les valeurs suivantes :

$$\begin{aligned}
 (A I) &= 1,01 (A II) - 2,14; & \rho &= 0,57 (N = 27) \text{ (fig. 1 a)} \\
 (A I) &= 0,94 (A I + A II) - 5,13; & \rho &= 0,94 (N = 27) \text{ (fig. 1 b)} \\
 (A II) &= 0,328 (A I + A II) + 5,102; & \rho &= 0,81 (N = 27) \text{ (fig. 1 c)} \\
 \left(\frac{A I}{A II}\right) &= 0,030 (A I + A II) - 0,03; & \rho &= 0,67 (N = 27) \text{ (fig. 1 d)}
 \end{aligned}$$

D'autre part, le groupe (C<sub>1</sub> + C<sub>2</sub>) varie en sens inverse du groupe A (fig. 2a) de même que la fraction F<sub>1</sub> qui se trouve donc en forte corrélation positive avec C (1 + 2) (fig. 2 b).

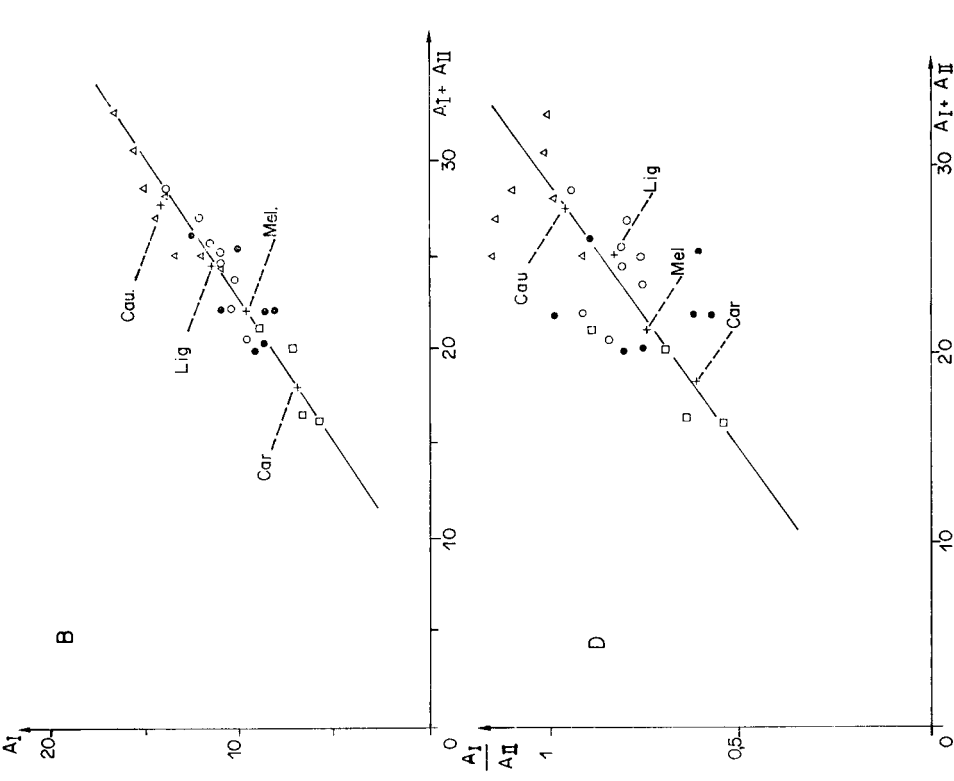
Les équations de régression et coefficients de corrélation sont les suivants :

$$\begin{aligned}
 C(1 + 2) &= -1,30 (A I + A II) + 47,7; & \rho &= 0,72 (N = 24) \text{ (fig. 2 a)} \\
 C(1 + 2) &= 2,60 (F^1) + 23,5 & \rho &= + 0,73 (N = 24) \\
 & \text{(fig. 2b).} \\
 (F 1) &= -0,42 (A I) + 8,47; & \rho &= -0,79 \text{ (fig. 2 c).}
 \end{aligned}$$

Le classement des races s'effectue alors dans le même ordre que précédemment, mais dans un sens différent.

Lorsque la corrélation est étroite, les points représentant les moyennes de chaque race s'alignent au voisinage de la droite de régression : il est alors possible de définir un indice d'« éloignement » entre deux races en calculant la distance entre leurs points médians respectifs. Si les deux points ont pour coordonnées respectives (x<sub>1</sub>, y<sub>1</sub>) et (x<sub>2</sub>, y<sub>2</sub>), la distance dg s'exprime :

$$dg = (x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2$$



АBB. 1. — *Zwischenbeziehungen der Proteinfractionen der Gruppe A bei verschiedenen Bienerrassen.*  
 a : (A I) = f(A II); b : (A I) = f(A I + A II); c : (A II) = f(A I + A II)  
 d :  $\left(\frac{A I}{A II}\right) = f(A I + A II)$ .  
 Die für jede Rasse festgestellten Durchschnittswerte sind mit (+) angeben.,  
 ● Mel., ○ Lig., △ Cau., □ Car. (%)

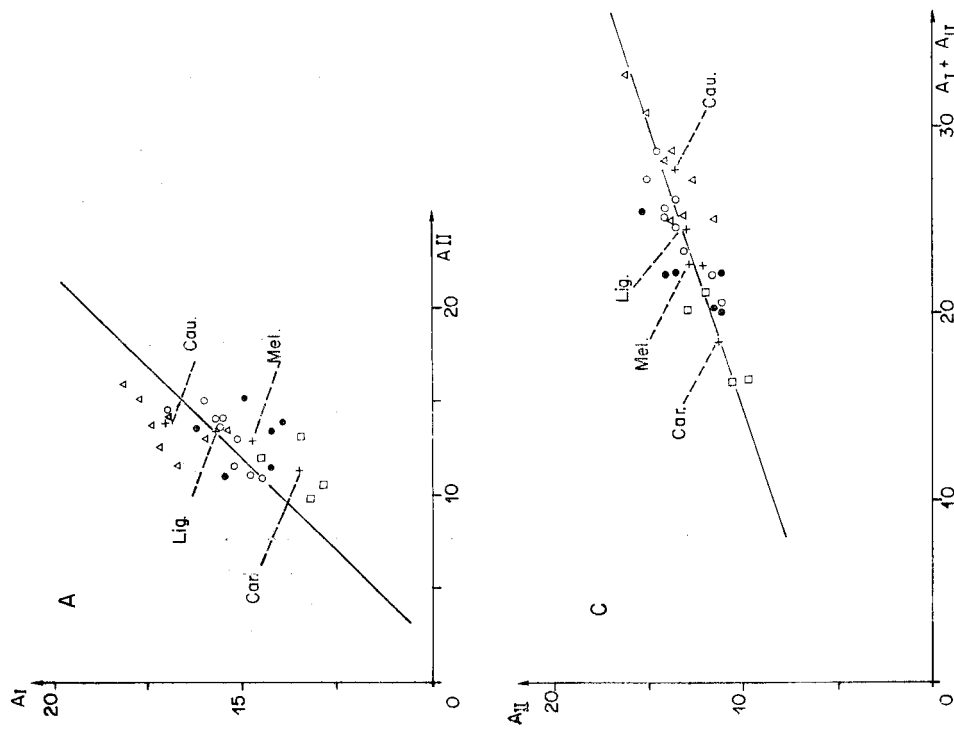


FIG. 1. — *Inter-relations entre les fractions protéiques du groupe A chez différentes races d'abeilles.*  
 a : (A I) = f(A II), b : (A I) = f(A I + A II), c : (A II) = f(A I + A II),  
 d :  $\left(\frac{A I}{A II}\right) = f(A I + A II)$ . Les moyennes observées pour chaque race sont notées : (+).  
 ● Mel.; ○ Lig.; △ Cau.; □ Car. (p. cent)



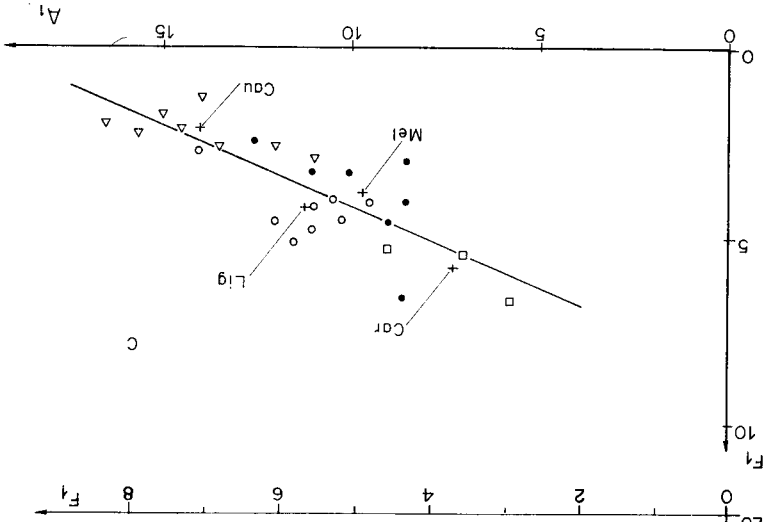
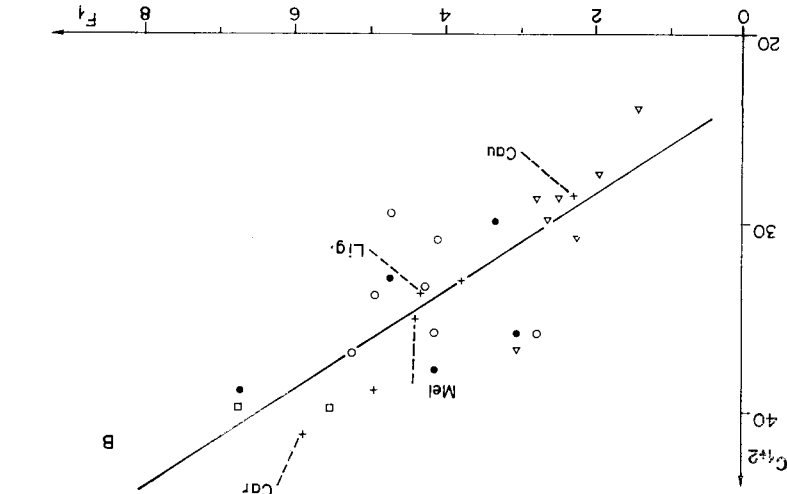
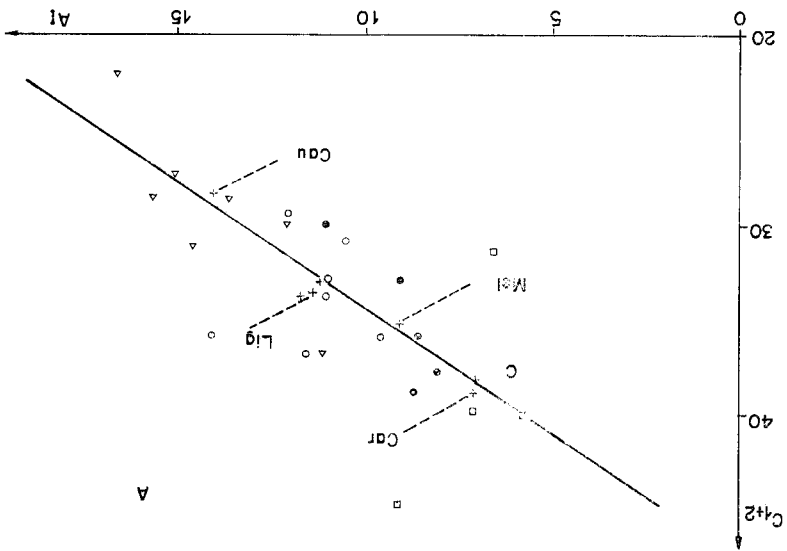


FIG. 2. — Relations entre fractions protéiques chez différentes races d'abeilles.

a :  $C(1 + 2) = f(A1)$ ; b :  $C(1 + 2) = f(F1)$ ;

d :  $(F1) = f(A1)$ . Les moyennes observées pour chaque race sont notées : (+).

● Mel.; ○ Lig.; △ Cau.; □ Car. (p. cent)

ABB. 2. — Relations zwischen Proteinfractionen verschiedener Bienerrassen.

a :  $C(1 + 2) = f(A1)$ ; b :  $C(1 + 2) = f(F1)$ ;

d :  $(F1) = f(A1)$ . Die für jede Rasse festgestellten Durchschnittswerte sind mit (+) angegeben.

● Mel., ○ Lig., △ Cau., □ Car. (%)

Le tableau 6 montre quelques distances graphiques (*dg*) ainsi calculées en utilisant les corrélations illustrées par les fig. 1 et 2.

Tabl. 6. — Détermination des « distances graphiques » (*dg*) entre races, sur les droites représentatives des relations entre deux groupes protéiques.

R désigne le rapport  $\frac{A I}{A II} \times 100$ .

Tab. 6. — Bestimmung der « graphischen Distanz » (*dg*) zwischen den Rassen auf den Repräsentativ-Geraden der Relationen zweier Proteingruppen.

R = Verhältnis  $\frac{A I}{A II} \times 100$ .

Relations utilisées *	Races comparées Verglichene Rassen					
	Mel./Lig.	Mel./Car.	Lig./Car.	Lig./Car.	Mel./Cau.	Cau./Car.
A I = f(A I + A II) .....	2,59	4,88	4,15	7,47	6,73	11,59
A II = f(A I + A II) .....	2,05	4,39	3,5	6,44	5,19	9,54
R = f(A I + A II) .....	10,33	13,5	13,12	23,73	23,3	36,80
C (1 + 2) = f(A I) .....	2,72	4,38	5,76	6,83	8,02	12,53
C (1 + 2) = f(F I) .....	1,39	3,96	5,31	5,35	6,67	10,62
F <sub>1</sub> = f(A I) .....	1,60	3,10	3,46	4,27	4,66	7,67

Les résultats montrent une bonne concordance entre les indices calculés. Les races les plus voisines, selon ces critères, sont *ligustica* et *mellifica* tandis que les plus éloignées sont *caucasica* et *carnica*. Cette méthode présente, pour principal intérêt, de fournir un classement linéaire objectif.

D'autre part, certaines fractions, en particulier F<sub>1</sub>, subissent au cours de l'année des variations de nature vraisemblablement physiologique, dont l'étude est en cours. Il s'avère ainsi d'autant plus important que les comparaisons entre colonies soient opérées non seulement sur des abeilles de même âge, mais sur des individus prélevés exactement en même temps.

#### ÉTUDE PRÉLIMINAIRE D'UNE COLONIE HYBRIDE

Un lot d'ouvrières hivernantes provenant de la fécondation artificielle d'une reine *ligustica* par des mâles *caucasica* a fait l'objet d'une première

analyse. Les prélèvements ayant eu lieu à une période plus tardive, les concentrations de certaines fractions du spectre (A I et F<sub>1</sub>) ont déjà présenté une évolution réduisant leur efficacité, en valeur absolue, comme critères de comparaison.

La stabilité de la fraction la plus caractéristique : B II-1 a cependant permis l'identification des individus. A partir d'un lot de 8 Abeilles, les valeurs ont été réparties de la façon suivante :

— Ensemble du lot (N = 8) : B II-1 = 5,35 pour cent ( $sx = 2,20$ )

— 1<sup>er</sup> sous-groupe (N = 5) : B II-1 = 3,86 pour cent ( $sx = 0,89$ )

— 2<sup>e</sup> sous-groupe (N = 3) : B II-1 = 7,84 pour cent ( $sx = 0,48$ )

Moyenne théorique entre *ligustica* et *caucasica* : B II-1 = 7,07 pour cent.

L'échantillon analysé se comporte ainsi de deux sous-groupes significativement distincts dont le premier s'identifie au type *ligustica* et le second coïncide avec la valeur moyenne entre les parents, c'est-à-dire le type hybride proprement dit.

La colonie comportait donc des Abeilles de plusieurs générations. L'étude particulière de différents types d'hybrides obtenus dans des conditions artificielles rigoureusement déterminées fera l'objet d'une étude ultérieure.

## DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les résultats de ce travail appellent différentes remarques, selon qu'ils sont considérés sous l'aspect de leurs applications à la comparaison des races ou du point de vue de leur signification physiologique.

### a) Intérêt des protéinogrammes pour la comparaison des races

Les comparaisons morphométriques nécessitent généralement l'analyse de 10 à 30 individus de chaque souche et ne permettent cependant pas toujours de dégager des différences significatives entre des colonies assez éloignées (KEPENA, 1975). L'étude des variations quantitatives du spectre protéique de l'hémolymphé pourrait donc présenter un réel intérêt puisque des différences significatives entre races ont pu être observées dans le cas de plusieurs fractions à partir d'échantillons de 5 individus prélevés au même moment et dans les mêmes conditions.

Les corrélations observées entre les concentrations de certaines fractions permettent, d'autre part, de procéder au classement des colonies le long d'une droite et d'assigner une valeur numérique à la parenté des races prises deux à deux.

Ces résultats, quoique positifs, ne paraissent pas encore entièrement satisfaisants.

#### *b) Inconvénients de la méthode*

D'une part, peu de fractions présentent des variations significatives aussi caractéristiques que celles de B II-I chez les hivernantes.

D'autre part, bien que les concentrations moyennes de certaines fractions présentent des écarts importants d'une race à une autre, les variances peuvent atteindre des valeurs assez élevées, en particulier du fait de la juxtaposition des erreurs introduites à chacune des étapes successives : prélèvement, électrophorèse et résolution du spectre, coloration quantitative, photographie et enregistrement photométrique. La partie la plus délicate du travail consiste à identifier et classer les fractions sur les clichés puis sur les enregistrements.

L'inconvénient majeur paraît donc plutôt se situer dans la longueur technique de la méthode, et différentes améliorations pourraient lui être apportées.

#### *c) Quelques améliorations possibles*

Au niveau de la technique d'électrophorèse, la résolution peut être améliorée par l'emploi de gels plus longs et de plus faibles diamètres. (L'introduction de gels avec gradient d'acrylamide, en augmentant le nombre de fractions séparées complique le repérage). Les photographies gagneraient en reproductibilité avec l'emploi d'un appareil automatique : l'enregistrement quantitatif reste subordonné, quant à lui, aux qualités techniques de l'appareil utilisé.

Une amélioration considérable au niveau de la sensibilité pourrait ensuite être apportée au stade de l'exploitation des données numériques par l'utilisation simultanée de toutes les fractions protéiques : cela a déjà été mis au point pour les critères morphométriques avec l'analyse multivariationnelle (DALY, 1975) et l'analyse discriminante qui aboutit à une classification statique des colonies sous forme de dendrogrammes (CORNUET *et al.*, 1975).

Ces méthodes accroissent la portée significative des mesures, mais l'importance des moyens techniques à mettre en œuvre (ordinateurs) limite leur diffusion.

#### *d) Incidences physiologiques*

L'étude de races relativement éloignées a permis de mettre en évidence, grâce à l'amplitude des variations observées, certaines corrélations entre fractions protéiques. Le même type de relation pourrait être étudié, au sein

d'une race isolée, à partir d'un nombre plus élevé d'individus (20 à 30) : il n'est pas certain, alors, que les paramètres des équations obtenues soient les mêmes pour chaque race. Ce processus n'offrirait guère d'avantages comme critère de discrimination compte-tenu de la taille des échantillons, mais pourrait présenter plus d'intérêt d'un point de vue physiologique et biochimique : ainsi les protéines du groupe A I ont un poids moléculaire sensiblement deux fois plus élevé que celui des fractions C (1 + 2) et quatre fois plus que celui de  $F_1$  : dans ces conditions, les relations illustrées par la fig. 2 pourraient traduire un phénomène réversible de polymérisation. Une étude particulière est en cours, à ce sujet, chez les Abeilles de race noire.

e) *Conclusions et perspectives*

S'il est possible de conclure que la méthode d'analyse « protéinométrique » apporte un réel progrès sur l'analyse morphométrique, principalement par la petite taille des échantillons, il semble que son utilisation courante dans le domaine de la sélection soit subordonnée à une amélioration de sa facilité d'emploi. Nos travaux se poursuivent d'une part dans ce but, et d'autre part pour rechercher si d'autres méthodes biochimiques basées en particulier sur la comparaison de certaines activités enzymatiques, ne fourniraient pas de meilleurs critères. Les progrès réalisés devraient permettre, au cours des prochaines étapes, de faire le point successivement sur la caractérisation des hybrides puis celle des écotypes, à la faveur d'une confrontation générale des différentes techniques mises en œuvre.

*Reçu pour publication en mai 1976.*

*Eingegangen im Mai 1976.*

ZUSAMMENFASSUNG

Die quantitative Bestimmung der hauptsächlichsten Fraktionen des Proteinspektrums der Hämolymphe von Bienenarbeiterinnen wurde an Maden des fünften Stadiums, an Puppen und überwinterten Adulten der Rassen *mellifica*, *caucasica*, *ligustica* und *carnica* durchgeführt.

Die qualitative Zusammensetzung des Spektrums erwies sich in allen untersuchten Fällen als identisch. Bei den Maden und den überwinterten Adulten wurden jedoch auffällige Konzentrationsunterschiede beobachtet und zwar — von Rasse zu Rasse — bei gewissen Fraktionen (häufiger unter denen mit hohem Molekulargewicht) von Proben ab fünf einzeln analysierten Individuen.

Bei *Apis caucasica* unterscheidet sich eine der Fraktionen von den übrigen durch ihre hohe Konzentration, die dreimal so hoch ist wie bei den anderen Rassen. In diesem Falle genügt eine Probe von 1-2 Individuen zur Identifikation des Stammes. Dieses charakteristische Protein liefert zudem ein zum Studium der Hybriden geeignetes Kriterium.

Schliesslich konnten lineare Korrelationen zwischen mehreren Proteinfractionen des Spektrums festgestellt werden, und ihre graphische Darstellung erlaubte eine Rassen-Klassifizierung durch die Berechnung der relativen Abstände der entsprechenden Regressionskurven.

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOUNIAS M., 1975 a. — Les protéines de l'hémolymphe chez l'Abeille. I-Larves, Nymphes et Adultes naissantes. *Apidologie*, **6** (3), 207-218.
- BOUNIAS M., 1975 b. — Les protéines de l'hémolymphe chez l'Abeille. II-Adultes butineuses et hivernantes. *Apidologie*, **6** (3), 219-232.
- CORNUET J.M., FRESNAYE J., TASSENCOURT L., 1975. — Discrimination et classification de populations d'abeilles à partir de caractères biométriques. *Apidologie*, **2**, (6) 145-189.
- DALY H.V., 1975. — Identification des Abeilles africanisées par la technique de la morphométrie multivariationnelle. *XXV<sup>e</sup> Congrès International d'Apiculture, Apimondia*, Grenoble, France, 8-14 sept. 1975. Sous presse.
- KEPENA L., 1975. — Appréciations sur l'Abeille locale Slovaque et sa comparaison avec la souche Troiseck. *XXV<sup>e</sup> Congrès International d'Apiculture, Apimondia*, Grenoble, France, 8-14 sept. 1975. Sous presse.
- 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*, Année 1969, 54-98.
- LENSKY Y., 1968. — L'hémolymphe : b) protéines, in : R. Chauvin, *Traité de Biologie de l'Abeille*, tome 1, Paris, Masson, p. 485.
- LENSKY Y., ALUMOT E., 1969. — Proteins in the spermathecae and haemolymph of the queen (*Apis mellifica*, var. *ligustica*). *Comp. Biochem. Physiol.* **30** (3), 569-575.
- LENSKY Y., 1971. — Haemolymph proteins of the honey bee. I-Separation and characterisation of haemolymph proteins of worker larvae. *Comp. Biochem. Physiol.*, **38**, 129-139.
- LOUGHTON B., G., WEST A., S., 1965. — The development and distribution of haemolymph proteins in Lepidoptera. *J. Insect Physiol.* **11**, 919-932.
- MARTY R., ZALTA J., P., 1967. — Variations intraspécifiques qualitatives et quantitatives des protéines de l'hémolymphe de *Cophopodisma pyrenae* (Orthoptera, Catantopidae) en fonction des aires géographiques. *C.R. Acad. Sci. Paris*, série D, **264**, 643-646.
- POPA L., CRISAN I., 1971. — Contribution à la connaissance de la structure des Protéines de l'hémolymphe chez les abeilles pendant l'hiver (en roumain). *Anale S.C.A.S.*, **XI**, 53-61.