

Etude *in vitro* de la croissance des larves d'abeilles (*Apis mellifera intermissa*) par la détermination d'un régime alimentaire.

Reçu le 31-01-2007 – Accepté le 21-04-2007

Résumé

Ce travail est une étude de la croissance des larves d'*Apis mellifera intermissa* sur différents régimes alimentaires et élevées par des techniques conçues afin de suivre la croissance de chaque larve individuelle et de sa transformation en nymphe et en adulte. Les expériences ont été effectuées à 34°C et à une humidité relative de 100%.

- La croissance larvaire optimale a été obtenue avec un mélange de gelée royale de 80% dans le miel.

- Les expériences avec la gelée royale dégraissée par l'acétone et l'éther, ont donné un pourcentage juste satisfaisant et ont prouvé que l'acide decenoic n'a pas joué un rôle déterminant dans le développement larvaire.

-Les expériences utilisant la gelée royale traitée avec du benzène chaud ou avec de l'alcool en ébullition n'ont pas conduit à la survie des larves.

- La lyophilisation de la gelée royale n'a pas interféré sur le développement larvaire.

- L'addition des protéines à la gelée royale n'a pas améliorée la croissance larvaire, mais semble plutôt ralentir leur développement.

Mots clés : Etude *in vitro*, croissance, larves d'abeilles, régime alimentaire.

Abstract

This work was a study of the growth of the larvae of *Apis mellifera intermissa* fed on different diets and reared by techniques designed for the purpose of following the growth of each individual larva and its transformation into nymph and adult. The experiments were carried out at 34°C and at a relative humidity of 100%.

-Optimum larval growth was obtained with a mixture of 80% royal jelly in the honey.

-Experiments with royal jelly defatted by acetone and ether, gave a fair percentage of successes which showed that decenoic acid did not play a determining role in larval development.

Experiments carried out with royal jelly treated with warm benzene or with boiling alcohol gave no results, the jelly having deteriorated.

-Freeze-drying of the royal jelly did not interfere with larval development.

-The addition of proteins to the royal jelly did not improve, but seemed rather to slow down larval development.

Keywords: *In vitro* study, growth, larvae of bees, diet.

M. L. BERKANI

Agronomic National Institute
El-Harrach 16.200 Algiers
ALGERIA

ملخص

يرتكز هذا العمل على دراسة نمو يرقة النحل *Apis mellifera intermissa* بتتبع عدة أنظمة غذائية مختلفة تربي بطرق معينة لتتبع نمو و تحول كل يرقة إلى شرنقة على حدى. تجرى هذه التجارب في درجة حرارة 34°C و رطوبة 100%.

- لتحفيز النمو الأقصى تم تغذية اليرقة بمزيج من العسل و الغذاء الملكي ب 80%.

- كانت النتائج بالنسبة للنمو الملاحظة عند تغذية اليرقات بالغذاء الملكي منزوع الدهون بالكيتون و الايثر بدسبة منخفضة و أثبتت أن للحمض decenoic دور غير محدد في النمو اليرقي.

- لم تتحصل على أي نتيجة عند معالجة الغذاء الملكي بالبنزين المسخن أو الكحول المغلي.

- لم يؤثر الغذاء الملكي القابل للنوبان على نمو اليرقات.

- إضافة البروتينات للغذاء الملكي لم يحسن نمو اليرقات و لكن من الظاهر أنه يبطنه.

الكلمات المفتاحية : دراسة تجريبية، نمو، يرقة، النحل، نظام غذائي.

Dans la littérature il a été démontré que les ouvrières et les reines d'abeilles peuvent se développer à partir de larves identiques (Schirach, 1770 cité par Johansson [11]). Devant un grand nombre de contraintes et de difficultés expérimentales directes sur les larves dans leurs milieux naturels à savoir à l'intérieur des rayons ont amené un certain nombre de chercheurs à étudier le développement de la larve d'abeille *in vitro*.

Ainsi, Bertholf [5] a nourri des larves d'ouvrières de trois jours avec des solutions de sucre, dans une boîte de Pétri humidifiée, dans une étuve à 35°C.; il a obtenu des survies de l'ordre de 1 à 2 jours. Aucune larve n'a atteint le stade de nymphe. Velich [21] a élevé des larves d'ouvrières de 4 à 5 jours, dans une étuve, leur permettant de continuer leur développement sans aucune nourriture. En effet, à ce stade, les larves sont capables de se nymphoser sans s'alimenter d'avantage. Une technique similaire, utilisée par Haydak [8] fut elle aussi, couronnée de succès.

Les techniques de Von Rhein [18.19] ont été à la base de la plupart des méthodes d'élevage. Il fit une étude sur la différenciation en reines ou en ouvrières, en nourrissant des larves d'ouvrières d'âges variables , avec des aliments prélevés dans des cellules d'ouvrières ou de reines avec des mélanges de pollen ,de miel et d'eau. Beaucoup de nymphes et peu d'adultes, allant de l'ouvrière parfaite à l'individu ressemblant à une reine, furent obtenus au moyen de ces aliments.

Depuis 1955, plusieurs chercheurs tels que Mickael et Abramovitz [15], Weaver [22] et Butenandt et Rembold [6] mirent au point des méthodes d'élevage des larves *in vitro*. Hoffman [9.10] et Smith [20] ont réalisé une nouvelle méthode d'élevage pour tester divers échantillons de gelée royale fraîche ou conservée sur des larves venant juste d'éclore. Par cette technique les larves ont terminé leurs développements pour arriver finalement au stade d'insecte parfait soit en reines ou soit en ouvrières.

En 1983 et 1993, Aiteur [1 ,2] et en 2002 Malone [14] ont testé un mélange de miel et une fraction protéique du lait appelée caséine. Cette mixture a permis aussi d'obtenir un taux de réussite quant à l'obtention de reines d'abeille *in vitro*.

Berkani et Bouchoureb [4] mirent au point une technique d'alimentation des jeunes larves d'abeilles destinées à l'élevage artificiel de reines .Cet aliment présenté se compose de gelée royale diluée à différents taux d'eau (25,35 et 50%) .Elles ont constaté que la gelée royale pure donne des taux de réussite moindre que celle qui a été diluée.

Nous nous sommes intéressés à ces expériences sur l'élevage de larves d'abeilles, dans le but de découvrir quelles étaient les meilleures conditions expérimentales *in vitro* pour la croissance larvaire et d'aboutir à des sujets adultes de la race *Apis mellifera intermissa*

C'est dans ce contexte que nous nous penchons sur l'étude des régimes alimentaires qui se rapprochaient le plus des conditions naturelles, à savoir la gelée royale et le miel puis avec de gelées royales traitées et avec des mélanges contenant des protéines comme le pollen et la caséine.

MATERIEL ET METHODES

Le but essentiel dans l'élevage des larves d'abeilles *in vitro* est de mettre au point une technique satisfaisante pour obtenir des reines ou des ouvrières d'abeilles adultes à partir de jeunes larves communes en contrôlant les conditions expérimentales des mesures préalables et des observations à l'intérieur des ruches servant de base à la technique d'élevage. Les résultats anciens d'un certain nombre de chercheurs ont été d'une grande utilité dans la réalisation de cette étude.

Méthode

Nous nous sommes attachés à suivre la croissance des larves d'*Apis mellifera intermissa* suivant des types de régimes différents en tenant compte du taux de mortalité afférent à chaque type de nourriture.

Les régimes alimentaires présentés aux larves sont les suivants :

- a- de la gelée royale pure ou diluée à de l'eau distillée,
- b- du miel pur
- c- mélange de gelée royale et de miel à différents pourcentages,
- d- mélange de miel et de pollen,
- e- de la gelée royale dégraissée par l'acétone mélangée à du miel.
- f- de la gelée royale dégraissée par l'acétone et le benzène et mélangée à du miel,
- g- de la gelée royale dégraissée par l'acétone et l'éther et mélangée à du miel,
- h- de la gelée royale dégraissée par l'alcool bouillant et mélangée aussi à du miel,
- i- de la gelée royale lyophilisée avec du miel,
- k- de la caséine vitaminée et du miel.

Technique d'élevage des larves

Il est à signaler que pour toutes ces expériences, il a été fait appel à l'utilisation de larves de 0 à 24 heures. Ces dernières sont très petites, non encore enroulées, et le plus souvent voisines d'œufs non encore éclos. Pour déterminer l'âge des larves, il a été fait appel à la méthode de travail de Myser [17] qui permet de le préciser grâce à la position et à la forme des bougeons alaires.

Les larves sont disposées sur quelques gouttes de nourriture au fond d'une cupule de 9 mm de diamètre, creusée dans une plaque de cire. Ces plaques ne comportent que 3 cupules .Ces dernières ont un diamètre sensiblement égal à celui d'une cellule d'ouvrière, et la larve se retrouve donc dans son milieu habituel. Cette méthode a été employée par Hoffman [9] qui utilisait des cupules de cire individuelles.

Ainsi au cours de chaque expérience, 18 larves, d'âges sensiblement identiques, ont été étudiées et soumises au même régime alimentaire et aux mêmes conditions expérimentales.

Les boîtes de Pétri sont placées dans une étuve, à la température constante de 34°C. Celles ci renferment des plaques de cire ayant leur diamètre qui reposent sur du coton hydrophile saturé d'eau.

Les boîtes de Pétri sont empilées les unes sur les autres de manière à avoir exactement la même température pour l'ensemble des expériences.

Toutes les 24 heures, les larves sont transférées dans de nouvelles boîtes contenant des cupules de cire propres avec de la nourriture fraîche. L'aliment est placé dans l'étuve à 34°C. (30) à (60) mn avant le transfert, afin d'avoir la même température que les larves transférées .Il est à signaler qu'au cours des expériences, les nourritures sont conservées dans un réfrigérateur à 5°C. Les larves sont transférées avec une aiguille de greffage lorsqu'elles sont jeunes, ou avec des pinces souples lorsqu'elles sont plus âgées.

Lors de ces transferts, le soin à prendre est de replacer les larves dans leurs positions initiales car des expériences de Smith [20] ont montré que des larves retournées quatre fois par jour présentaient une mortalité plus grande que

celle des larves transposées aussi souvent, mais sans être retournées.

Ces manipulations sont faites le matin et la nourriture distribuée à la pipette est largement suffisante pour les 24 heures.

Les mortalités sont notées au cours de ces transferts.

Lors de cette technique, il a été procédé à la pesée de toutes les larves

L'ensemble des 18 larves n'atteint pas le stade de la nymphose ; certaines meurent au cours de l'expérience. Ceci permet de mettre en évidence deux phénomènes :

- a) La mortalité : c'est le rapport du nombre de nymphes ou d'adultes au nombre initial de larves ;
- b) La croissance : une courbe représentant l'évolution du gain de poids de la larve en durant la période considérée.

Dans l'étude, seule les courbes de croissance des larves ayant atteint le stade de nymphe ou d'imago ont été utilisées.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Croissance des larves

La croissance des larves a été étudiée en fonction des types d'aliments distribués.

- 1) Nourriture à base de gelée royale pure ou diluée :

Dans les conditions naturelles à l'intérieure d'une ruche, toutes les larves de moins de trois jours sont nourries de gelée royale. Ensuite, les larves royales continuent à être alimentées avec cette même substance tandis que les larves d'ouvrières reçoivent une nourriture moins riche composée de miel et de pollen. Nous avons constaté que les larves nourries de gelée royale diluée (10 % d'eau distillée) grossissaient mieux que celles élevées avec de la gelée royale pure .Cela a été aussi prouvé par l'expérience de Berkani et Bouchouareb [4].

- 2) Nourriture à base de miel seulement :

Il a été constaté que la croissance des larves est impossible sur une telle nourriture car celle-ci fermente.

L'adjonction de quelques traces de gelée royale supprime la fermentation, mais ne permet toujours pas le développement de l'insecte.

- 3) Mélanges de gelée royale et de miel :

Sachant que la gelée royale donne de meilleurs résultats à l'état dilué , alors que le miel, très hygroscopique , se dilue dans des proportions considérables , à cet effet , nous avons jugé qu'un mélange de ces deux substances donnerait une nourriture larvaire de consistance adéquate .

Les larves ont été nourries avec des mélanges dont on a fait varier le pourcentage de gelée royale .Le résultat est porté sur la figure 1.

Les courbes se répartissent en un véritable éventail ce qui montre clairement que la croissance est d'autant plus rapide que la quantité de gelée royale contenue dans le mélange est plus grande, et ceci jusqu'à 80%. Pour les mélanges contenant plus de 80%de gelée royale, la

croissance est légèrement plus faible. Si nous comparons la courbe obtenue avec de la gelée royale à 100% , aux résultats des expériences faites avec les gelées royales pures ou diluées ,nous constatons que la croissance des larves est la même. Nous avons là, une fois encore, la confirmation que la gelée royale diluée est plus assimilable par les larves d'ouvrières qu'elle ne l'est à l'état pur.

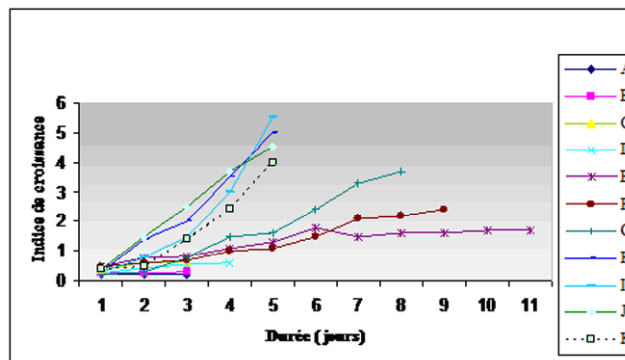


Figure 1 : Croissance des larves en fonction du pourcentage de gelée royale dans le miel.

Ces résultats sont résumés de la manière suivante : on porte sur un graphique, en fonction du pourcentage de gelée royale du mélange, la vitesse moyenne de croissance, obtenue en mesurant la pente des courbes de croissance entre leurs points extrêmes .On obtient la figure 1 qui laisse paraître un maximum net pour le mélange à 80% de gelée royale.

Compte tenu de ces observations, la courbe de croissance des larves nourries avec le mélange à 80% de gelée royale dans le miel a été prise comme référence pour toutes nos expériences.

Le lot A de larves a reçu du miel pur (A) .Les autres lots de larves ont reçu des pourcentages de gelée royale comme suit :

B(15%) ,C(30%) ,D (35%) ,E (45%) ,F (50%) , G(60%), H (70%), I (80%) ,J (90%) et K (100% de gelée royale pure).

- 4) Miel et pollen

Avec 90% de miel et 10% de pollen, le développement des larves est très difficile.

- 5) Gelée royale dégraissée par l'acétone

Traitement : Une petite quantité de gelée royale est épuisée à froid par une grande quantité d'acétone. La partie insoluble est de nouveau traitée par l'acétone et ceci plusieurs fois de suite afin que les élément lipo-protidiques soient entièrement détruits .Quand le liquide surnageant est limpide, le précipité est séché. On obtient une fine poudre blanche qui est reprise par l'eau (50% de son poids) afin d'obtenir une pâte homogène .Cette dernière n'est autre que de la gelée royale partiellement délipidée dans laquelle est éliminée en grande partie l'acide hydroxy-10 décène-2 oïque , antibiotique de la gelée royale, dont les propriétés

bactériostatiques et antibiotiques ont été mise en évidence par Mac Cleskey et Melampy [13], De Groot [7] et Lavie [12],

Observation :

- a) Mélange à 30% de gelée royale dégraissée : la croissance des larves reste très faible, comme elle l'était pour le même mélange non traité.
- b) Mélange à 50% de gelée royale dégraissée dans le miel : le développement des larves nourries avec ce mélange est identique à celui des larves nourries avec ce même mélange non dégraissé, mais reste très inférieur à celui des larves élevées sur le mélange témoin (fig.2).
- c) Mélange à 80% de gelée royale dégraissée dans le miel :
- d)

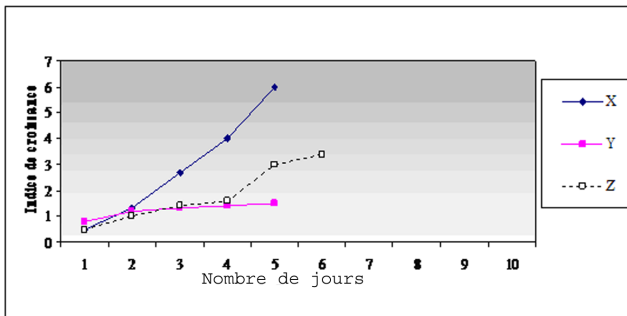


Figure 2 : Croissance des larves élevées sur un mélange à 50% de gelée royale dégraissée par l'acétone dans le miel
 X : Mélange témoin (80% de gelée royale), Y : Mélange à 50% de gelée royale dans le miel, Z : Mélange à 50% de gelée royale dégraissée par l'acétone dans le miel

La croissance des larves élevées sur le mélange à 80% de gelée royale délipidée dans le miel est plus importante que celle qui l'a été sur le mélange de gelée royale non traitée (fig. 3).

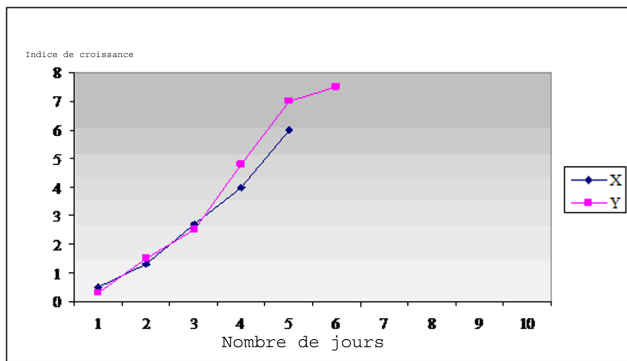


Figure 3 : Croissance des larves élevées sur un mélange à 80% de gelée royale dégraissée par l'acétone dans le miel
 X : Mélange témoin (80% de gelée royale), Y : Mélange à 80% de gelée royale dégraissée par l'acétone dans le miel

Un certain nombre de larves ont atteint un développement suffisant jusqu'à l'état adulte.

6) Gelée royale dégraissée par l'acétone et le benzène : La gelée royale est traité par l'acétone suivant la méthode

décrite précédemment, et la poudre blanche obtenue est à son tour traitée par un excès de benzène, à chaud et à reflux. Le précipité est filtré et séché. Pour l'utilisation, on reprend cette poudre avec de l'eau distillée (50% de son poids), afin d'avoir une pâte homogène.

Observation : Cette gelée royale traitée, donnée à l'état pur, ne permet pas le développement des larves. Aucune observation n'est possible concernant la croissance des larves.

7) Gelée royale dégraissée par l'acétone et l'éther : Le principe de traitement de la gelée royale est identique que précédemment. La poudre blanche obtenue est épuisée par l'éther afin de dissoudre les lipides non solubles dans l'acétone. La poudre obtenue est reprise avec de l'eau distillée (50% de son poids), afin d'avoir une pâte homogène utile aux expériences.

Observations : La Gelée royale traitée par l'acétone et l'éther a été donnée à des larves âgées de 0 à 24 heures, mélangée à 20% de miel.

La croissance de larves élevées sur le mélange expérimental à 80% de gelée royale délipidée, dans le miel, est sensiblement identique à celle des larves élevées sur le mélange contenant 80% de gelée royale non traitée dans le miel (fig.4).

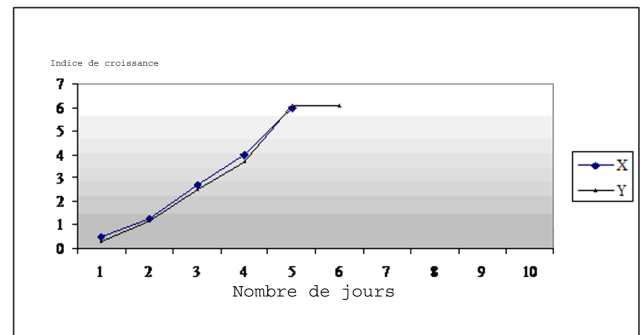


Figure 4 : Croissance des larves élevées sur un mélange à 80% de gelée royale dégraissée par l'acétone et l'éther dans le miel
 X : Mélange témoin (80% de gelée royale), Y : Mélange à 80% de gelée royale dégraissée par l'acétone et l'éther dans le miel

8) Gelée royale dégraissée par l'alcool bouillant : Une petite quantité de gelée royale est à ébullition dans une grande quantité d'alcool, et ceci trois fois de suite. La poudre obtenue est utilisée après avoir été reprise par l'eau distillée (50% de son poids).

Dans ce cas, les larves nourries par cet aliment sont mortes le lendemain.

9) Gelée royale lyophilisée : Cette substance a été utilisée en lui ajoutant 20% de miel. La croissance des larves élevées sur le mélange de gelée royale lyophilisée dans le miel, est sensiblement la même que celle des larves nourries de mélange témoin, bien que toujours un peu inférieure (fig. 5). Un certain nombre de larves ont terminé leur développement larvaire et achevé leur nymphose pour atteindre le stade adulte.

10) Gelée royale avec de la caséine : Les expériences sur la gelée royale dégraissée par l'acétone ou par l'acétone et l'éther, ayant donné des résultats intéressants, avec l'obtention de quelques adultes, nous nous sommes demandés si un mélange synthétique de protéines et de sucres ne permettrait pas le développement larvaire. La protéine généralement utilisée dans les régimes synthétiques étant la caséine, c'est à cette protéine que nous avons eu recours. Pour ne pas faire entrer en jeu de nombreux facteurs, nous avons utilisé une caséine vitaminée.

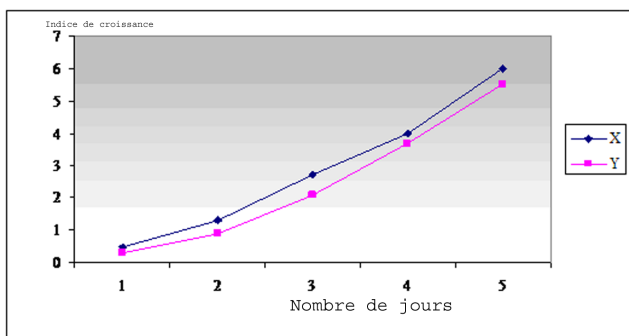


Figure 5 : Croissance des larves élevées sur un mélange à 80% de gelée royale lyophilisée dans le miel.
X : Mélange témoin (80% de gelée royale), Y : Mélange à 80% de gelée royale lyophilisée dans le miel

La caséine utilisée se présente sous la forme d'une poudre à laquelle une certaine quantité d'eau distillée lui est ajoutée jusqu'à l'obtention d'une pâte. Il est à signaler que cette pâte n'est pas homogène ; les grains de caséine gonflent dans l'eau mais restent séparés.

Observation : Il est à constater qu'un mélange de caséine et de miel ne permet pas le développement larvaire et que cette nourriture fermente facilement. Afin de limiter cette fermentation, le rajout de 10% de gelée royale est indispensable, mais la croissance des larves reste faible.

Afin de préciser l'action de la caséine sur le développement des larves, une série d'expériences a été réalisée par l'utilisation de mélanges à 50% et 20% de caséine, vitaminée ou non, dans la gelée royale. Les résultats portés sur la figure 6, montrent que la croissance semble peu perturbée mais le développement reste incomplet.

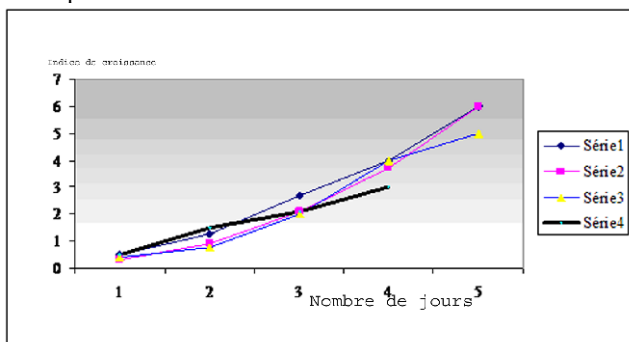


Figure 6 : Croissance des larves élevées sur des mélanges à 50 % et 80% de gelée royale dans la caséine

Série 1 : Mélange témoin (80% de gelée royale)

Série 2 : Mélange à 50% de caséine vitaminée dans la gelée royale

Série 3 : Mélange à 50% de caséine non vitaminée dans la gelée royale

Série 4 : Mélange à 80% de gelée royale dans la caséine

Mortalité, nymphose et imago

Les expériences réalisées avec le miel pur, le miel et le pollen, la gelée royale dégraissée par l'acétone et le benzène, la gelée royale dégraissée par l'alcool bouillant et la caséine avec le miel, n'ont donné aucun résultat, car les larves mourraient rapidement, dans les trois premiers jours. Il y avait un taux de mortalité de 100%, tandis que les autres types d'aliments ont permis aux larves de se développer. Les résultats (proportions de nymphes et d'adultes obtenus) sont résumés dans le tableau 2.

CONCLUSIONS

De cette série d'expériences, il ressort les faits suivants :

- La gelée royale, pour être parfaitement assimilée, doit être diluée dans l'eau ou dans une substance hygroscopique comme le miel. Dans ce dernier cas, les proportions optimales semblent être 80% de gelée royale et 20% de miel.
- L'addition de pollen dans la nourriture, réalisée naturellement dans la colonie à partir du 3^e jour, n'est pas supportée par les larves durant les premiers jours de leur croissance.
- L'acide hydroxy-10 décène-2 oïque, acide gras caractéristique de la gelée royale, ne joue pas un rôle déterminant dans le développement larvaire. Ses qualités antibiotiques limitent ou suppriment la fermentation de l'aliment, mais il semble qu'un traitement par l'acétone et l'éther, tout en éliminant cet acide, stérilise la gelée royale et bloque le développement des germes.
- L'effet du traitement par l'alcool bouillant peut s'expliquer ainsi : sous l'action de la chaleur, glucides et lipides se décomposent en donnant des substances non assimilables.
- La gelée royale lyophilisée conserve toutes ses propriétés nutritives.
- Une nourriture composée presque uniquement de sucre, comme le miel, ou d'un mélange quelconque de protéines et de sucres tel que la caséine et le miel, ne peut suffire à assurer le développement des larves. L'addition de vitamines à ce mélange ne modifie pas ces conclusions.
- L'utilisation de la gelée royale additionnée à de l'eau peut garantir un taux de réussite satisfaisant dans les élevages de reines d'abeilles.

Tableau 1 : Différents travaux sur l'élevage *in vitro* des larves d'*Apis mellifera*.

Auteurs	Age des Larves utilisées	Nourriture et matériel	Conditions expérimentales	Résultats
BERTHOLF [5]	3j	Boîte de Pétri Solution de sucre	35°C 100% H R	Larves vivant 2 à 3j. Pas de nymphes
VELICH [21]	4 à 5j	Pas de nourriture	34°C	ouvrières
VON RHEIN [18]	2 à 4j	Différents régimes. Boîte de Pétri	33 à 35°C	ouvrières
WEAVER [22]	36h	Tubes en verre G.R conservée à 5°C pendant 15 jours	34°C 75% HR	2 reines ouvrières
MICHAEL et ABRAMOVITZ [15]	3j	Boîte de Pétri + coton absorbant. Solution 25% miel et 10% extrait levure déshydratée	34°C 100% HR	ouvrières
HOFFMANN [9]	1 à 2j	G.R conservée à 4°C, mélange de nourriture	35°C 100% HR	22,6% nymphes
SMITH [20]	0 à 24h	Boîte de porcelaine G.R fraîche ou conservée	34,5°C 196% HR	32,3% nymphes 25,4% adultes
AITEUR [2]	4j	Boîte de nuclei Miel + caséine	35°C	75% ouvrières
BENATTIA et KHELOUI [3]	5j	Boîte de nuclei	35°C	45% ouvrières
BERKANI et BOUCHOUAREB [4]	4j	Ruchette Langstroth Gelée royale diluée à 50%	35°C	75% reines adultes

Tableau 2 : Comparaison des résultats obtenus lors de nos expériences avec celles de Smith [20]

	Expérience de Smith [20]	Mélange à 80% de gelée royale et 20% de miel	Mélange à 80% de gelée royale dégraissé par l'acétone et 20% de miel	Mélange à 80% de gelée royale dégraissé par l'acétone l'éther et 20% de miel	Mélange à 80% de gelée royale lyophilisée et 20% de miel	Caséine 20% + gelée royale 80%
Larves ayant terminé leur croissance	65,4%	51%	64,7%	64,7%	50%	27,7%
Nymphes	32,3%	23,4%	29,3%	17,6%	11%	5,5%
Adultes ou imago	25,4%	11%	17,6%	0	11%	0

REFERENCES

- [1]- Aiteur R., 1983. *Essais sur les différents nourrissements des abeilles*. Mémoire ing , Inst.nati.agro.,El Harrach,71p.
- [2]- Aiteur R., 1993. *L'alimentation de l'abeille Tellienne à l'aide de pollen et de produits de remplacement*. Thèse de magister , Inst.nati.agro.,El Harrach,103p.
- [3]- Benattia F., et Kheloui A., 1996. *Essai de remplacement du pollen dans l'alimentation de l'abeille Tellienne par le lait écrémé*. Mémoire ing , Inst.nati.agro.,El Harrach,75p.
- [4]- Berkani N ., et Bouchoureb B,2006. *Etude de développement de deux types d'essaims précoces conduits avec reines en élevage naturel et artificiel*. Mémoire ing , Inst.nati.agro.,El Harrach, pp35-45.
- [5]- Bertholf L. M., 1927. Utilization of carbohydrates as food by honeybee larvae. *J. Agric. Res.*, **35**, pp 429-452.
- [6]- Butenandt A.,und Rembold H., 1957. Ueber den Weisenzellenfuttersaft der Honigbiene. Isolierung. Konstitutiobsermittlung und Vorkommern der 10-Hydroxy-2-deceasatire. *Hoffe seyler's Z.*, **308**, pp 284-289.
- [7]- De GrootR A.P., 1952. "Amino acid requirements for growth of the honeybee". *Glean. Bee Cult.*, **67**, 740-742 ; **68**, pp 24-26.
- [8]- Haydak M. H., 1939. Food and development of the worker and queen honeybee *.glean,Bee Cult.*,pp 67-740.
- [9]- Hoffman I., 1956. Die Auzucht weiblicher Biennenlarven (*Apis mellifica L.*) ausserhalb des Volkes. *Z. Binnnenforsch .*, **3**, pp 134-138.
- [10]- Hoffman I., 1960. Rearing worker honeybee larvea in an incubator *.Bee World*, **41**, pp 10-11.
- [11]- Johansson S.,1954. Eine natürliche Geschichte der bienenkönigin Drachsted. Budissen.Cited , *Verh .dtsh.Zool .Ges* .pp21-54.
- [12]- Lavie P., 1960. Les substances antibactériennes dans les colonies d'abeilles (*Apis mellifica L.*). *Ann de l'abeille*, **3**, pp 21-36.
- [13]- Mac Cleskey ., and Melampy R.M., 1939.Bactericidal properties of royal jelly of honeybee. *J.Econ.Ent .*, **32**.pp 581-587.
- [14]- Malone A. 2002. Effects of ingestion of a biotin-binding protein on adult and larval honey bees. *Apidologie.*, vol. 33, n°5, pp. 447-458.
- [15]- Mickael A.S., and Abramovitz M ., 1955. A method of rearing honeybee larvea in vitro. *.J.Econ..Ent .*,**48**, pp 43-44.
- [16]- Milum V.G., 1930. Variation in time of development of honeybee *.J.Econ.Ent.*,**23**, pp441-447.
- [17]- Myser M.V., 1954. The larval and pupal development of the honeybee. *Ann.Ent.Soc.Am.*, **47**,pp683-711.
- [18]- Rhein W.V, 1933. Ueber die Entstebug des weiblichen Dimorphismusim Bienenstaate . *Roux.Arch. entw.Mech.Organ.*, **129** , pp601-655.
- [19]- Rhein W.V, 1951. Ueber die Entstebug des weiblichen Dimorphismusim Bienenstaate und ihre Biziehung zum Metamorphoseproblem *.Verh .dtsh.Zool .Ges.*, pp99-101.
- [20]- Smith M .,1959. Queen differentiation and the biological testing of royal jelly. *.Corn.Exp.Sta.Mém.*,356.p
- [21]- Velich A.V., 1930. EntwicklungsmehchanischeStudien an Bienenlarven. *Z.wiss.Zool.*, **136**,pp210-222.
- [22]- Weaver N.,1955. The rearing of honeybee larvea on royal jelly in the laboratory. *Science*, pp121-509.