

ACTES DES COLLOQUES INSECTES SOCIAUX

Edités par l'Union Internationale pour l'Etude des Insectes Sociaux
Section française

VOL. 1-COMPTÉ RENDU COLLOQUE ANNUEL,
LES EYZIES 22-24 sept. 1983

année du tricentenaire de la naissance de



Portrait de Réaumur
par Jean-Jacques BALECHOU

René-Antoine FERCHAULT, Seigneur DE RÉAUMUR

DES ANGLÉS et DE LA BERMONDIÈRE

La Rochelle 28 février 1683 - La Bermondière 18 octobre 1757

Actes Coll. Insectes Soc., 1, 205-209, Ed. SF-JIEIS, Presses Univ. Paris 12 (1984)

HORMONE JUVENILE ET DETERMINISME DES CASTES CHEZ LES ABEILLES

par

Bernard FOURNIER^o, Bernadette DELAGE-DARCHEN* et Roger DARCHEN*

^o C.N.R.S.-Centre de Morphologie Expérimentale

Avenue des Faculté, F-33405 Talence

* Station Biologique, F-24620 Les Eyzies

Résumé: Des dosages radioimmunologiques des hormones juvéniles effectués sur les ouvrières d'Abeille domestique pendant les périodes d'été et d'hiver ont permis de constater que les glandes salivaires labiales céphaliques et thoraciques de nourrices d'été contiennent des quantités appréciables de JH, qui augmente avec l'âge des ouvrières. La nature des JH dosées varie également avec l'âge. Le dosage RIA sur des fractions séparées par CCM et HPLC suggère la présence de plusieurs types (JH1, JH3 et peut-être JH2) chez l'ouvrière d'Abeille. On a aussi trouvé de l'hormone juvénile dans les cellules royales. De plus, nos premières expériences nous ont fourni des résultats semblables chez les abeilles sans dard (*Melipona* et *Trigona*).

Mots-clés: *Hormone juvénile, déterminisme des castes Apis, Melipona, Trigona.*

Summary: Juvenile hormone and caste determination in the social bees.

Juvenile hormone levels in workers honeybees, and especially in their salivary glands, during summer and winter periods were examined by radioimmunoassay. Cephalic and thoracic labial glands of summer tending brood workers showed significant levels of JH. These increased in ageing summer bees. Several types of JH (JH1, JH3, and perhaps JH2) would be identified using TLC then HPLC combined with RIA. JH has been found in the queen cells. Our first experiments show that we have similar results in the stingless bees (*Melipona* and *Trigona*).

Key-words: *Juvenile hormone, caste determination, Melipona, Trigona, Apis.*

INTRODUCTION

L'importance des hormones dans le déterminisme des Castes chez l'Abeille domestique a été démontrée de plusieurs façons (REMBOLD et HAGENGUTH, 1980; LENSKY et coll., 1982; WIRTZ et BEETSMA, 1972). On sait que l'addition expérimentale d'hormone juvénile (en particulier la JH1) à la nourriture fournie aux larves femelles (gelée d'ouvrière ou gelée royale) induit l'apparition de certains caractères royaux, et même l'éclosion de reines normales (ASENCOT et LENSKY, 1976; DIETZ et coll., 1979). On peut donc logiquement se demander si la gelée royale ne contiendrait pas d'hormone juvénile et, dans le cas d'une réponse positive, qu'elle est sa provenance? Les expériences que nous relatons ici constituent une première démarche où *Apis mellifera* a été le principal animal d'expérience (FOURNIER et coll., 1983).

Grâce aux techniques de radioimmunodosages (ou

RIA) et de chromatographie liquide à haute performance (ou HPLC) combinée au RIA, nous avons procédé à l'analyse des JH contenues dans les glandes salivaires, et différentes parties du corps (tête, thorax, abdomen et hémolymphe) chez les ouvrières d'*Apis mellifica* L., la gelée royale provenant de cellules de reines (ayant contenu des larves du 5ème stade à différentes étapes de leur développement) a également été dosée par RIA. Enfin, quelques dosages ont été réalisés sur des *Trigones* africaines.

TECHNIQUES

1-Matériel Biologique: les abeilles domestiques proviennent d'un rucher expérimental entretenu à la Station Biologique des Eyzies. Les ouvrières d'été ont été marquées à leur émergence afin de pouvoir dater les différents organes que nous prélevons. Après dissection, les organes isolés sont pesés et broyés dans du méthanol-eau 70/30 (v/v). Les abeilles africaines sont préparées de la même façon qu'*Apis mellifica*, dès leur arrivée au laboratoire.

2-RIA des JH: la technique qui a été utilisée est celle de STRAMBI et coll. (1981). Les JH sont converties en diols et les échantillons sont déposés sur une plaque de silice. La migration est faite avec un mélange heptane-dioxane 70/30 (v/v). Les diols JH standards, testés de la même façon, présentent les caractéristiques de migration suivantes: diol JH3, Rf 0,28; diol JH2, Rf 0,31; diol JH1, Rf 0,39. Il migrent respectivement sur les bandes IV1, IV2 et V2 de la CCM. Cette dernière est découpée en bandes de 1cm, ou de 0,5cm pour les bandes IV et V. Après élution à l'acétone, les éluats sont repris au tampon citrate puis dosés par RIA.

3-Identification des JH par HPLC-RIA: pour chaque échantillon les éluats des bandes IV et V de la CCM préparative sont rassemblés et passés en HPLC (Waters) par J.P.DELBECQUE (Dijon). L'élution est faite sur une colonne Micro-Bondapak C18, avec un gradient linéaire de 45 à 65% de CH3CN dans l'eau, en 30 minutes, sous un débit de 1ml par minute. Les temps de rétention des diols JH3 et JH1 standards (préparés à partir de produits tritiés NEN) sont respectivement de 10-12 minutes et de 17-19 minutes. Chaque fraction récoltée est dosée par RIA.

RESULTATS

1-Chez l'Abeille domestique: les glandes labiales (céphaliques et thoraciques) et la tête des nourrices estivales d'*Apis* montrent une réponse positive et significative au RIA, qui croît de façon importante avec l'âge de l'ouvrière. En revanche, les autres glandes salivaires (glandes hypopharyngiennes et mandibulaires) ne fournissent pas de réponse, quels que soient l'époque de l'année et l'âge des ouvrières considérées.

La réponse au RIA des glandes labiales céphaliques est maximale chez les nourrices âgées, puis décroît chez les gardiennes. Les résultats obtenus par CCM et RIA combinés sembleraient montrer que plusieurs types de diols JH sont présents (diols JH1 et JH3 pour les glandes labiales, ou encore diols JH1, JH3 et peut être JH2 pour la tête complète).

Les premiers essais d'identification des diols JH après CCM-HPLC et RIA semblent confirmer l'existence possible de plusieurs types de JH, notamment la JH1 dans la tête de jeunes ouvrières. Le dosage du contenu de cellules de reines (gelée royale, sans les larves du 5ème stade) montrent la présence de JH en quantité croissante selon l'âge de la larve que l'on

a été. Enfin, le dosage de l'hémolymphe de butineuse par CCM et RIA d'une part, et par CCM-HPLC puis RIA combinés d'autre part, confirme un résultat déjà connu, à savoir la présence de JH3 en quantité très appréciable. Il s'agit d'ailleurs de l'hormone dominante.

Nos expériences ont en outre mis en évidence une quantité assez importante de produits répondant au RIA, principalement après séparation des diols JH pour HPLC. De nouvelles recherches devront préciser s'il s'agit ou non de dérivés de JH.

2-Chez les Trigones africaines: nous avons eu la chance d'avoir une quantité intéressante de matériel pour procéder à des dosages de JH sur les 3 parties, tête, thorax et abdomen des ouvrières prises séparément ainsi que sur le contenu de cellules d'ouvrières et de reines (les larves étant, bien sûr, étées au préalable). Les premières observations réalisées sur ce matériel (dont notamment *Dactylurina*) semblent aller dans le même sens que celles récoltées pour *Apis*, en particulier pour ce qui concerne la tête des ouvrières (diol JH1 présent?). Par ailleurs le contenu des cellules (gelée royale) montre la présence de diol JH, en quantité beaucoup plus importante dans la cellule de reine que dans la cellule d'ouvrière.

DISCUSSION

La présence d'hormone juvénile dans les glandes labiales (principalement la partie céphalique) d'ouvrières estivales d'*Apis* est un résultat tout à fait nouveau. Il semble notamment confirmé par plusieurs types de techniques. Par ailleurs, les JH se concentrent de façon progressive avec l'âge des ouvrières. Ce résultat ne remet absolument pas en cause le fait que la JH3 est l'hormone majoritaire chez *Apis* FLURI et coll., 1981; RUTZ et coll., 1976; HAGENGUTH et REMBOLD, 1978, d'ailleurs très souvent mise en évidence par analyse de la seule hémolymphe (nos résultats confirment également ce point). Mais le fait le plus intéressant est de constater que la tête des jeunes ouvrières contient de la JH1 et de la JH3 (peut être de la JH2?). Bien sûr, il convient de procéder à de nouvelles expériences en utilisant des méthodes encore plus sophistiquées (spectrométrie de masse par exemple) dans la mesure où certaines inconnues subsistent, ou encore parce que certains résultats obtenus après HPLC nous posent de nouveaux problèmes (présence de produits inconnus répondant au RIA marseillais). Parmi plusieurs hypothèses nous suggérons toutefois celle que l'existence d'autres types de JH chez l'ouvrière d'abeille n'a pu être mise en évidence à la suite de modifications éventuelles de la nature de ces JH, selon un processus biochimique encore méconnu.

La présence de JH dans la gelée royale est également un résultat intéressant, surtout si l'on se rappelle que l'adjonction de JH1 à la gelée royale FLURI et coll., 1976 induit l'éclosion de reines. Si certaines glandes salivaires contiennent des JH (et probablement la JH1) il ne peut s'agir d'une coïncidence fortuite. Cependant, la JH n'est pas présente dans les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires, reconnues depuis longtemps comme productrices de gelée royale. Nos résultats obligent donc

à repenser les origines de la gelée royale, de même que la fonction de nourrices chez Apis. Par ailleurs, les résultats obtenus chez les Trigones africaines sont également les premiers connus à ce jour. Ils sembleraient démontrer qu'une certaine homogénéité existe chez les Apidés, avec ou sans dard.

Références

- ASENCOT M., LENSKY Y., 1977.- The effect of sugar and juvenile hormone on the differentiation of the female honey bee larvae (*Apis mellifica* L.) to queens. *Life Sc.*, 18, 693-700.
- ASENCOT M., LENSKY Y., 1977.- The effect of sugar crystals in stored royal jelly and juvenile hormone on the differentiation of female honeybee (*Apis mellifica* L.) Larvae to queens. *Proc. VIII th. Cong. I.U.S.S.I.*, Wageningen, 1977.
- DIETZ A., HERMANN H.R., BLUM M.S., 1979.- The role of exogenous JH I, JH III and anti JH (Precocene II) on queen induction of 4,5 day-old worker honey bee larvae. *J. Insect Physiol.*, 26, 503-512.
- FLURI P., LUSCHER M., WILLE H., GERIG L., 1981.- Changes in weight of pharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honey bee. *J. Insect Physiol.*, 28, 61-68.
- FOURNIER B., DELAGE-DARCHEN B., DARCHEN R., 1983.- Dosages des hormones juvéniles dans les glandes salivaires des ouvrières de l'Abeille domestique (*Apis mellifica* L.). une nouvelle approche de l'étude du déterminisme des castes. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 297, 343-346.
- HAGENGUTH H., REMBOLD H., 1978.- Identification of juvenile hormone 3 as the only JH Homolog in all developmental stages of the honey bee. *Z. Naturforsch.*, 33, 347-350.
- LENSKY Y., BAEHR J.C., PORCHERON P., 1978.- Dosages radio-immunologiques des ecdysones et des hormones juvéniles au cours du développement post-embryonnaire chez les ouvrières et les reines d'abeille (*Apis mellifica* L. var *ligustica*). *C.R. Acad. Sc. Paris*, 287, 821-824.
- REMBOLD H., HAGENGUTH H., 1980.- Modulation of hormone pools during postembryonic development of the female honey bee caste. *Scientific Papers of the Institute of Organic and Physical Chemistry of Wrocław Technical University*, n° 22, *Conferences 7*, 427-440.
- RUTZ W., GERIG L., WILLE H., LUSCHER M., 1976.- The function of juvenile hormone in adult worker honeybees (*Apis mellifica*). *J. Insect Physiol.*, 22, 1485-1491.
- STRAMBI C., STRAMBI A., DE REGGI M., HIRN M., DELAAGE M., 1981.- Radioimmunoassay of insect juvenile hormone and their diol derivatives. *Eur. J. Biochem.*, 118, 401-406.
- WIRTZ P., BEETSMA J., 1972.- Induction of caste differentiation in the honeybee (*Apis mellifica*) by juvenile hormone. *Ent. Exp. Appl.*, 15, 517-520.