

CARACTERISATION DE L'EFFET INHIBITEUR DES BUTINEUSES SUR LE
DEVELOPPEMENT COMPORTEMENTAL DES JEUNES OUVRIERES
D'UNE COLONIE D'ABEILLES, *APIS MELLIFERA* L.

I. Leoncini¹, G. Costagliola², J.M. Becard¹, Y. Le Conte¹, G.E. Robinson³

¹UMR INRA-UAPV, Unité d'Ecologie des Invertébrés, Laboratoire de Biologie de l'Abeille, Site Agroparc, Domaine Saint-Paul, 84 914 Avignon Cedex 9, France.

²UMR-INRA-GRAPPA, Site Agroparc, Domaine Saint-Paul, 84 914 Avignon Cedex 9, France.

³Department of Entomology, University of Illinois, 505 S Goodwin Ave., Urbana, IL 61801.

RESUME

Des travaux antérieurs ont mis en évidence que les butineuses d'une colonie d'abeilles inhibent le développement comportemental des ouvrières plus jeunes, empêchant ainsi tout butinage précoce. De plus, cette inhibition sociale est transmise par contact physique entre les butineuses et les autres ouvrières de la colonie, ce qui suggère l'existence d'une phéromone inhibitrice.

Nous tentons de caractériser cet inhibiteur émis par les butineuses en utilisant deux approches complémentaires chimique et comportementale.

Les analyses chimiques en GC/MS nous ont permis de mettre en évidence un ester d'acide gras, l'oléate d'éthyle, majoritaire chez les butineuses par rapport aux autres ouvrières de la colonie. L'effet de l'oléate d'éthyle a été testé sur des abeilles d'âge connu placées sur le terrain dans de petites colonies expérimentales. L'observation de l'âge au butinage indique que la présence de la molécule empêche le butinage précoce des abeilles.

L'oléate d'éthyle pourrait donc faire partie de l'inhibiteur du développement des jeunes ouvrières émis par les butineuses et ce signal serait donc bien phéromonal.

INTRODUCTION

Dans une colonie d'abeilles domestiques il existe un polyéthisme lié à l'âge entre les ouvrières. En effet, au cours des trois premières semaines de sa vie adulte, l'ouvrière exécute des tâches d'intérieur puis elle sort accomplir les activités d'extérieur comme la garde et surtout le butinage (Winson, 1987).

Cependant, en fonction des besoins de la colonie, le polyéthisme lié à l'âge présente une grande flexibilité. Ainsi le développement comportemental de chaque ouvrière peut s'accélérer, se ralentir, voire s'inverser au cours de son existence (Robinson, 1992).

Afin d'expliquer certains mécanismes de régulation du polyéthisme lié à l'âge, Huang et Robinson (1992) ont émis l'hypothèse de l'existence d'un inhibiteur du développement comportemental émis par les ouvrières elles-mêmes. Cet inhibiteur, encore inconnu, serait produit en forte quantité par les abeilles les plus âgées de la colonie, les butineuses. Ce facteur serait transmis par contact aux autres ouvrières et freinerait leur développement (Huang et Robinson, 1992; 1996 et 1998).

L'objectif de cette étude est d'identifier cet inhibiteur du développement comportemental des ouvrières émis par les butineuses.

Pour cela nous avons comparé les profils chimiques de butineuses et de nourrices en GC/MS afin de voir si certaines molécules sont spécifiques des butineuses. Les résultats nous ont conduit à tester l'effet d'une molécule majoritaire chez les butineuses sur le développement comportemental d'ouvrières plus jeunes.

MATERIEL ET METHODES

1. Analyses chimiques :

Les profils chimiques des butineuses et des nourrices ont été comparés en GC/MS. Chaque extrait biologique analysé correspond à 10 abeilles butineuses ou nourrices. Les butineuses ont été prélevées à l'entrée de la colonie et les nourrices à l'intérieur sur du jeune couvain.

Nous avons analysé les broyats des trois parties du corps des abeilles : la tête, le thorax et l'abdomen.

Après broyage et centrifugation, le surnageant est récupéré et fractionné sur colonne de Silice. Différentes fractions sont réalisées en fonction des proportions Hexane/Ether du mélange d'éluion. La seconde fraction correspond à la sortie des esters d'acide gras méthyleiques et éthyleiques recherchés.

¼ de la fraction est ensuite concentré à 100 µl puis 1µl est injecté en GC et en GC/MS.

La quantification des molécules s'appuie sur la méthode des standards internes.

2. Expériences comportementales :

Afin d'apprécier l'effet de la molécule majoritaire chez les butineuses sur le développement comportemental des ouvrières, nous avons réalisés des expériences comportementales en conditions naturelles. Les abeilles sont placées dans de petites colonies homogènes dans des petites ruches (40 cm x 30 cm x 30 cm). Chaque colonie regroupe trois cohortes différentes d'abeilles :

-500 butineuses

-500 nourrices

-500 abeilles émergentes marquées.

Pour obtenir les abeilles d'un jour de vie adulte, des cadres de couvain operculé prêt à éclore ont été retirés d'une colonie et placé dans une étuve à 34°C et 55% d'humidité relative. Les abeilles qui émergent sont marquées sur le thorax dès le premier jour de leur vie adulte.

Les butineuses et les nourrices sont capturées dans la colonie d'origine à l'aide d'un aspirateur portable. Les butineuses sont aspirées à l'entrée du nid et les nourrices à l'intérieur sur des rayons de jeune couvain.

Le traitement correspond à une certaine quantité de la molécule étudiée mélangée à 1 gramme de candi (mélange de 70% de sucre et de 30% de miel).

L'étude de l'effet de la molécule sur l'âge du début du butinage des abeilles est réalisée sur un lot de trois colonies différentes :

1-une est traité avec une dose de 0.1% de la molécule

2-une autre reçoit une dose de 1% de la molécule

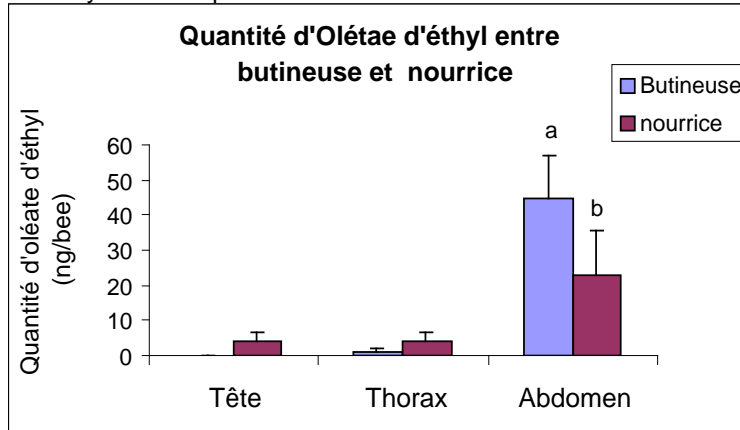
3-la colonie témoin qui ne reçoit que du candi

Le traitement est administré dans chaque colonie une fois par jour et la colonie témoin reçoit un gramme de candi pur.

L'expérience a été répétée 5 fois.

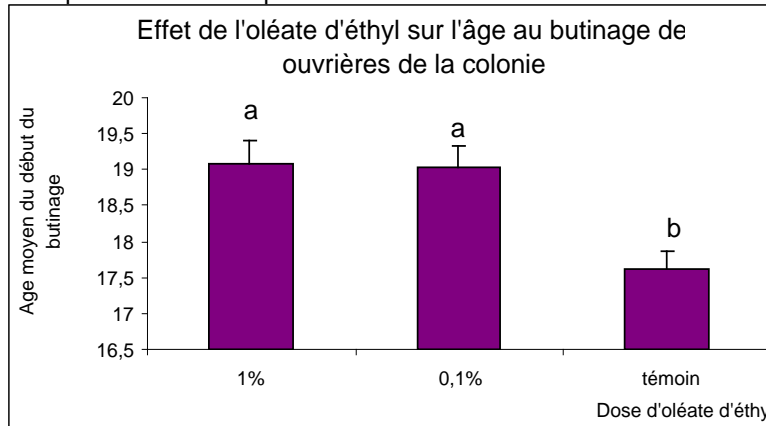
RESULTATS

1. Analyses chimiques :



Chez les nourrices comme chez les butineuses, l'abdomen renferme la plus forte concentration d'oléate d'éthyle. Cependant, cette molécule se retrouve en majorité dans l'abdomen des butineuses, et la différence est significative entre nourrices et butineuses (Analyse de variance, $P=0.04$).

2. Expériences de comportement :



4 répétitions sur cinq montrent une claire augmentation de l'âge au butinage dans les colonies ayant été traitées avec de l'oléate d'éthyle par rapport aux témoins. Les résultats globaux des 5 séries qui sont ici présentés révèlent un effet significatif du traitement par rapport aux témoins (ANOVA, dose 1% comparée avec les témoins, $P=0.0005$ et dose de 0.1% comparée avec les témoins, $P=0.0007$). De plus aucun effet dose ne ressort car les deux traitements : oléate d'éthyle à 0.1% ou à 1% ne présentent pas d'effet sur l'âge au butinage différent ($P=0.9239$).

CONCLUSION

Cette étude apporte de nouveaux résultats sur l'identification de l'inhibiteur du développement comportemental émis par les butineuses. En effet, un ester d'acide gras,

l'oléate d'éthyle, a été trouvé en plus grande quantité dans l'abdomen des butineuses. De plus, les résultats des expériences sur le comportement suggèrent que l'oléate d'éthyle inhibe le butinage précoce des abeilles de la colonie. L'oléate d'éthyle semble donc bien être impliqué dans l'effet inhibiteur des butineuses sur le développement des ouvrières plus jeunes de la colonie. Cet effet inhibiteur confirme l'hypothèse de l'existence d'un inhibiteur du développement comportemental émis par les ouvrières (Huang et Robinson, 1992; 1996 et 1998).

L'oléate d'éthyle est un des dix composés de la phéromone de couvain chez l'abeille (Le Conte et al., 1990). Celle-ci est une phéromone modificatrice car elle inhibe le développement comportemental des ouvrières de la colonie. En effet, elle provoque la diminution du taux d'hormone juvénile chez l'abeille qui est une hormone qui influence le développement et empêche tout butinage précoce (Le Conte et al., 1990).

De plus, l'oléate d'éthyle possède un effet incitateur sur la reconnaissance des larves (Le Conte et al., 1994) et un effet modificateur sur le développement des glandes hypopharyngiennes des nourrices qui produisent la nourriture larvaire (Mohammedi et al., 1996). Or le développement des glandes hypopharyngiennes est sous la dépendance de l'hormone juvénile d'où l'hypothèse que l'oléate d'éthyle agit sur la production de la JH.

Par conséquent, l'inhibition sociale transmise par les butineuses au autres membres de la colonie serait transmise par au moins une molécule chimique et constituerait donc une phéromone modificatrice. Ce serait la troisième phéromone de ce type mise en évidence chez les abeilles, après la phéromone sécrétée par les glandes mandibulaires de la reine (Winston et Slessor, 1992) et celle émise par le couvain. Et ce serait la quatrième phéromone modificatrice connue à ce jour dans le règne animal (Le Conte et al., 2001).

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout particulièrement Thomas Ojardias et Damien Bénas pour leur précieuse aide ainsi que Didier Crauser pour son soutien en apiculture.

REFERENCES

- Huang, Z.Y., Robinson, G.E., 1992. Honeybee colony integration: worker-worker interactions mediate hormonally regulated plasticity in division of labour. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 89, 11726-11729.
- Huang, Z.Y., Plettner, E., Robinson, G.E., 1998. Effects of social environment and worker mandibular glands on endocrine-mediated behavioral development in honey bees. *J. Comp. Physiol. A*. 183, 143-152.
- Le Conte, Y., Arnold, G., Trouiller, J., Masson, C., 1990. Identification of a brood pheromone in honey bees. *Naturwissenschaften*; 77, 334-336.
- Le Conte, Y., Sreng, L., Trouiller, J., 1995. The Recognition of larvae by Worker Honeybees. *Naturwissenschaften*; 81, 462-465.
- Le Conte, Y., Mohammedi, A., Robinson, G.E., 2001. Primer effects of a brood pheromone on honeybee behavioural development. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 268, 163-168.
- Mohammedi, A., Crauser, D., Paris, A., Leconte, Y., 1996. Effect of a brood pheromone on honeybee hypopharyngeal glands. *C. R. Acad. Sci.* 319, 769-772.
- Robinson, G.E., 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 637-665
- Winston, M.L., 1987. The biology of the Honeybee. Harvard Univ Press, Cambridge, MA.
- Winston, M.L., Slessor, K.N., 1992. The essence of royalty: honey bee queen pheromone. *Am. Sci.* 80, 374-385.