

**COMPTES RENDUS DU V<sup>e</sup> CONGRÈS**  
**DE**  
**L'UNION INTERNATIONALE**  
**POUR L'ÉTUDE DES INSECTES SOCIAUX**

Toulouse 5 - 10 Juillet 1965



Ouvrage publié avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique

**LABORATOIRE D'ENTOMOLOGIE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES**

**L'INFLUENCE DE LA REINE D'ABEILLES (*APIS MELLIFICA* L.)  
SUR LE TAUX DE MORTALITÉ  
DES OUVRIÈRES ACCOMPAGNATRICES**

par B. ROGER et J. PAIN

Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes Sociaux  
Bures-sur-Yvette (Seine-et-Oise)

Dans le cadre des recherches sur les interactions entre reine et ouvrières d'abeilles et en tenant compte des données actuelles sur les sécrétions royales et leurs répercussions sur les ouvrières, nous nous sommes demandé quelle pouvait être l'influence de la reine d'abeilles sur le taux de mortalité des ouvrières accompagnatrices.

La technique utilisée est très simple. Dans des cages construites en altuglas, de dimensions  $11 \times 9$ ,  $5 \times 7$ ,  $5$ , nous avons introduit au hasard, des groupes d'abeilles d'importance variable : 50, 55, 100 ouvrières jeunes de 1 à 4 jours. Dans un cas (exp. 6) nous avons dû utiliser des abeilles d'âge indéterminé en provenance de ruches maintenues à une température ambiante de  $20^{\circ}\text{C}$ .

Chaque expérience comprend 2 lots de cages. Un lot témoin comprenant plusieurs cages d'ouvrières orphelines, et un lot traité comprenant le même nombre de cages, peuplées d'ouvrières possédant soit une reine vivante soit une reine morte ou un broyat céphalique de reines ou la substance royale de synthèse. Chacun des lots a été constitué d'un minimum de 6 cages et d'un maximum de 20.

Au cours de toutes les expériences, les ouvrières ont été alimentées de sucre candi (pâte au miel et au sucre glace dans la proportion 1:3). Dans 3 expériences sur 9 au total, nous avons offert en même temps que le sucre candi, du pollen non séché, en provenance d'un même stock, conservé à moins  $24^{\circ}\text{C}$ .

Les expériences portent sur les mortalités enregistrées chaque jour sur une durée plus ou moins longue fixée suivant la nourriture administrée aux abeilles et selon leur comportement observé dans les cages. Le 1<sup>er</sup> jour de l'expérience, le nombre d'abeilles mortes est totalisé pour chacun des lots témoins et chacun des lots traités. Les mortalités des jours suivants sont cumulées successivement jusqu'à la fin de l'expérience.

Nous précisons que nous n'avons jamais attendu l'extinction complète de la population. Nous avons décidé d'arrêter une expérience lorsque nous avons remarqué un affaiblissement de la différence de mortalité entre les 2 lots, une mortalité importante dans

le lot témoin, un écart minime entre les 2 courbes, une perturbation dans le comportement des ouvrières portant sur l'augmentation de la production des fécès.

L'enregistrement des mortalités cumulées a permis de tracer 2 courbes relatives à chaque expérience. En abscisses, nous avons porté le nombre de jours d'expérience et en ordonnées le nombre d'abeilles mortes. Les courbes s'élèvent plus ou moins rapidement, selon que nous avons administré du pollen qui présente un effet favorable à l'augmentation de la durée de vie des ouvrières, selon aussi que nous avons utilisé des abeilles jeunes d'été ou des abeilles jeunes d'hiver en provenance de ruches chauffées.

Nous avons examiné l'influence de plusieurs catégories de reines. Des reines vivantes :

- vierges et jeunes (exp. 1 et 2)
- vierges et âgées, vieilles préalablement en étuve (exp. 3)
- fécondes d'âge et d'origine inconnus (exp. 4)
- fécondes, jeunes et en ponte (exp. 5)
- féconde, âgées et vieilles en étuve (exp. 6)

Pour préciser le rôle de la reine et de ses sécrétions phérormonales, nous avons examiné l'influence de reines mortes, fécondes et attractives (exp. 7), de broyat attractif de têtes de jeunes reines fécondes (exp. 8) et de la phérormone I cristallisée (exp. 9), l'une des substances contenues dans l'extrait mandibulaire royal, dont la synthèse en France a été réalisée par BARBIER et LEDERER (1960).

## RÉSULTATS OBTENUS

Les résultats sont les suivants. Dans tous les cas et sans aucune exception, en présence des reines vivantes ou en présence des reines mortes, de leur extrait naturel ou du produit royal de synthèse, les ouvrières meurent moins vite que les ouvrières orphelines. Les courbes des traités avec reine sont toujours situées en dessous de celles des témoins. Elles indiquent que les reines ont exercé une influence perceptible dans le sens de la réduction du taux de mortalité des ouvrières.

Cependant, cette influence se fait sentir à des degrés divers. Elle a été interprétée statistiquement à l'aide du test F. de Snedecor. Les calculs ont porté non seulement sur la durée totale de l'expérience, mais aussi sur des fractions plus ou moins longues de cette durée, fixées selon la forme des 2 courbes.

Nous résumerons les différentes expériences et ne ferons figurer ici que quelques courbes; ce travail devant être publié intégralement dans un des premiers numéros des Annales de l'Abeille (année 1966).

## EXPÉRIENCE 1

Dans le cas des reines vierges jeunes de même âge et de même origine, lorsque les ouvrières reçoivent du pollen, les mortalités des témoins et celles des traités débutent en même temps le 41<sup>e</sup> jour. La différence maximum de mortalité entre les 2 lots est de 12 % au 32<sup>e</sup> jour. La valeur de F n'est pas significative.

## EXPÉRIENCE 2

En présence de reines vierges jeunes de même âge et de même origine, lorsque les ouvrières ne reçoivent pas de pollen, les mortalités des témoins débutent rapidement, celles des traitées n'apparaissent qu'au 12<sup>e</sup> jour. La différence maximum de mortalité entre les 2 lots est de 33 % au 26<sup>e</sup> jour. Elle est plus importante que dans l'expérience 1. Elle se manifeste plus tôt : 6 jours avant. La suppression du pollen de la nourriture augmente les mortalités dans les 2 lots. Malgré l'augmentation des mortalités, l'influence des reines est très marquée. L'écart entre les 2 courbes est plus grand que dans l'expérience précédente. La valeur de F est significative du 18<sup>e</sup> au 26<sup>e</sup> jour d'expérience.

## EXPÉRIENCE 3

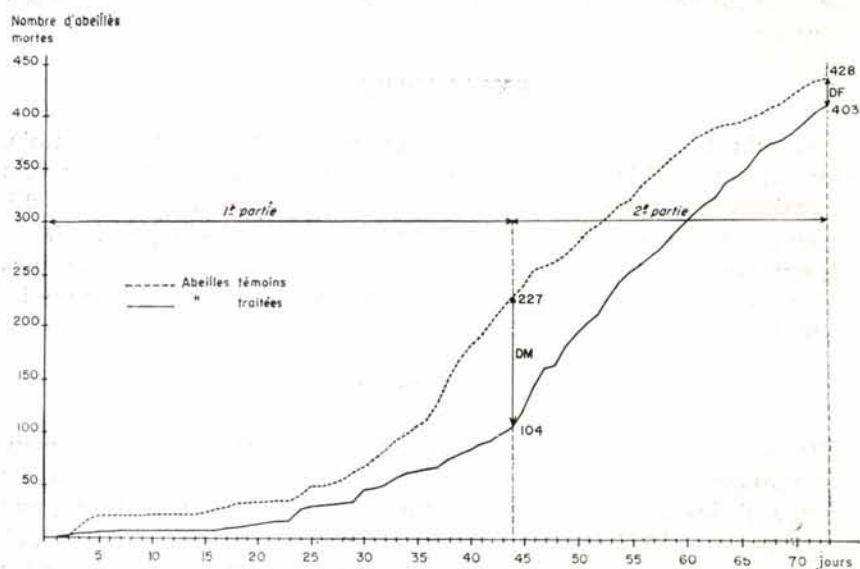


FIG. 1.

Trait pointillé : lot témoin.

Trait plein : lot traité (abeilles en présence de reines vierges vieillies en étuve).

D.M. : Différence maximum.

D.F. : Différence finale.

Dans le cas des reines vierges âgées, accompagnées d'ouvrières alimentées de pollen, les mortalités commencent en même temps le 21<sup>e</sup> jour mais restent faibles jusqu'au 27<sup>e</sup> jour. La différence maximum de mortalité est de 25 % au 44<sup>e</sup> jour (*fig. 1*). L'influence de ces reines est beaucoup plus forte que dans le cas des jeunes reines vierges recevant également une nourriture pollinique. Elle se manifeste plus tard que dans les expériences 1 et 2. La valeur de F est très significative du 1<sup>er</sup> au 44<sup>e</sup> jour.

#### EXPÉRIENCE 4

Les reines fécondes hétérogènes, accompagnées d'ouvrières alimentées uniquement de candi, ne réduisent que faiblement le taux de mortalité. Tout au long de l'expérience, les courbes restent proches l'une de l'autre. La différence maximum n'est que de 8,5 % au 29<sup>e</sup> jour. Elle traduit bien l'hétérogénéité des reines utilisées. La valeur de F n'est pas significative.

#### EXPÉRIENCE 5

Les jeunes reines fécondes en ponte, en présence d'ouvrières nourries de pollen, exercent une action de même intensité que celle des jeunes reines alimentées dans les mêmes conditions. La différence maximum de mortalité entre les lots de ces 2 expériences est comparable. Elle est égale à 12 % au 39<sup>e</sup> jour. La forme des courbes est aussi identique.

#### EXPÉRIENCE 6

Les reines fécondes âgées produisent également un effet perceptible, mais de plus faible intensité que celui des reines vierges âgées. Les mortalités restent faibles dans les 2 lots jusqu'au 20<sup>e</sup> jour. La différence maximum est de 12 % au 40<sup>e</sup> jour alors qu'elle est de 25 % au 44<sup>e</sup> jour dans l'expérience 3. Nous supposons que l'influence des reines fécondes âgées a été limitée ici par l'utilisation d'ouvrières d'âge indéterminé.

#### EXPÉRIENCE 7

Etant donné que dans les expériences précédentes, les reines vivantes utilisées ont toutes réduit la mortalité des ouvrières groupées auprès d'elles, nous avons offert, dans chaque cage du lot traité, une reine morte sélectionnée quant à son pouvoir attractif (PAIN, 1961). Une reine vierge morte à la naissance et par conséquent non attractive (PAIN, 1959) est présentée dans chaque cage du lot témoin. L'expérience est conduite sans pollen. Les courbes (*fig. 2*) indiquent que les mortalités débutent sensiblement en même temps. Du 1<sup>er</sup> au 18<sup>e</sup> jour,

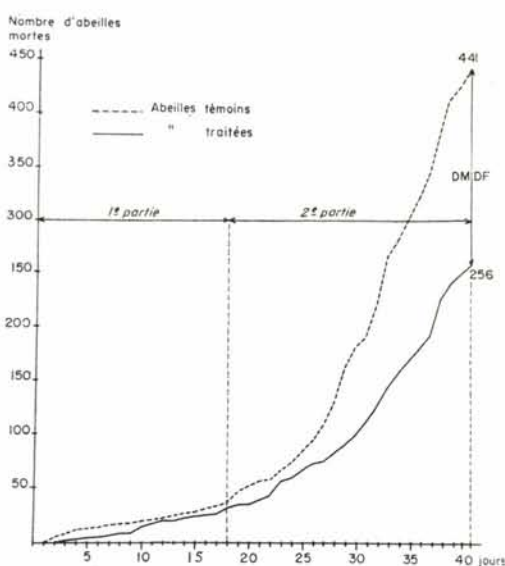


FIG. 2.

Trait pointillé : lot témoin.

Trait plein : lot traité (abeilles en présence de cadavres attractifs de reines fécondes).

D.M. : Différence maximum.

D.F. : Différence finale.

la mortalité entre les 2 lots est semblable. En fin d'expérience, au 41<sup>e</sup> jour, la différence maximum de mortalité est de 18,5 %. Ces reines ont exercé une influence très nette sur la réduction du taux de mortalité. La valeur de F est significative du 19<sup>e</sup> au 41<sup>e</sup> jour.

## EXPÉRIENCE 8

Les reines mortes s'étant révélées intéressantes, nous avons essayé de localiser le facteur influent. Nous avons pensé qu'il était peut-être en rapport avec le pouvoir d'attraction que manifestent la plupart des reines. Leur tête étant plus particulièrement attractive (PAIN, 1954) que le reste du corps, nous avons préparé un broyat attractif de 30 têtes de jeunes reines fécondes en solution dans 50 ml d'éther. Il contenait donc l'extrait des glandes mandibulaires, responsable de l'attraction. Sur une durée de 10 jours, les ouvrières de chaque cage du lot traité, reçoivent un broyat correspondant à 3 têtes de reines, déposé sur du papier filtre. L'expérience est conduite sans pollen.

Les traitées meurent moins vite que les témoins ne recevant pas de broyat mais seulement un papier imbibé d'éther. Les courbes sont près l'une de l'autre. La différence maximum de mortalité est de 12 % au 28<sup>e</sup> jour. L'action des broyats est moins marquée que celle des cadavres de reines.

## EXPÉRIENCE 9

En dernier lieu, nous avons utilisé l'une des substances contenues dans la tête et plus particulièrement dans l'extrait mandibulaire royal. Il s'agit de l'acide céto-9 décène-2-transoïque, de synthèse (phéror-mone I), non attractif. Nous l'avons offert en solution dans l'éther à la dose de  $110 \mu\text{g}$  d'acide déposé sur du papier filtre, une fois par jour, sur une durée de 10 jours. Après évaporation, nous ajoutons sur les papiers, une mince pellicule de miel. Les doses d'acide ont été calcu-

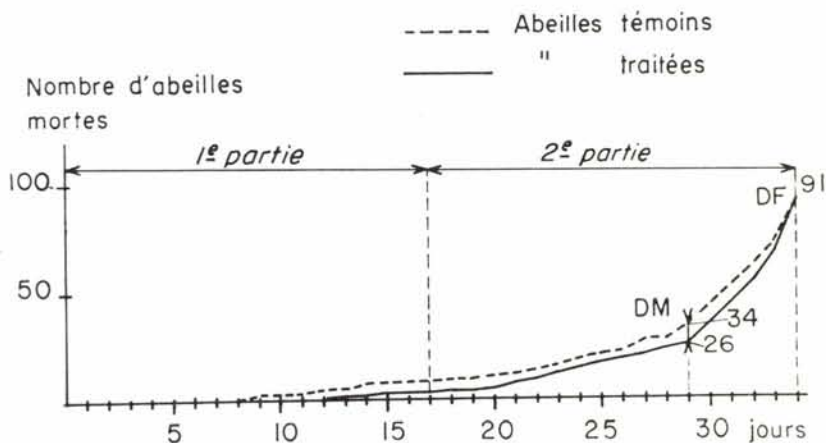


FIG. 3.

Trait pointillé : lot témoin.

Trait plein : lot traité (abeilles en présence de phéror-mone I).

D.M. : Différence maximum.

D.F. : Différence finale.

lées en sachant que des reines vierges, à leur mort, contiennent  $130 \mu\text{g}$  de cet acide (BUTLER et PATON, 1962).

L'expérience est conduite sans pollen. Bien que la courbe des témoins soit située au-dessus de celle des traitées (fig. 3) les courbes sont très rapprochées et toujours parallèles. La différence maximum n'est que de 2 % au 29<sup>e</sup> jour. Au 34<sup>e</sup>, les mortalités sont identiques. C'est cet acide qui de loin produit l'effet le plus faible. La valeur de F n'est pas significative.

## CONCLUSION

Les résultats qui viennent d'être rapidement exposés nous amènent à conclure de la façon suivante.

Le test F effectué sur l'ensemble des mortalités ne s'est jamais révélé statistiquement significatif si l'on considère la durée totale des

expériences. Cependant, les reines exerceraient leur action au bout d'un temps variable, compris entre 18 et 26 jours (exp. 2), entre 27 et 44 jours (exp. 3), entre 19 et 41 jours (exp. 7). L'analyse statistique donne alors des résultats positifs sur une portion de la courbe. D'ailleurs, les différences maxima des mortalités sont toujours situées dans la 21<sup>e</sup> partie de l'essai, jamais avant le 26<sup>e</sup> jour (exp. 2), ou le 28<sup>e</sup> jour (exp. 8). Dans l'expérience 7, cette différence maximum apparaît assez tardivement (le 41<sup>e</sup> jour) pour donner une valeur de F significative.

L'apport de pollen n'empêche pas les reines de réduire encore le taux de mortalité des ouvrières. Si la présence de pollen retarde et diminue effectivement les mortalités, elle n'empêche pas les reines de manifester leur influence sur celles-ci.

Il apparaît que ce sont les reines vierges vieillies à l'étuve qui produisent l'effet maximum. En rapport avec des données déjà acquises (BUTLER, 1960 — PAIN, 1959, 1961), en supposant que la quantité de produits volatils et celle de phéromone I vont de pair pour la détermination de l'odeur attractive, nous avançons l'hypothèse que les reines vierges vieillies seraient susceptibles de contenir dans leurs glandes mandibulaires plus de substances que les reines vierges jeunes.

Il est tout à fait nouveau de signaler que les cadavres de reines fécondes attractives (exp. 7), produisent une action de même intensité bien que plus tardive que celle des jeunes reines vierges (exp. 2), en réduisant significativement le taux de mortalité des ouvrières accompagnatrices.

L'action du broyat céphalique confirme en partie ces résultats. L'odeur attractive des cadavres ou du broyat céphalique a probablement joué un rôle puisque la présence de cadavres non attractifs de reines vierges naissantes est sans action sur les mortalités.

Le fait que la phéromone I non attractive n'ait que peu d'action, fait supposer que l'on se trouve en présence d'un phénomène qui n'est pas en relation avec cette substance, mais peut-être avec d'autres produits de nature plus ou moins phéromonale. L'action de stimuli visuels, tactiles ou autres peut être discutée mais semble cependant fort peu probable compte tenu des résultats enregistrés dans les expériences ne faisant pas intervenir les reines mortes.

Nous pensons devoir signaler le comportement tout à fait caractéristique des ouvrières en présence de reine. Dans tous les cas, les abeilles, sauf pour l'expérience 6, se sont maintenues très calmes auprès de leur reine; celle-ci paraît agir sur elles en les tranquillisant pendant plus de la moitié de la durée des expériences. Au contraire, les témoins, surtout lorsque les ouvrières sont maintenues sur du candi sans pollen, manifestent une grande agitation. De plus, les cages contenant des abeilles avec reine restent bien plus longtemps exemptes de déjection que celles des abeilles témoins.



## BIBLIOGRAPHIE

- BARBIER (M.), LEDERER (E.), 1960 : Structure chimique de la « substance royale » de la reine d'abeilles (*Apis mellifica* (L.)). *C. R. Acad. Sci.*, 250, 4467-4469.
- BUTLER (C. G.), 1960 : Queen substance production by virgin queen honey-bees. *Proc. r. Entomol. Soc. London*, A, 35, 10-12.
- BUTLER (C. G.), PATON (P. N.), 1962 : Inhibition of queen rearing by queen honey-bees (*Apis mellifera* L.) of different ages. *Proc. r. Entomol. Soc. London*, A, 37, 7-9.
- PAIN (J.), 1954 : Sur l'ectohormone des reines d'abeilles. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 239, 1869-1870.
- PAIN (J.), 1959 : Etude de l'apparition de l'attractivité chez les reines vierges d'abeille. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 248, 3211-3212.
- PAIN (J.), 1961 : Sur la phéromone des reines d'abeilles et ses effets physiologiques. *Thèse Sc. Nat.*, Paris, n° 4526.

Intervention de M. WOYKE.

1° Why do you present the mortality of the workers in different experiment after different number of days. I think that more comparable would be dates giving the mortality after the same period of time.

2° Do you investigated the mortality of worker bees in presence of a queen cell, because the behavior of workers without any queen and any queen cell is very innormal.

Réponses de M<sup>lle</sup> PAIN.

1° Les périodes variables d'observation sont dues en partie à l'utilisation d'abeilles prélevées soit l'été, soit l'hiver, après chauffage des colonies. Les expériences qui ont duré le plus longtemps, ont été poursuivies en présence de pollen, qui augmente la durée de vie des ouvrières.

2° Je n'ai pas étudié l'influence de la présence d'une cellule royale sur la mortalité des ouvrières.

Intervention de M. CHAUVIN.

Demande si on a essayé l'influence d'extraits de reines dans l'alcool bouillant ou dans l'éther ce qui permettrait de voir si « l'hormone de construction » très fragile, est la même que la substance « tranquillisante » qui prolonge la vie.

Réponse de M<sup>lle</sup> PAIN.

Nous avons seulement essayé avec des extraits de reine préparés dans l'éther froid pour obtenir le maximum d'action quant au pouvoir d'attraction. Pour le moment, je ne peux dire si la substance « tranquillisante » qui prolonge la vie, est stable ou fragile.

Intervention de M. BOUILLON.

Les différences d'activité et de nutrition n'expliquent-elles pas les différences de mortalité?

Réponse de M<sup>lle</sup> PAIN.

Il est certain que la différence d'activité que nous avons constatée qui apparaît en relation avec des quantités variables de nourriture ingérée : le pollen est consommé en plus grande quantité par les ouvrières accompagnées de reine, le sucre-candi est consommé en fin d'expérience en plus grande quantité par les ouvrières orphelines, explique en partie les mortalités obtenues, en fonction des reines utilisées.

Intervention de M. le Professeur GRASSÉ.

La note de M<sup>lle</sup> PAIN expose un important problème méthodologique : à savoir le partage entre les actions dues à des phéromones et les actions causées par des stimuli visuels ou tactiles ou autres. Les actions psychosomatiques ont des déterminants très variés (voir notamment les recherches de Labeyrie sur les Hyménoptères parasites d'*Acrolepis assectella* et la Bruche des haricots). Il faudrait par exemple établir l'effet produit sur les ouvrières par une reine vivante ou morte privée de phéromones.

L'analyse fine du comportement des ouvrières en présence ou en l'absence de la reine, reste très souhaitable. L'activité mécanique de la reine n'est peut-être pas sans avoir quelque effet sur le comportement et la physiologie des ouvrières.

M<sup>lle</sup> PAIN, qui a tant contribué au progrès de nos connaissances sur l'influence sociale de la reine, devrait bien nous renseigner sur cet intéressant problème.

Réponse de M<sup>lle</sup> PAIN.

Le travail présenté ici fait suite à mes recherches concernant les phéromones royales. J'ai voulu d'abord connaître leur action avant d'aborder d'autres domaines dont fait allusion M. le Professeur GRASSÉ.

Les actions psychosomatiques sont en effet à envisager et sont peut-être plus importantes que les actions phéromonales.

Ces actions doivent être étudiées et je me propose de les analyser ultérieurement.

---