

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجيلالي بونعامة - خميس مليانة

Université DJILALI BOUNAAMA de Khemis-Miliana

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

Département de la Biologie



Mémoire de Fin d'Etudes

En vue d'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Régulations Endocriniennes et Physiopathologies

Détermination de quelques caractéristiques morphologiques et histomorphométrique de larves d'abeille Apis mellifera intermissa soumises à de périodes de jeûne

Presente par :

M^{elle} FATHA Fatima Zahra

M^{elle} NADJRI Theldja

Soutenu le : Le 18- 07-2017, Devant le jury:

Présidente : M^r SAHRAOUI. H (MCB) U DB_KM

Promoteur : M^r BOUSSOUBEL AEK (MAA) U DB_KM

Examineur: M^r CHAOUAD B (MAA) U DB_KM

Examineur: M^r SAHRAOUI. H (MCB) U DB_KM

Année universitaire : 2016/2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

« وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا
وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ (68) ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ
فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ
أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ (69) » سورة النحل

صدق الله العظيم



Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nos avoir données la force, la volonté, et la patience durant toutes nos années d'étude.

*Tout d'abord, nous tenons tout particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre promoteur, **M. BOUSSOUBEL AËK** pour nous avoir guidé, encouragé, conseillé, tout en nous laissant une grande liberté dans la pratique de notre travail de recherche, tout en nous apportant son expérience indispensable dans les moments délicats.*

Nous tenons également à remercier tous les membres de notre jury d'avoir acceptées d'évaluer notre travail.

*Nous remercions **M.SAËRAOUI. H** d'avoir accepté de présider notre jury de soutenance.*

*Nous remercions aussi **M. CHAOUAD B** et **M.SAËRAOUI. H** pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés d'examiner ce travail.*

Nos sincères remerciements et gratitudes s'adressent à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation de licence et de master au sien de l'université de Khemis Miliana.

*Nous profitons aussi de cette occasion pour adresser nos remerciements à **Mme Benrabeh L**, pour ces orientations, ces conseils.*

Nous témoignons nos gratitudes à l'ensemble de l'équipe de service d'ana-pathologie de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Chlef (DSP Chlef).

*Nous remercions aussi **Mohamed Abdelhak belkacemi**, pour son soutien, ses conseils précieux et ses critiques qui nous ont aidés.*

Nous remercions toutes les personnes qui ont encouragés et soutenus de près ou de loin durant la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts:

A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents, leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.

A mes très chers frères : Billel, Abedelbasset, Abderrahman, en lui souhaitant tout le succès et tout le bonheur.

A tous mes amis qui ont rendu ma vie agréable et pleine de bons souvenirs.

A mon binôme, Theldja, pour tous les instants inoubliables que j'ai passé avec toi, je t'aime beaucoup.

A la promo de Master II en régulations endocriniennes et physiopathologies de 2016/2017.

A toute la famille : FATHA, BENZARGA et BESBASS.

A tous ceux qui j'aime....

Fatima Zahra



Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts:

À ma très chère mère et père, pour leurs soutient moral et leurs amour durant toute ma vie.

À mes chers frères et sœurs: Rachid, Cherki, Rafika, Khaira.

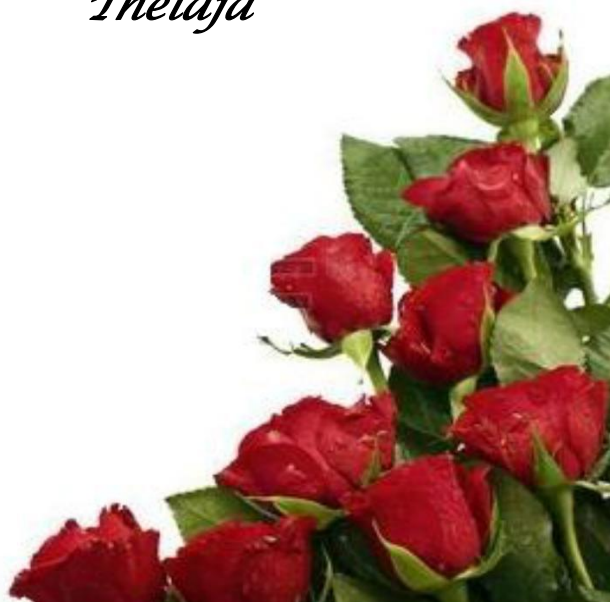
À toute la famille : NADJRI et CHEKRAR.

À mon binôme Fatima Zahra; pour tous les instants inoubliables que j'ai passé avec toi, je t'aime beaucoup.

À la promo de Master II en régulations endocriniennes et physiopathologies de 2016/2017.

À tous ceux qui me connaissent.

Thehdja



Résumé

Abréviations

Introduction 01

Partie 01: Synthèse bibliographique

I. Biologie et anatomie d'abeille	02
I.1. Répartition géographique des abeilles	02
I.1.1. Dans le monde	02
I.1.2. En Algérie	03
I.2. Anatomie générale de l'abeille adulte	04
I.2.1. Morphologie externe	05
I.2.2. Anatomie interne	05
I.2.2.1. L'appareil respiratoire	05
I.2.2.2. L'appareil circulatoire	05
I.2.2.3. L'appareil digestif et excréteur	05
I.2.2.4. Le système nerveux	05
I.2.2.5. Système endocrinien	06
I.2.2.6. Systèmes glandulaires	06
I.2.3. La colonie d'abeille	07
I.2.3.1. Organisation sociale d'une colonie	07
a) La reine ou la mère	08
b) L'ouvrière	09
c) Le mâle	10
I.2.3.2. La détermination des castes	10
II. Développement et communication chez l'abeille	11
II.1. Le cycle de développement	11
II.1.1. Le couvain ouvert	12
II.1.1.1. Le stade œuf	12
II.1.1.2. Les premiers stades larvaires	13
II.1.2. Le couvain operculé	15
II.1.2.1. Le cinquième stade larvaire (post-operculation)	16
II.1.2.2. Le stade nymphal	16
II.1.2.3. L'adulte naissant	17
II.2. La communication chimique chez <i>Apis mellifera</i>	17
II.2.1. Selon l'individu	18

a) Phéromones de la reine	18
b) Phéromones des ouvrières	19
c) Les phéromones de mâle	19
d) Les phéromones du couvain	19
II.2.2. Selon le comportement	19
a) Les phéromones attractives sexuelles	19
b) Les phéromones d'alarme	20
c) Les phéromones de recrutement	20
d) Les phéromones d'agrégation	21
e) Les phéromones de surface	21
<i>Partie 02 : Matériel et méthodes</i>	
I. Matériels	22
I. 1. Matériel Biologique	22
I. 2. Matériel non biologique	23
II. Méthodes d'études	24
II.1. Manipulation sur les larves	24
II.2. Etude histologique	24
a) Préparation des coupes histologiques	24
1. Fixation Histologique	24
2. La circulation	25
3. Inclusion et confection des blocs de paraffine	26
4. Confection et étalement des coupes	26
b) La Coloration:	27
c) Montage des coupes	28
d) Observation des coupes et acquisition des images	28
II.3. Etude morphométriques	29
II.4. Etude statistique	31
<i>Partie 03 : Résultats et interprétations</i>	
I. Résultats et Interprétations	33
I.1. Morphométrie des larves	33
I.2. Résultats histologiques	36
I.2.1. Histologie des larves soumises à de courtes périodes de jeûne	36
I.2.2. Histologie des larves soumises à de longues périodes de jeûne (4j-5j)	38
I.3. Morphométrie des coupes histologiques	43

I.3.1. Morphométrie du corps gras	43
I.3.2. Morphométrie des cellules épithéliales du tube digestif	47
I.3.3. Morphométrie de l'exuvie et de la cuticule des différents lots de larves	49
<i>Partie 04 : Discussion et conclusion</i>	
I. Discussion	51
II. Conclusion et perspectives	56
Références Bibliographiques	
Index	
Annexes	
Fiches techniques	
résumé	



Résumé

Un élevage expérimental de larves d'abeille *Apis mellifera intermissa* a été réalisé en les exposant à des périodes de faim allant jusqu'à 5 jours. Ce travail s'est intéressé à l'étude de la croissance, du développement et des transformations physiologique de ces larves. Il présente les croissances linéaire et pondérale ainsi que les changements histologiques spécifiques du corps gras, du tube digestif moyen et du tégument. Un échantillonnage aléatoire a été effectué à partir de quatre lots de larves (affamées pendant 12h, 48h, 4 et 5 jours). Les larves, préalablement fixées au Bouin aqueux, sont numérisées puis mesurées par analyse d'image. Des coupes histologiques sont ensuite confectionnées et mesurées suivant certains paramètres morphométriques.

Tous les paramètres externes (poids, taille, surface) présentent un rapport positif entre eux, avec une évolution pondérale des larves affamées de 4j plus lente ($L5=13 \times L1$) que celle des larves moins affamées ($L5=669 \times L1$). **Les périodes de faim ont beaucoup plus d'influence sur l'évolution du poids des larves que sur leur taille et leur surface.**

Nos résultats histologiques montrent la présence des deux types de cellules (trophocytes et œnocytes) au niveau du corps gras avec **négativité de coloration de Trichrome de Masson, concernant le collagène**. Chez les lots qui ont subi une période de jeûne plus longue, ces cellules présentent une diminution dans leur surface cytoplasmique **qui laisse prédire qu'il y a épuisement des réserves sans qu'il y'ait arrêt de l'activité cellulaire (ralentissement)**. Une **continuité de l'activité épithéliale** est aussi observée au niveau du mésentéron, même dans les conditions de jeûne prolongé. Par contre **le rabdorium et/ou la matrice péritrophique est interrompue** d'un endroit à un autre. Une augmentation de l'épaisseur de la cuticule (et exuvie) **ce qui ralentira le phénomène de mue de croissance chez ces larves d'abeille affamées**

Mots-clés : Abeille, larve, corps gras, trophocyte, œnocytes, tube digestif moyen, cuticule.



Abstract

An experimental breeding of larval honeybee *Apis mellifera intermissa* was carried out by exposing some of them to hungry periods of up to 5 days. This work was interested in studying the growth, development and physiological transformations of these larvae. It presents the linear and weight growths as well as the histological changes specific to the fat body and Mid-gut ant cuticle. Random sampling was carried out from a batch larvae (hungry for 1h, 48h, 4 and 5 days). The larvae, previously fixed to the aqueous Bouin, were digitized and then measured by image analysis. Histological sections are then made and measured according to morphometric parameters.

All the external parameters (weight, size, area) show a positive relationship between them, with a weight change slower of hungry larvae of 4j ($L5 = 13 \times L1$) than that of less hungry larvae ($L5 = 669 \times L1$). Times of hunger have much more influence on the evolution of larval weights than on their size and surface.

Our histological findings reveal the presence of two types of cells (trophocytes and oenocytes) in the Fat body with negativity of topographic (Hematoxylin-Eosin, Masson Trichrome).

In batches that have undergone a longer period of fasting, these cells exhibit a decrease in their cytoplasmic surface area, which predicts that there is depletion of reserves without stopping cell activity (slowing down). Continuity of epithelial activity is also observed at mesenteric level, even under prolonged fasting conditions. On the other hand, the raborium and / or the peritrophic matrix are interrupted from one place to another. An increase in the thickness of the cuticle (exuviae) which will slow down the phenomenon of growth moult in these hungry honeys bee larvae

Key-words: Larvae of honeybee, Fat body, Trophocyte, Oenocyte, Midgut, Cuticle.

ملخص :

لقد اجري بحث تجريبي لتربيته يرقات نحل العسل من خلال تعريض بعضها لفترات تجويع لمدة تصل إلى 5 أيام. قد ركز هذا العمل على دراسة النمو، التطور والتغيرات الفيزيولوجية لهذه اليرقات. وهو يعرض النمو الخطي والوزن وكذلك التغيرات النسيجية محددة في الجهاز الهضمي والأنسجة الدهنية و القشرة الخارجية وقد تم أخذ عينة عشوائية من الكثير من اليرقات خاضعة لتجويع لمدة تتراوح بين 12 ساعة إلى 5 أيام. تم تثبيت اليرقات في محلول بوبن والقيام بتعدد و قياس بواسطة تحليل الصورة. وضعت مقاطع نسيجية وقيست تبعاً لبعض المعايير الظاهرية. جميع المعايير الخارجية (الوزن، الحجم والمساحة السطحية) لها علاقة إيجابية فيما بينها مع تغيير وزن اليرقات بوتيرة بطيئة بالنسبة لليرقات ذات فترات التجويع الطويلة مقارنة مع الحجم والمساحة السطحية. كشفت نتائجنا النسيجية عن وجود نوعين من الخلايا الدهنية trophocytes و oenocytes على مستوى الجسم الدهني مع سلبية البقع الطبوغرافية Hématoxyline éosine –Trichrome de Masson. لوحظ عند العينات الجائعة انخفاض في المساحة الهيولية للخلايا الذي نبأنا باستنزاف دون وقف النشاط الخلوي (تباطؤ). لوحظ تواصل في النشاط الخلوي للأنبوب المعوي حتى في فترات التجويع الطويلة وأيضاً انقطاع للمادة المحاذية للتغذية. ولوحظ ارتفاع في سمك القشرة الخارجية يرافقه ارتفاع في عدد الخلايا الدهنية oenocytes المحاذية لهذه القشرة مع تطويل فترة التجويع، مرادفة للزيادة في إفراز الهيدروكربونات.

المفتاح: يرقة النحلة، الجسم الدهني، oenocytes، trophocyte، الأنبوب المعوي الاوسط، القشرة الخارجية.



Abréviations

APS	Acide Périodique de Schiff
BEP	Brood Ester Pheromone
CGP	Corps gras pariétal
CGPe	Corps gras péri-viscéral
Cu	Cuticule
Ex	Exuvie
He	Hémocoèle
Histo-kit	Kit histologique
HE	Hématoxyline-éosine
L1	Première stade larvaire
LDs	Lipide cytoplasmique
Lu	Lumière
Oe	Oenocyte
PGMR	Phéromone de la glande mandibulaire de la reine
QMP	Phéromone mandibulaire de la reine
REL	Réticulum Endoplasmique Lisse
S	Segment
TD	Tube Digestif
TM	Trichrome de Massonne
Tr	Trophocyte

INTRODUCTION



Introduction

Les insectes constituent le groupe zoologique le plus important de notre planète. Parmi eux nous trouvons l'abeille, qui est perçue comme un animal mystérieux et utile, elle a toujours suscité l'intérêt des plus grands naturalistes, depuis Aristote de l'antiquité jusqu'à Von Frisch au siècle dernier, dont les travaux ont été couronnés par un prix Nobel en 1973.

L'abeille est une espèce clé et tous les scientifiques s'accordent aujourd'hui pour dire que sa disparition entraînerait de graves problèmes pour la nature et donc pour l'homme (Garenry ., 1998). Les abeilles constituent une ressource fantastique au niveau mondial ; elle a une importance économique et environnementale. En agronomie, la pollinisation assurée par les abeilles augmente le rendement qualitatif et quantitatif de nombreuses plantes cultivées (Free ., 1970).

Chez les larves de cet insecte, le tissu adipeux est la source principale des protéines trouvées dans l'hémolymphe. Il y a un échange constant entre ce tissu et l'hémolymphe avec les phases alternées de sortie et l'absorption de protéines (Cruz-Landim ., 1983. Marx., 1987). Des études d'ultrastructure ont montré que quelques protéines de ce tissu ne sont pas synthétisées dans ses cellules, mais stockées puis consommées dans l'hémolymphe (Wyatt ., 1980).

Ce présent travail tente à élucider le rôle des cellules adipeuses en exposant des abeilles immatures (larves) à des périodes de jeûne. Des coupes histologiques seront faites avec des mesures morphométriques qui ciblent essentiellement trois structures (le corps gras, le tube digestif, le tégument). Ce manuscrit sera organisé comme suit :

- ✓ Une première partie est consacrée aux rappels bibliographiques actualisés abordant la biologie et la communication sociale chez l'abeille domestique *Apis mellifera*.
- ✓ Une deuxième partie consacrée au matériel et les méthodes utilisés dans l'exploration des données expérimentales.
- ✓ Une dernière partie pour discuter les résultats obtenus et pour conclure.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



I. Biologie et anatomie d'abeille

L'abeille fait partie de l'ordre des Hyménoptère regroupées dans la super famille des Apoidea (Medori et Colin ., 1982 ; Michener ., 2000). Elle est phylogénétiquement beaucoup plus proches des fourmis que des guêpes (Johnson et al., 2013) qui sont apparus il y a 45 millions d'années nettement avant l'homme (Daniel ., 1983). Cependant, certains paléontologues découvrirent leurs fossiles dans les ambres de la baltique depuis plus de 60 million d'années (Winston ., 1993).

Les premières abeilles seraient apparus lors de l'Eocène, suivis par les premiers individus du genre *Apis* pendant l'Oligocène (Kotthoff et al., 2011; Engel et al ., 2009). Les plus anciens fossiles du genre *Apis*, datent de l'Oligocène-Miocène pour l'Europe et du Miocène pour l'Asie, l'Afrique de l'est et les Etats-Unis (Engel et al ., 2009).

C'est Linné, en 1758 qui décrit pour la première fois l'abeille occidentale comme *Apis mellifera* qui vient du latin « mellis » miel et « ferre » porter. Le terme *mellifica* serait plus approprié puisque l'abeille ne fait pas que transporter le miel mais elle le produit à partir du nectar des fleurs butinées (Guerzou et Nadji., 2002; Terzo et Rasmont ., 2007).

Les plus anciens fossiles du genre *Apis*, datent de l'Oligocène-Miocène pour l'Europe et du Miocène pour l'Asie, l'Afrique de l'est et les Etats-Unis (Engel et al ., 2009).

L'espèce *Apis mellifera* comprend de nombreuses sous-espèces, distinguables par des caractères morphologiques et biologiques, ainsi que par leur répartition géographique (Le Conte ., 2011 ; Ruttner ., 1968). Parmi ces sous-espèces, on trouve *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis* (Biri ., 2010).

I.1. Répartition géographique des abeilles :

I.1.1. Dans le monde :

L'aire de répartition originelle d'*Apis mellifera* est le Kazakhstan et l'est de la Russie et le Moyen-Orient jusqu'à l'Afghanistan (Ruttner ., 1988). Son aire de répartition naturelle recouvre aussi l'Europe: l'Afrique et le Proche-Orient: mais suites aux importations dues notamment aux migrations humaines (figure 01), *Apis mellifera* est actuellement présente dans le monde entier (Bertrand ., 2013). Les autres espèces d'abeilles du genre *Apis* sont réparties en Asie, et en particulier dans le sud-est asiatique, sous des climats tropicaux (Ruttner ., 1988)

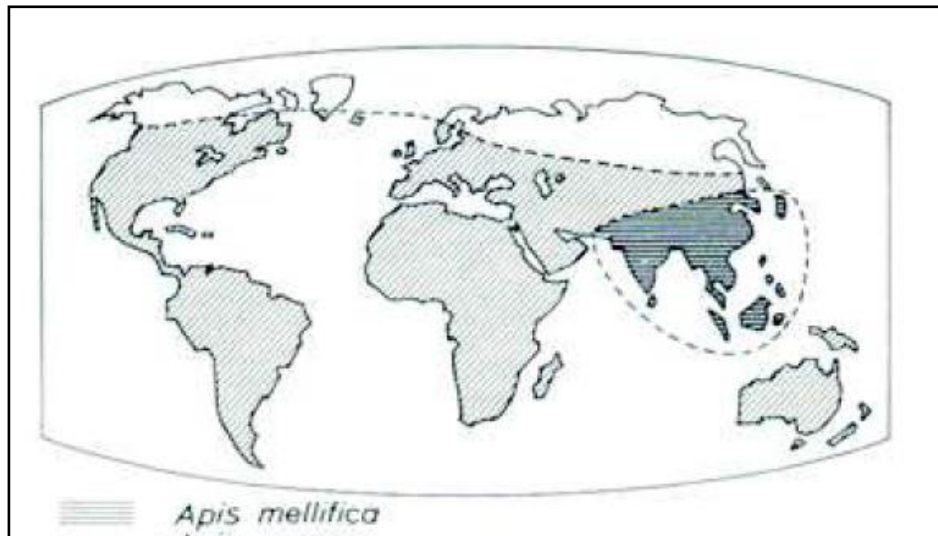


Figure 01 : Répartition d'*Apis mellifera* dans le monde (modifié Prost ., 2005).

I.1.2. En Algérie :

L'abeille Algérienne appartenant normalement à la race africaine est représentée en Algérie par deux races: *Apis mellifera intermissa* décrite par Buttel-Reepen en 1906 (Ruttner ., 1968) et *Apis mellifera sahariensis* (Haccour ., 1960). La première est la plus répandue et son aire de répartition s'étend à toute l'Afrique du Nord: Maroc, Tunisie, Algérie (Grissa et al., 1990; Barour et al., 2011; Loucif et al., 2014), et Lybie. (Le Conte ., 2011) plus précisément, elle est rencontrée au nord du Sahara algérien (figure 02) (Adam ., 1953; Bendjedid et Achou ., 2014). La seconde race est localisée au sud du Maroc et de l'Algérie Plus précisément, elle est rencontrée au sud-ouest de l'Algérie (Béchar, Ain Sefra) (figure 02) (Baldensperger ., 1932).



Figure 02 : La localisation d'*Apis mellifera* en Algérie (Lobreau-Callen et Damblon ., 1994)



I.2. Anatomie générale de l'abeille adulte :

I.2.1. Morphologie externe :

Du point de vue morphologique, le corps d'abeille se divise en trois parties : la tête, thorax et l'abdomen (figure 03). Il est entouré par une cuticule, une membrane externe de nature chitineuse dure formant un exosquelette recouvert de poils et renfermant différents organes vitaux (Ravazzi ., 2007; Biri ., 2010).

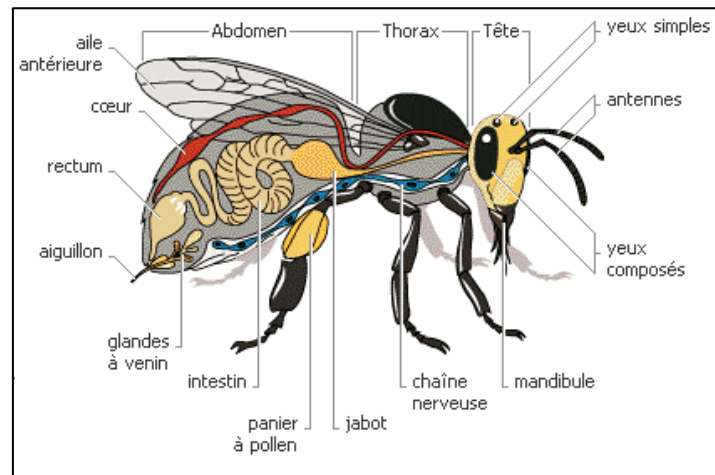


Figure 03: Morphologie externe de l'abeille femelle adulte (Hannebelle ., 2010).

I.2.1.1. La Tête :

C'est une capsule ovoïde (Le conte ., 2011) qui présente deux yeux de très grande taille, placés de chaque côté de la tête et trois ocelles. Ce sont trois petits yeux situés au centre de la tête (Figure 03). Aussi les antennes qui permettent la communication et les pièces buccales (Gustin ., 2008 ; Clément., 2010).

I.2.1. 2. Le Thorax :

C'est la partie la plus dure du corps (Riondet ., 2013). Il assure la locomotion de l'abeille car il porte trois paires de pattes et deux grandes ailes et deux petites (Figure 03) (Clément ., 2010), les ailes antérieures et postérieures s'accrochent grâce à des crochets (Pohl ., 2008). Le thorax contient des muscles puissants et trois paires d'orifices respiratoires appelés stigmates (Le conte ., 2011).

I.2.1. 3. L'abdomen :

C'est la partie la plus grosse de l'abeille (Figure 03), Il est composé de 7 anneaux mobiles qui peuvent s'allonger suivant le besoin (Frères et Guillaume ., 2011). Il renferme les systèmes respiratoire, circulatoire, digestif, et un certain nombre de glandes. Il se termine par l'appareil vulnérant, l'appareil reproducteur et le rectum (Winston ., 1993).



I.2.2. Anatomie interne :

I.2.2.1. L'appareil respiratoire :

L'abeille possède un appareil respiratoire bien développé constitué de trachées s'ouvrant sur la surface du corps au niveau de stigmates. Les échanges gazeux se feront directement entre le milieu extérieur et les organes par simple diffusion (Ioiriche ., 1979).

I.2.2.2. L'appareil circulatoire:

Le système circulatoire de l'abeille (figure 04) est un système ouvert caractérisé par l'absence de vaisseaux proprement dit et les organes baignent directement dans l'hémolymphe. Il est constitué uniquement d'un cœur dorsal et d'une aorte reliant la tête à l'abdomen (Winston ., 1993).

I.2.2.3. L'appareil digestif et excréteur :

Le système digestif de l'abeille (figure 04) se compose de trois parties : l'intestin antérieur, l'intestin moyen et l'intestin postérieur (Adam ., 2010). L'intestin antérieur comprend le pharynx, l'œsophage, le jabot, l'estomac proprement dit (Biri ., 2010). D'origine épidermique, l'intestin antérieur est constitué d'un épithélium aplati, recouvert d'une cuticule chitineuse (Faucon ., 1992). L'intestin moyen ou ventricule assure la digestion, et l'absorption, l'intestin postérieur composé du duodénum et du rectum. Le rectum est également extensible pour pouvoir stocker les excréments.

Le système excréteur de l'abeille (figure 04) n'est pas composé de reins, mais de tubes de Malpighi annexés au niveau du pylore (Winston ., 1993).

I.2.2.4. Le système nerveux :

Le système nerveux de l'abeille (figure 04) est constitué de deux ensembles complémentaires : Le système nerveux central ., avec le cerveau et la chaîne nerveuse ventrale (les ganglions) et le système nerveux stomatogastrique (Le conte ., 2011).

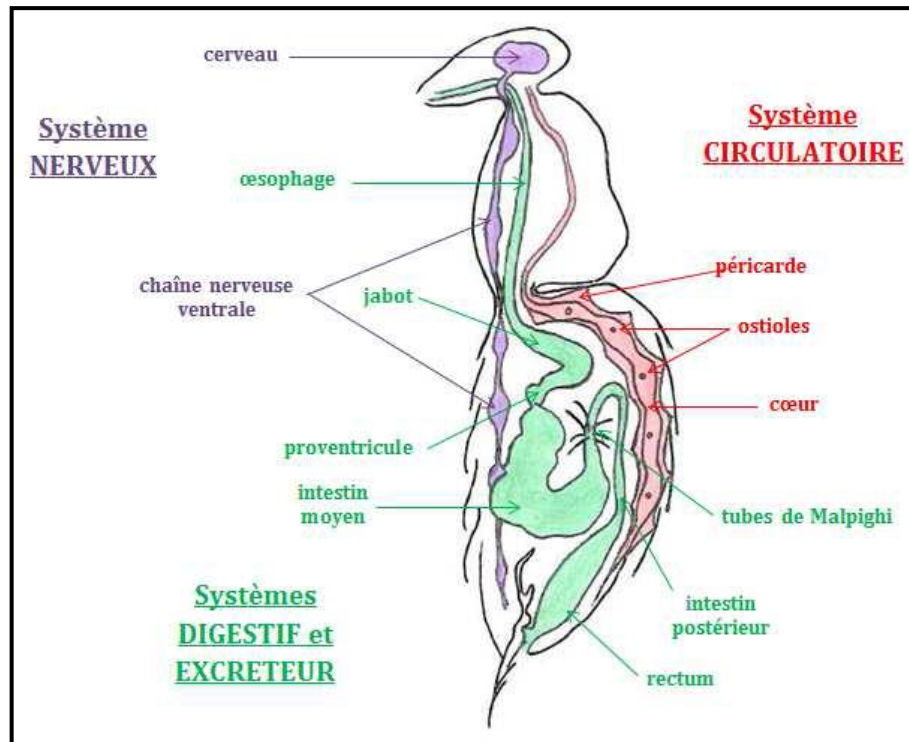


Figure 04 : Schéma de l'anatomie interne de l'abeille adulte (Paillot *et al.*, 1949).

I.2.2.5. Système endocrinien :

Le Système endocrinien comprend les hormones qui interviennent dans la régulation de la physiologie de l'abeille à de multiples niveaux (hormone juvénile, hormone de mue, ...). L'hormone juvénile intervient notamment dans l'évolution du système immunitaire chez l'abeille (Amdam *et al.*, 2005). Aussi, elle est sécrétée pendant le stade larvaire et impliquée dans le maintien des caractères larvaires. L'hormone de mue ou l'ecdysone pour le contrôle de la mue et de la métamorphose (Pedigo., 2002).

I.2.2.6. Systèmes glandulaires :

Le système glandulaire de l'abeille est complexe et varie en fonction de l'âge et du rôle de l'individu dans la ruche. Les principales glandes indépendantes sont présentées dans le tableau ci-dessous (tableau I).

Malgré de nombreuses recherches, il reste encore chez l'abeille des glandes dont le rôle est inconnu (Prost., 2005).

**Tableau I: Principales glandes chez l'abeille et leurs fonctions (Spürgin ., 2010)**

Glande	Localisation	Fonction
Glande salivaire	Une paire au niveau de la tête et une paire dans le thorax	Dissolution des sucres, transformation de la cire, fabrication des cellules pour le couvain
Glandes mandibulaires	Base des mandibules	Reine : production de phéromones, hormones d'attraction sexuelle Ouvrières : gelée royale, ferments, agents anti- agglomérant pour la transformation de la cire et de la propolis, phéromone d'alarme.
Glandes Hypophrygiennes	Dans la tête	Sécrétion gelée royale pour le couvain, la reine et les faux bourdons, ferments, stockage de substances en réserve chez les abeilles d'hiver
Glande de Nasanov	Entre la dernière et l'avant-dernière écaille Dorsale	Phéromone de marquage

I.2.3. La colonie d'abeille :

I.2.3.1. Organisation sociale d'une colonie:

Les abeilles domestiques sont des insectes eu-sociaux, c'est-à-dire qu'un individu seul ne peut pas survivre sans la colonie entière. En effet, trois castes structurent la société des abeilles : la reine, les ouvrières et les faux bourdons (figure 05) (Clément ., 2009).

Une colonie d'abeille compte environ 50.000 et 60.000 individus, parfois plus (Paterson ., 2008), dont une seule reine, et 0 à 6 000 mâles (présents uniquement d'avril à septembre) (Martin *et al.* ., 2001). Toutes ces castes d'abeilles sont nécessaires au bon développement de la colonie (Alberti *et Hänel* ., 1986 ; Martin *et al.* ., 2001).

Le nombre de cette population est variable en fonction de différents facteurs tels que le climat, la sous-espèce des abeilles et la quantité de ponte de la reine, en fonction de la taille et du stade de développement de la colonie (Le Conte ., 2011), et aussi selon la saison et selon l'état de santé de colonie (Frères *et Guillaume* ., 2011)

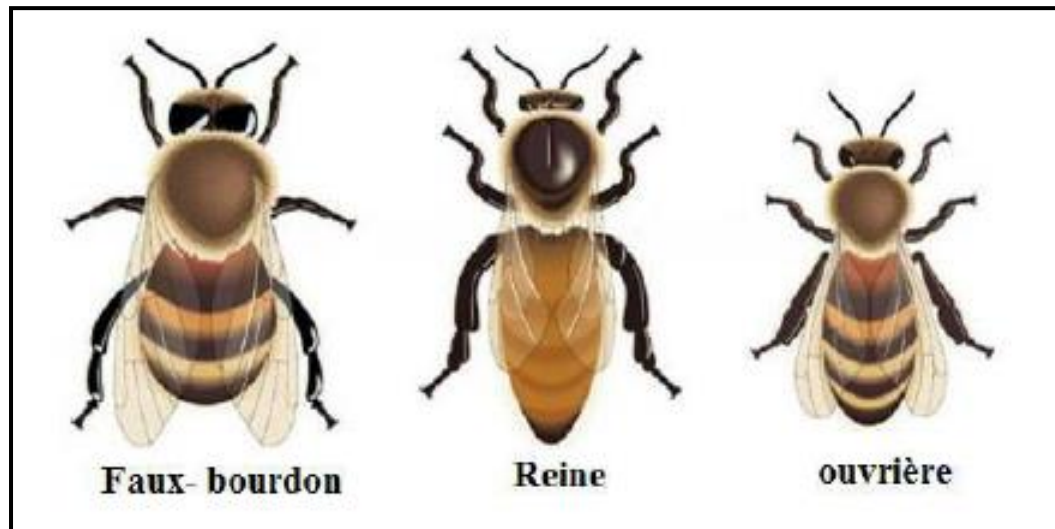


Figure 05. Schéma des trois castes de l'abeille (Rasolofoarivao ., 2014).

a) La reine ou la mère :

C'est la seule femelle fertile dans la ruche (Marchenay et Bérard ., 2007). Elle est indispensable à la vie de la colonie (Frères et Guillaume ., 2011).

Elle est plus grosse, et surtout beaucoup plus longue que les autres abeilles (figure 05), elle est de couleur brune foncée (Bellerose ., 1883). Elle pèse entre 178 et 298 mg (Winston ., 1993; Wendling ., 2012). Elle est facilement reconnaissable par son abdomen et son thorax qui est plus développés que ceux des ouvrières (Le conte ., 2011). Elle mesure en moyenne 16 mm de long et son thorax atteint 4,5 mm de diamètre (Biri ., 2010).

La reine a une durée de vie très longue par rapport à celle de l'ouvrière, elle est de quatre à cinq ans (Frères et Guillaume ., 2011; Fluri ., 1994).

La reine ne butine pas et ne construit d'alvéoles, pas plus qu'elle ne s'occupe de sa progéniture. La ponte est sa seule occupation pour en assurer la descendance (Winston 1987., Marchenay et Bérard ., 2007). La reine a outre son rôle de reproduction (la ponte des œufs), un rôle de réguler les activités de la colonie par la sécrétion de phéromones (Biri ., 2010; Vandame ., 1996).

La reine provient d'un œuf fécondé similaire à celui d'une ouvrière, mais pondue dans une cellule royale accrochée au rayons, La larve de reine est nourrie uniquement avec de la gelée royale (dont la composition complexe permet aux ovaires de se développer) (Marchenay et Bérard ., 2007), et naît seize jours après incubation dans une cellule ou alvéole royale. (Prost ., 2005).



La jeune reine atteint sa maturité sexuelle à cinq ou six jours. Elle entreprend alors un vol nuptial, parcourant jusqu'à 3 km pour atteindre un rassemblement de mâles. Jusqu'à vingt mâles, les plus vigoureux et rapides, la fécondent (Le conte ., 2011). Elle pond de 1500 à 2000 œufs par jour soit 200 000 œufs par an (Winston ., 1993).

b) L'ouvrière :

C'est une femelle stérile (Seeley ., 1983), dont l'appareil génital est atrophié (Clément ., 2009; Biri ., 2002). C'est la plus petite abeille de la ruche, une ouvrière mesure en moyenne 10 à 12 mm de long pour 4 mm de diamètre de thorax (Biri ., 2010; Ravazzi ., 2007). Elle pèse entre 81 et 151 mg (Wendling ., 2012), son corps est moins long que celui de la reine, son abdomen est moins proéminent et elle affiche souvent une couleur plus foncée et plus marquée. Les ouvrières ont moins de poils que la reine avec une anatomie adaptée au transport du pollen et de miel (Peacock ., 2008). Elles sont les plus nombreux individus de la ruche (Prost ., 2005).

Sa durée de vie est très variable selon la période de l'année, et forte différente selon que c'est l'hiver ou l'été (Frères et Guillaume ., 2011), environ de 15 à 70 jours pour les abeilles d'été et de 170 à 243 jours pour celles d'hiver (Fluri ., 1994).

La reine est indispensable à la vie de la ruche, mais du point de vue de l'apiculteur, l'ouvrière se révèle tout aussi importante (Ravazzi ., 2007), car elles accomplissent tous les travaux de la ruche. La distribution des différentes tâches à l'intérieur de la ruche se fait en fonction de la démographie (polyéthisme d'âge). Les jeunes ouvrières occupent des simples travaux à l'intérieur de la ruche (Seeley ., 1983), elles s'occupent entre autres, de la construction des bâtisses, du nettoyage des alvéoles après la naissance des abeilles, de la nourriture des larves, de l'accumulation des réserves de miel et de pollen, de la transformation dans leur jabot du nectar et du miel, etc (Philippe., 2007). et les plus âgées sont des butineuses (Seeley., 1983).

À noter que les ouvrières sont diploïdes qui résultent d'œufs fertilisés. (Wendling., 2012). Et naît environ 21 jours, après incubation dans les alvéoles (Pham-Délégue., 1999; Caron., 1999).



c) Le mâle :

Appelés encore « faux-bourdon », c'est la troisième catégorie d'abeilles faisant partie de la colonie (Biri., 2002 ; Frères et Guillaume., 2011), qui n'apparaissent que de manière saisonnière (Ruepell et al., 2005).

Ils sont facilement reconnaissables, dont la taille est plus imposante que les ouvrières, et dont le corps est plus grands, plus larges et plus lourds que celui des ouvrières et ne possèdent pas de dard (Winston., 1993 ; Clément., 2009). Ils se caractérisent par un corps massif (diamètre thorax de 5,5 mm) et peuvent atteindre 12 à 14 mm de long (Biri., 2010). Ils pèsent entre 196 et 225 mg (Wendling., 2012 ; Winston., 1993).

Les faux-bourdon ont une durée de vie assez courte, plus ou moins 3 mois car ils sont mis à mort à l'approche de l'automne dans la période qui varie suivant les conditions climatiques et météorologiques (Frères et Guillaume., 2011).

Ils ont principalement une fonction de reproduction pour assurer la fécondation de la reine. (Vandame., 1996; Paxton., 2005 ; Gregory., 2011). Ils peuvent également participer à la ventilation de la ruche en cas de forte chaleur pour maintenir une bonne température au couvain. (Frères et Guillaume., 2011; Belzunces et al., 1996).

À noter que les mâles sont haploïdes, dérivent d'œufs infertilisés (non-fécondés), pondus par les reines ou les ouvrières (Gempe et al., 2009), et naît environ 24 jours après incubation dans les alvéoles (Marchenay et Bérard., 2007).

I.2.3.2. La détermination des castes :

La détermination du sexe mâle ou femelle est liée à la fécondation de l'œuf pondu (figure 06). La reine reconnaît les différents types de cellules, mâle ou femelle, à l'aide de ses pattes antérieures (Winston., 1993), et pond en conséquence. Si c'est une cellule de femelle (reine ou ouvrière), elle contracte sa spermathèque et pond un œuf diploïde ($2n=32$). Au contraire, lorsque c'est une alvéole de faux-bourdon, plus large, elle ne contracte pas sa spermathèque et pond un œuf haploïde ($n=16$), cela engendrera un mâle (Adam., 2010).

L'alimentation et l'hormone juvénile sont des facteurs clés qui orientent le déterminisme des castes à partir d'une même larve (Bruneau., 2006). La qualité et la quantité de nourritures données aux larves semblent être les facteurs déterminants (Le conte., 2011). Les larves de reines sont nourries exclusivement de gelée royale pendant toute leur vie larvaire. Les larves d'ouvrières et les larves de mâles reçoivent une nourriture qui contient plus de miel et de pollen, moins de gelée royale, au fur et à mesure qu'elles grandissent (Le conte., 2011).

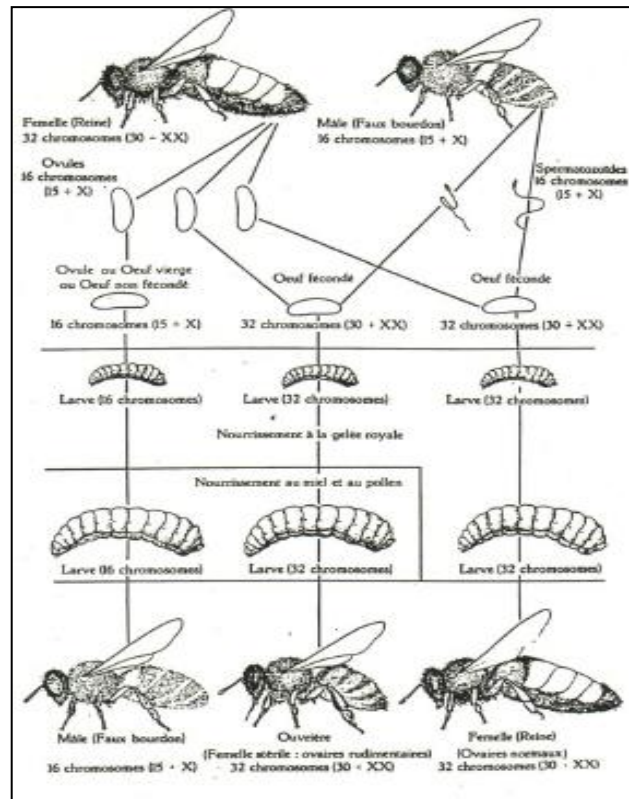


Figure 06: Détermination des castes chez l'abeille (Dessart ., 1975).

II. Développement et communication chez l'abeille :

II.1. Le cycle de développement :

Les abeilles sont dites insectes holométaboles ou à métamorphose complète. Elles sont complètement différentes à l'état larvaire et à l'état adulte (Biri., 2010). Le cycle de développement d'une abeille adulte, quelle que soit sa caste est identique et passe par trois étapes : le stade de l'œuf, le stade larvaire et le stade nymphal (figure 07). Mais La différence entre les castes se fait sur la durée de chaque étape (Prost ., 2005 ; Von Frisch ., 2011).

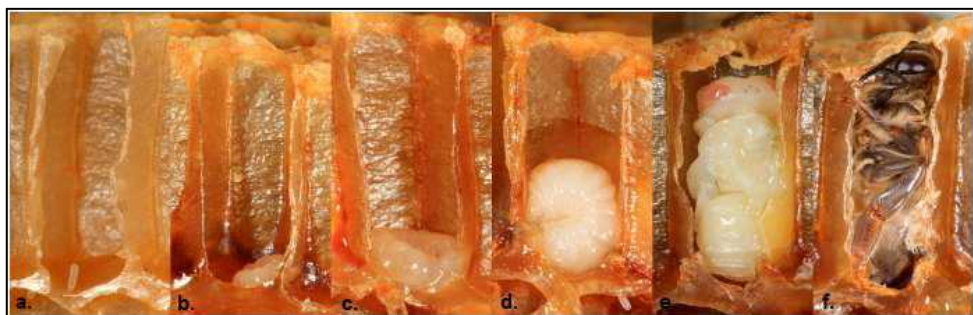


Figure 07 : De l'œuf à l'abeille adulte (Tourneret ., 2013).

a : œuf fraîchement pondu. b, c, d: développement de la larve.
e : stade nymphal. f: imago prête à sortir.



Ces durées connaissent de grandes variations dépendantes notamment de sous-espèces d'abeilles également en fonction de la nutrition du couvain (Winston., 1993). Ainsi, dépendantes de facteurs génétiques et climatiques (Le Conte., 2011).

Tableau II: Durées de développement du couvain d'abeilles (Spürgin., 2010).

Stade	Durée (jours)		
	Reine	Ouvrière	Faux-bourdon
Œuf	3	3	3
Larve	8	6	10
Nymphe	4	12	11
Total	16	21	24

II.1.1. Le couvain ouvert :

C'est la première phase de couvain, représentée par l'œuf, et les premiers stades larvaires (Wendling ., 2012).

II.1.1.1. Le stade œuf :

L'œuf est blanc, translucide, cylindrique, de forme ovale allongée (figure 08) (Biri ., 2002). Il mesure 1-1,5 x 0,5 mm et pèse entre 0,12 à 0,22 mg. (Alberti et Hänel ., 1986 ; Winston ., 1993). Il possède une extrémité plus pointue par laquelle il adhère à la paroi de l'alvéole. Il est ainsi possible de distinguer, en fonction de leur position sur le fond de la cellule, un œuf de 1 jour de celui de 2 ou 3 jours (Biri ., 2010). Il est, au début, placé verticalement sur le fond de l'alvéole par l'extrémité postérieure lors de la ponte, puis il s'incline peu à peu jusqu'à se coucher complètement à fin du 3^{ème} jour. (Medori et Colin., 1982 ; Ravazzi., 2007).



Figure 08: photo des œufs (Le Conte ., 2011).



II.1.1.2. Les premiers stades larvaires :

La larve est un boudin blanchâtre à la peau très fine, sans yeux ni pattes (apodes), éclot de l'œuf après les trois jours d'incubation (Albouy ., 2012 ; Le conte ., 2011). Elle est composée de treize segments, Trois thoraciques et dix abdominaux (Figure 10) (Faucon., 1992). Entourée d'une cuticule inextensible (Medori et Colin ; 1982). La larve du premier stade (L1) pèse 0,1 mg (Alberti et Hänel ., 1986; Winston ., 1993).

La larve dépend totalement des adultes pour sa survie. Son rôle se réduit à absorber de la nourriture pour grossir le plus rapidement possible (Albouy ., 2012), d'ailleurs son poids est multiplié par 10 au cours du premier jour de vie larvaire, par 100 au deuxième jour, et par 1000 au troisième jour (Faucon ., 1992) et par 1 800 en sixième jours (Le Conte ., 2011).

Les larves se trouvent au fond des alvéoles, couchées sur un côté et enroulées de telle façon que la zone anale rejoigne la tête. Elles baignent dans la gelée larvaire et sont nourries par des ouvrières post-émergence âgées de 3-15 jours (Figure 09) (Brouwers et al., 1987).

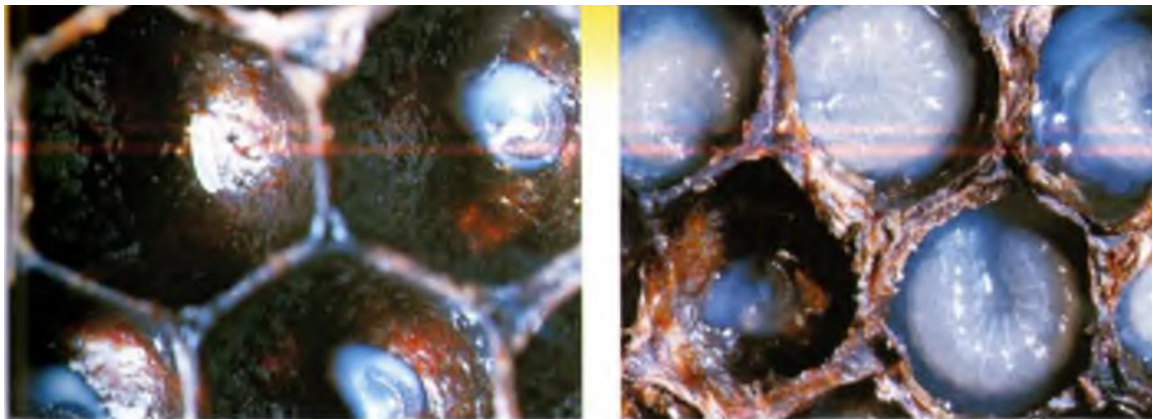


Figure 09: Couvain au stade larvaire (Spürgin ., 2010).

Pendant les trois premiers jours, toutes les larves sont nourries avec la gelée royale par les ouvrières nourrices. (Von Frisch ., 2011), une substance très nutritive produite par des glandes de la bouche des ouvrières. (Albouy ., 2012). A partir du quatrième jour, certaines larves choisies par les ouvrières continuent à être alimentées par la gelée royale. Elles deviendront des reines. Les autres larves sont les futures ouvrières et sont nourries avec du miel ou du pollen (Von Frisch ., 2011) Dès le sixième ou septième jour, les larves atteignent leur maturité et deviennent capables de se nourrir toutes seules (Biri ., 2010).



L'appareil digestif de larve (figure 10) n'est formé que d'un seul intestin moyen clos aux deux extrémités (Medori et Colin., 1982), qui lui permet de digérer les aliments fournis par les nourrices. Les résidus de la digestion ne sont rejetés sur le fond de la cellule que peu de temps avant la nymphose, quand la larve a déjà cessé de se nourrir. Il n'y a ainsi aucun risque que les déjections polluent les aliments (Ravazzi., 2007). Elle vide son intestin au moment de la mue nymphale lorsque l'intestin moyen se prolonge par l'intestin postérieur (Medori et Colin., 1982).

L'appareil excréteur de la larve il est composé de quatre tubes de Malpighi (figure10) disposés deux par deux de chaque côté du ventricule. Ils débouchent à la jonction du ventricule et de l'intestin postérieur, mais ne s'ouvrent qu'à la fin du sixième jour (Faucon., 1992).

Le système nerveux (figure10) de la larve comprend un cerveau, un ganglion sous œsophagien et une chaîne nerveuse ventrale (Faucon., 1992).

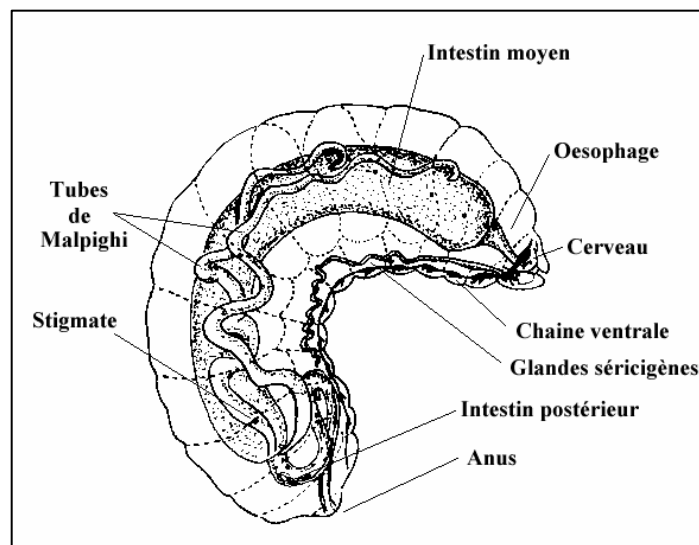


Figure 10 : Anatomie interne d'une larve d'abeille (Faucon., 1992).

Le corps gras, ou tissu adipeux, remplit la majeure partie de l'espace libre à l'intérieur de la larve. Il donne à la larve sa couleur blanc crème (Faucon., 1992). Il est composé principalement d'adipocytes (les cellules trophocytaires) qui ont un rôle dans la synthèse et le stockage des protéines (Rollo et Camargo-Mathias., 2006), des lipides, du glycogène et de l'acide urique, il compose aussi de cellules urate (œnocytes) qui ont un rôle d'excrétion par accumulation (d'acide urique et de sels de phosphate de calcium ou de magnésium) ou un rôle de réserve d'azote (Faucon., 1992 ; Paes de Oliveira et Da Cruz-Landim., 2003).



Durant le temps de sa croissance, la larve doit subir des mues pour se développer (Medori et Colin., 1982 ; Girdwoyi., 1876) c'est à dire, la larve rejette son squelette externe (cuticule) à cinq reprises (figure 11) (Pelletier et al., 1994). L1 subit 5 mues successives (Martin., 1994). Les quatre premières mues larvaires correspondent à des mues de croissances et se déroulent approximativement 1 fois toutes les 24 heures chez les ouvrières (Rembold et al., 1980).

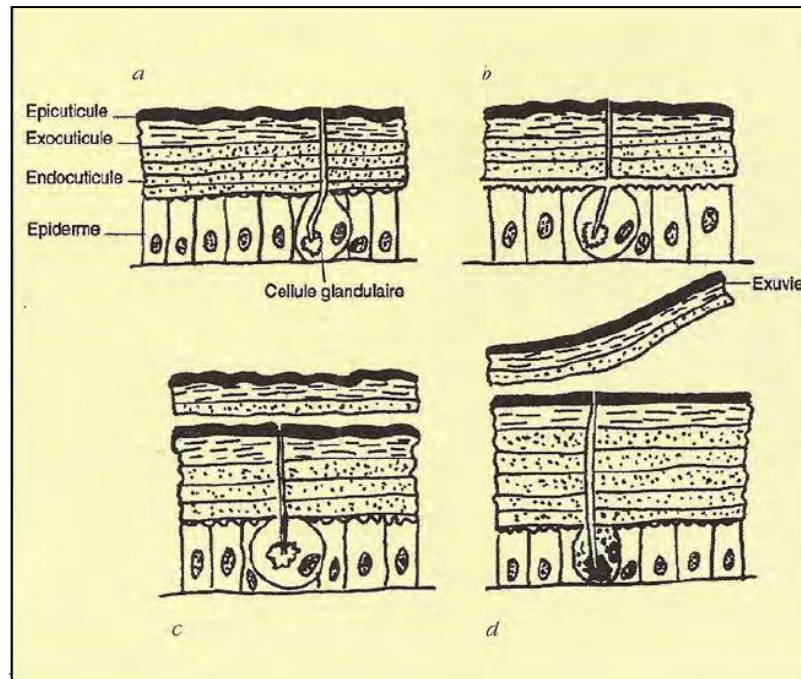


Figure 11: Les étapes successives de la mue (Lamy., 2000).

- a) : Tégument au repos.
- b) : début de la cuticule se sépare de l'épiderme et commence sa lyse (apolyse).
- c) : sécrétion de la nouvelle cuticule et résorption de l'ancienne
- d) : exuviation et fin de synthèse de la nouvelle cuticule.

À la fin du cinquième stade larvaire, une réserve de nourriture est constituée au fond de l'alvéole. Cette alvéole est alors scellée d'un capuchon de cire produite par les ouvrières, c'est l'opercule. (Pelletier et al., 1994).

II.1.2. Le couvain operculé :

C'est La deuxième phase de couvain (Wendling., 2012).



II.1.2.1. Le cinquième stade larvaire (post-operculation) :

Après l'operculation de l'alvéole, La larve du cinquième stade, commence à se dérouler par un mouvement en spirale, puis elle se met à tisser son cocon qu'elle applique contre la paroi de la cellule (Jay ., 1964; Donzé .,1995 ; Pelletier *et al.*,1994). Elle commence à filer son cocon quand les provisions sont épuisées. Après elle se couche sur le dos, en arc de cercle et reste ainsi immobile (Tasei *et Picart* ., 1972), c'est le stade pré-nymphal (Jay ., 1963 ; Donzé., 1995). Ce cocon est présent 48 heures après l'operculation. Sa paroi est épaisse, ne laissant voir qu'au fort grossissement une structure fibreuse (Chauvin ., 1958).

La cinquième mue larvaire termine l'état larvaire par le passage à l'état de nymphe (Rembold *et al.*, 1980). Cette mue correspond à une métamorphose qui va transformer la prénymphe en nymphe (Donzé ., 1995).

II.1.2.2. Le stade nymphal :

Appelée aussi le stade pupal, c'est le stade intermédiaire entre le stade larvaire et le stade adulte (Winston., 1987), caractérise par de grands changements de structure, la plupart des tissus larvaires sont détruits, c'est l'histolyse (Medori *et Colin* ., 1982). La nymphe possède de nombreuses caractéristiques morphologiques de l'adulte : tête, yeux, antennes, pièces buccales, thorax, pattes, et abdomen. Initialement blanchâtre (figure 12), se pigmente progressivement, reste immobile, la cuticule se sclérose (Biri ., 2010), ne s'alimente pas, ne grandit pas (Winston ., 1993) il se termine par une 6^{ème} et dernière mue, appelée mue imaginale, fait passer la nymphe au stade adulte (Biri ., 2010).



Figure 12: photo de nymphe (Spürgin ., 2010).



II.1.2.3. L'adulte naissant :

Appelée aussi imago donnant à l'insecte son aspect définitif (figure13) (Medori et Colin ., 1982), il détruit l'opercule avec ses mandibules afin de sortir de la cellule (Pedigo ., 2002).



Figure 13 : Jeune Abeille sortant de l'alvéole (Alphandery ., 1992).

II.2. La communication chimique chez *Apis mellifera*:

Le terme de communication se définit comme un échange d'information entre individus. Pour les êtres humains, c'est une partie majeure de leurs interactions sociales. Ils communiquent par la parole, l'écrit, les signes, et par beaucoup d'autres moyens culturels et technologiques. Il y a certaines espèces que l'homme utilise aussi des odeurs corporelles pour communiquer comme les insectes (Wilson ., 1971; Wyatt ., 2003).

Les abeilles communiquent entre elles en coordonnant plusieurs types de signaux: tactiles, chimiques, vibratoires, auditifs et visuels (Pascal ., 2009). Le mode de communication le plus répandu est chimique et s'appuie sur des odeurs particulières, les phéromones (Winston ., 1987). Ce sont des substances sécrétées par un individu mais à l'extérieur de celui-ci sont reçues par un deuxième individu de la même espèce. Elles provoquent chez ce dernier une réaction définie (Karlson et Butenandt ., 1959; Karlson et Luscher ., 1959).

Les phéromones qui induisent des comportements chez les abeilles qui les perçoivent sont dites **incitatrices** (ou primer). D'autres dites **modificatrices** (ou releaser), sont capables de modifier la physiologie de l'individu qui les perçoit (Le conte ., 2011).

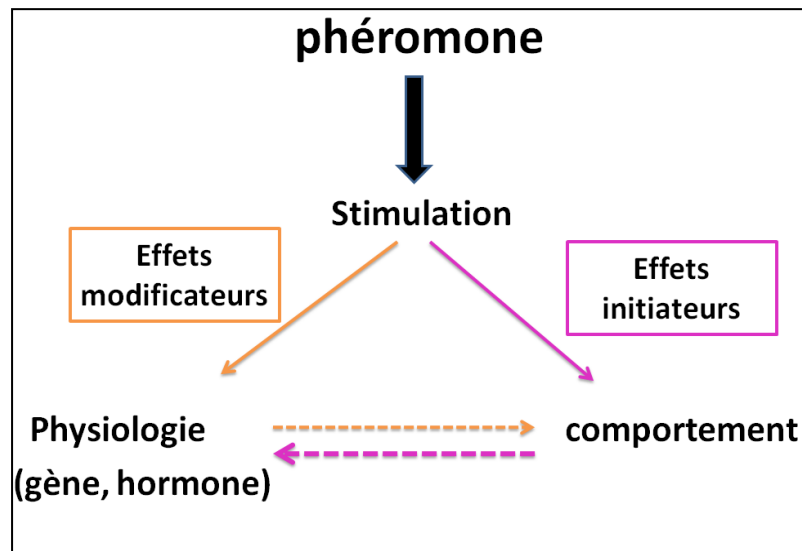


Figure 14: les phéromones incitatrices et modificatrices
(Modifiée d'après Wyatt ; 2003)

Ces phéromones peuvent être classées selon les glandes qui les sécrètent, leur composition chimique ou les individus qui les produisent (la reine, les mâles, les ouvrières adultes et le couvain) et selon le comportement.

II.2.1. Selon l'individu :

a) Phéromones de la reine :

Les phéromones royales sont produites par les glandes mandibulaires. Elles induisent chez les ouvrières des comportements spécifiques et vont modifier profondément leur physiologie. Plus d'une trentaine de composés chimiques ont été identifiés dans la phéromone sécrétée par les glandes mandibulaires. Les principaux constituants sont : l'acide 9-céto-2-décénoïque, l'acide 9-hydroxy-2-décénoïque, et deux composés organiques, l'hydroxybenzoate de méthyle et l'hydroxyméthoxyphényléthanol (Le conte ., 2011; Pham-Délègue ., 1999).

La phéromone royale mandibulaire (PGMR ou QRP = Queen Retinue Pheromone) possède plusieurs actions incitatrices, comme l'attraction des ouvrières pour permettre le comportement de cour (Slessor *et al.*, 2005). Elle inhibe l'élevage de nouvelles reines par les ouvrières (Winston *et al.*, 1990. Melathopoulos *et al.*, 1996). Chez les ouvrières, elle stimule la production de la phéromone de Nasanov, ainsi que le butinage et la production de cire. Elle inhibe en partie la construction des cellules royales pour réguler l'essaimage (Le conte ., 2011). Mais aussi, la PGMR a des actions modificatrices comme l'inhibition des ovaires des ouvrières (Slessor *et al.*, 2005). Elle module également le taux de l'hormone juvénile chez les ouvrières (Kaatz *et al.*, 1992).



b) Phéromones des ouvrières :

Les ouvrières émettent différentes phéromones incitatrices pour agir dans l'orientation, l'alarme et la défense, ils sont sécrétés par la glande de Nasonov et la glande à venin (Boch et Shearer ., 1964 ; Le conte ., 2011).

c) Les phéromones de mâle :

Il semblerait que les mâles produisent des sécrétions phéromonales à partir de leurs glandes mandibulaires. Leur fonction serait d'attirer les autres mâles dans les sites de rassemblement (Pham-Délègue ., 1999).

d) Les phéromones du couvain :

Le couvain émet des phéromones, qui permettent aux ouvrières d'apprécier son âge, sa caste, ses besoins. En effet, œufs, larves, et nymphes émettent des phéromones dont les quantités et les proportions varient en fonction de l'âge des larves. Sur la base de ces signaux chimiques, les nourrices peuvent adapter leurs soins (Le conte ., 2011).

Ces phéromones ont également un effet stimulateur sur les glandes hypophrygiennes des nourrices, et un effet inhibiteur sur le développement de leurs ovaires ou retarder l'âge au butinage de leurs nourrices (Riondet ., 2013). Ce phénomène montre que les larves influencent la physiologie des nourrices pour optimiser les soins qu'elles prodiguent : en fonction des besoins de la colonie (Le conte ., 2011).

La première phéromone de couvain a être identifiée est le Glyceryl-1,2-dioleate-3-palmitate (Koeniger et Veith., 1983), aussi la BEP (BEP = Brood Ester Pheromone, Phéromone du couvain composée d'ester) est un phéromone du couvain, elle composée d'un mélange de 10 esters éthyliques et méthyliques agissant sur la physiologie et le comportement des ouvrières (Le Conte et al ., 1990).

II.2.2. Selon le comportement :

Les phéromones jouent ont leur rôle dans le comportement d'attraction sexuelle, d'alarme et de défense, de marquage de piste, d'agrégation sexuelle (Pain ., 1971).

a) Les phéromones attractives sexuelles :

La substance attractive sexuelle est localisée dans la tête des reines et plus précisément dans les glandes mandibulaires très développées. Ces glandes sont riches en lipides (Pain ., 1971).



Les mâles d'*Apis mellifera* sont attirés par une fraction phospholipidique et une fraction acide gras (Gary ., 1962). L'acide gras a été identifié comme acide céto-9 décène-2 transoïque, et acide hydroxy-9 décène-2 oïque (Butler et Fairey ., 1964). Ils ont été dressés à réagir à différents parfums, ils peuvent distinguer ceux-ci et notamment l'odeur de l'acide céto-9 décène-2 oïque ainsi que le parfum de la glande de Nasonov. Le réflexe d'extension du proboscis est le test utilisé pour conditionner ces insectes (Vareschi et Kaissling ., 1970).

b) Les phéromones d'alarme :

C'est Butler, en 1967 a proposé d'appeler les phéromones d'alarme : phéromones d'alerte, pour les distinguer des substances purement défensives, ces phéromones elles sont émises par les glandes de l'aiguillon et les glandes mandibulaires (Maschwitz ., 1964), Les phéromones de la glande à venin produites par les gardiennes provoquent le recrutement de soldats pour la défense de la colonie (Le conte ., 2011).

La glande à venin est annexée à l'aiguillon. Lors de la piqûre l'abeille se retire en laissant l'aiguillon fixé dans le tégument de la victime et le venin est injecté par la contraction des muscles du sac. L'insecte meurt, son abdomen étant déchiré. Une phéromone d'alarme est émise dans la chambre de l'aiguillon lorsqu'une ouvrière pique ou qu'elle sort simplement son dard .celle-ci attire les autres ouvrières et les incite à attaquer (Winston ., 1993) Cette phéromone a été étudiée par (Boch et al., 1962) à partir d'une trentaine d'aiguillons, ils ont identifié la phéromone d'alarme à l'acétate d'iso-amyl.

Chez les ouvrières, une autre substance d'alarme a été localisée dans les glandes mandibulaires (Maschwitz ., 1964) elle a été identifiée à l'heptanoue-2 (Shearer et Boch ., 1965).

c) Les phéromones de recrutement :

Les ouvrières peuvent attirer l'attention de leurs congénères en exposant leur glande de Nasonov, situé sur la face supérieure de leur abdomen .,et en battant des ailes de manière à disperser autour d'elles une molécule odorante attractive (Paterson ., 2008). Les phéromones de la glande de Nasonov sont émises à l'entrée de la colonie ou lors de l'essaimage pour attirer et orienter les abeilles (Williams et al., 1981 ; Free ., 1987 ; Butler et al., 1969 ; Schmid ., 1999 ; Le conte ., 2011).



Boch et Shearer, en 1964 ont montré que dans cette glande contient plusieurs constituants phéromonaux : un alcool, le géraniol dont la quantité varie avec l'âge des ouvrières, et deux acides : gérannique et nérolique.

d) Les phéromones d'agrégation :

Chez les abeilles sociales, des phénomènes entrent encore en jeu pour maintenir la cohésion permanente des populations. Elles sont produites par la reine, mais peuvent aussi provenir des ouvrières, des mâles et du couvain. (Pain ., 1971)

La cohésion d'un essaim d'abeilles est assurée par les ouvrières elles-mêmes (free et Butler ., 1955) mais aussi et surtout par la reine. La phéromone responsable a été trouvée dans les glandes mandibulaires. Il s'agit de deux acides : l'acide céto-9-décène-2-oïque et l'acide hydroxy-9-décène-2-oïque. (Butler et Simpson ., 1967).

Cette phéromone qui induit le comportement de cour des ouvrières, est également impliquée dans l'attraction des ouvrières lors de l'essaimage et dans la stabilisation de la grappe d'abeilles (Butler et al., 1964 ; Le conte ., 2011;).

e) Les phéromones de surface :

En 1965, Wilson appelle phéromones de surface toutes les odeurs qui sont absorbées à la surface du corps des insectes, sur le tégument cireux, on considère qu'elles sont perçues par chimioréception de contact. La source de l'odeur attractive est localisée dans l'abdomen, plus particulièrement dans les glandes de Koschewnikow situées dans la chambre de l'aiguillon (Butler et Simpson ., 1965).

Les glandes abdominales sub-épidermiques dorsales pourraient aussi produire un parfum attractif (phéromone) (Renner Met Baumann ., 1964). Cette phéromone empêche le développement des ovaires chez les ouvrières (Pain., 1961 ; Slessor et al., 2005).

MATÉRIEL

&

MÉTHODES



I. Matériel

La réalisation de nos manipulations a été départagée entre le service d'ana-pathologie du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Chlef (DSP Chlef) et le laboratoire de zoologie de l'université Djilali Bounaama de Khemis Miliana, entre la période de mars et juin 2017.

I. 1. Matériel Biologique

Le but de cette étude est de déterminer les changements histologiques survenus lors d'un traitement (le jeûne) de larves d'abeille (*Apis mellifera intermissa*).

Apis mellifera intermissa est également appelée *Apis mellifera caffra* ou encore abeille tunisienne ou abeille punique (Biri ., 2010), ou abeille tellienne. C'est une grande abeille, très noire (figure 15) se Caractérisée par une bonne adaptation pour survivre aux conditions climatiques souvent extrêmes de l'Afrique de Nord. Il est Très agressive, nerveuse, tient mal au cadre, Essaime énormément, même jusqu'à l'automne et Utilise beaucoup de propolis (Le conte ., 2011).

L'insecte est choisi pour ses qualité adaptatives et sa période post-embryonnaire plus ou moins courte (6-7 jours).

Classification systématique d'*apis mellifera intermissa*

Embranchement : Arthropodes

Sous embranchement : Mandibulates

Classe : Insectes

Sous classe : Ptérygotes

Ordre : Hyménoptères

Sous-ordre : Apocrites

Section : Aculéates (Neopteres)

Famille : Apidés

Genre : *Apis*

Espèce : *mellifera*

Sous-espèce : *intermissa*



Figure 15: Photographie d'abeille *apis mellifera* (Piroux ., 2014).

(Buttel-Reepen ., 1906; Marchenay et Laurence ., 2007).



I. 2. Matériel non Biologique:

Les appareils utilisés: Incubateur, Microscope photonique *Motic*, Microtome de type *Leica*, Loupe binoculaire *Motic*, Automate de type *Leica*, Etuve réglée à 60°C, Balance de précision, Bain marie, Plaque chauffante, Agitateur, Appareil photo numérique *Fujifilm*.

Les outils utilisés : Pincés, Spatules, Verrerie, Papier Filtre, Lames et Lamelles, Cassettes, Micropipette, Bécher, Eprouvette graduée, Pipette pasteur, Moules et Support de lames, Bécher, support des lames, Passoire.

Les produits chimiques utilisés : dans le cadre de notre travail sont regroupés dans le tableau suivant.

Tableau III: Produits chimiques utilisés

Produits histologiques	Constitution de Hématoxyline-éosine	Constitution de trichome de MASSON	Constitution de l'acide périodique de Schiff
❖ Bouin aqueux ❖ Ethanol ❖ Paraffine ❖ Xylène ❖ Cyclohexane ❖ Gélatine ❖ Histo-kit	❖ Hématoxyline de Mayer ❖ éosine	❖ Acide acétique, ❖ Acide phosphotungstique ❖ Fuchsine acide, ❖ Hématoxyline de Mayer ❖ Orangé G ❖ Ponceau ❖ Vert lumière	❖ Acide Chlorhydrique, ❖ Acide périodique ❖ Charbon actif ❖ Fuchsine basique ❖ Méta bisulfite de sodium

Les programmes informatiques utilisés :

- ❖ XLSTAT 2017
- ❖ Excel 2010 de *Microsoft*
- ❖ Axio Vision 4.8 de *CARL ZEISS*
- ❖ Image J 1.47u de *National institutes of health. USA*



II. Méthodes d'études :

II.1. Manipulation sur les larves :

Les cadres de couvain sont choisies à partir de ruches d'élevage (figure 16). Certaines conditions doivent être maintenues avant la récupération des larves (colonie importante: 40000 à 60000 d'individus, l'âge de la reine pondeuse, absence de symptômes pathologiques). Les cadres sont confinés dans un incubateur et dans l'obscurité où $T = 36^{\circ}\text{C}$ et l'humidité est de 60%). Ces larves sont privées de nourriture pendant toute la période de prélèvement (12h, 48h, 4j, 5j). En suite ; elles seront prélevées directement à partir des alvéoles, pesées, photographiées et plongés rapidement dans le fixateur (Bouin aqueux).



Figure 16 : Prélèvement des cadres de couvain.

II.2. Etude histologique :

Nos échantillons sont soumis aux techniques histologiques classiques qui comprennent les étapes suivantes et qui sont : la fixation, la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration et le montage qui est suivie de l'observation en microscope optique (Martoja et Martoja., 1967; Gabe., 1968).

a) Préparation des coupes histologiques :

1. Fixation Histologique

L'intérêt de la fixation est de conserver les structures, d'immobiliser les constituants tissulaires/cellulaires des larves et de prévenir l'autolyse cellulaire et la putréfaction bactérienne post-mortem ce qui facilite la technique histologique et les colorations ultérieures (Kalem., 2013).



Dans la présente étude, nous avons laissé nos échantillons dans le fixateur chimique pendant 3 jours, il s'agit du Bouin aqueux. Les larves sont ensuite lavées pendant 24 h à l'eau courante afin d'éliminer l'excès de liquide fixateur (Fiche technique 01).

2. La circulation

C'est une étape qui consiste à faire pénétrer la paraffine au sein du tissu, Elle s'effectue en trois phases, réalisée par un automate. Ce dernier est constitué de 12 cuves disposées en cercle (Figure 17). Les larves sont introduites dans des cassettes puis dans l'automate et cela après leur identification.

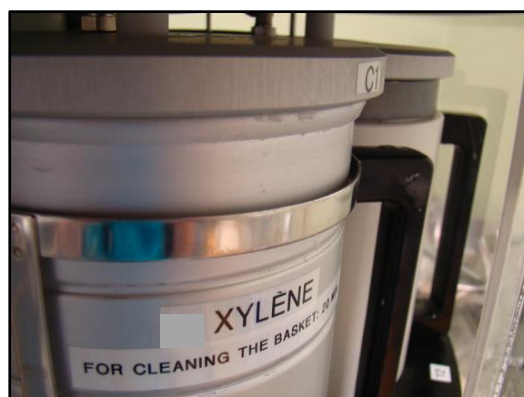


Figure 17 : Automate de circulation.

■ Déshydratation

Cette étape permet l'élimination de l'eau des tissus afin de les préparer à une inclusion dans un milieu hydrophobe (la paraffine). Elle s'effectue par le passage d'échantillon contenu dans des cassettes par 5 cuves remplies d'alcool à teneur croissante (50°, 70°, 90°, 96°, 100°) de 2 heures chacun. L'alcool est dilué à partir de l'alcool 100° (Fiche technique 02).

■ Eclaircissement

Cette étape est parfois appelée clarification se fait par un passage des larves dans 5 cuves de xylène de 2 heures chacun, elle permet l'élimination totale de traces d'alcool et pour assurer une bonne imprégnation de la paraffine.

■ Imprégnation

Dernière étape, s'effectue par passage des échantillons dans deux cuves de paraffine fondue à 60°C pendant 2 heures chacun pour but d'assurer l'entrée progressif de paraffine dans les larves.



3. Inclusion et confection des blocs de paraffine

Les échantillons ont été sur des cassettes à l'aide d'une pince souple, puis placés dans des moules en inox de taille adaptée, et préalablement rempli de paraffine préchauffée. L'ensemble est refroidi afin de solidifier le prélèvement suivant l'orientation choisie. Le bloc sera démoulé afin d'obtenir un masse ferme et facile à découper (Figure 18).

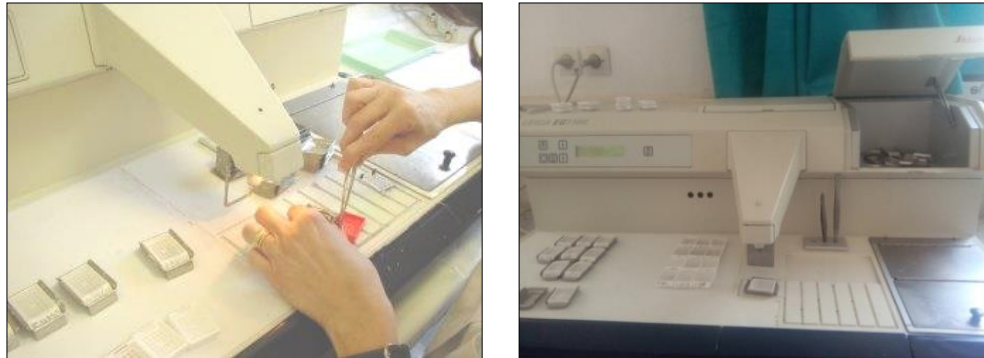


Figure 18: Inclusion et mise en bloc.

4. Confection et étalement des coupes

La confection est réalisée à l'aide d'un microtome de type Leica. L'installation du bloc est faite sur le porte objet pour le rabotage qui commence en ajustant l'échelle à l'épaisseur choisie (15 ou 20 μ m), la coupe obtenues (longitudinales et transversales) sont fines (2 à 4 μ m) et contiennent le tissu larvaire. Le ruban de coupes est recueilli à l'aide d'un pinceau et d'une aiguille montée, puis déposées dans un bain marie à 40°C.

Les coupes sont ensuite étalées sur des lames en verres. On met le coté brillant sur le verre et on le colle avec l'eau gélatinée (Fiche technique 03), La lame sera égouttée et mise à l'étuve à 37°C pendant 48 heures où à température ambiante pendant 48heures pour qu'elle sèche et s'adhère à la lame (Figure 19), Chaque lame porte le numéro et le niveau de la coupe.

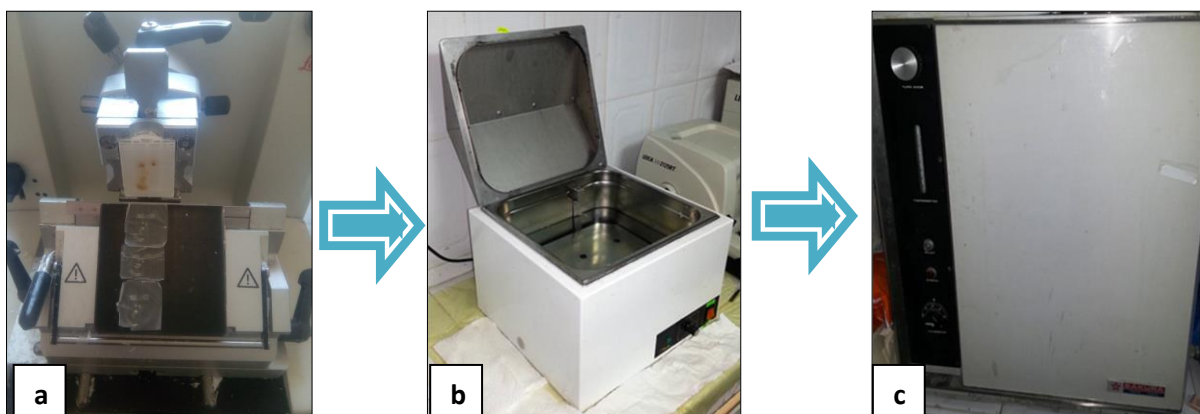


Figure 19 : Confection et étalement des coupes.

a- confection des coupes b- Étalement des coupes au bain marie c- séchage à l'étuve.



b) La Coloration :

L'intérêt de la coloration est d'augmenter le contraste entre les structures, afin de mettre en évidence les divers constituants présents dans la coupe histologique. Cela permet l'analyse de l'architecture du tissu, des cellules, de leur noyau, de leur cytoplasme et des constituants extracellulaires (Figure 20). Puisque les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir les étapes suivantes : le déparaffinage et l'hydratation.

➤ Déparaffinage :

Le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants hydrophiles puissent pénétrer. Les coupes sont placées dans deux bains de cyclohexane ou bien deux bains de xylène ou cyclohexane pendant 15 minutes chacun.

➤ Hydratation :

L'hydratation permet l'apport de l'eau aux tissus, les coupes sont passées dans des bains d'alcool à concentration décroissante (100°, 96°, 90°, 70°, 50°), 2 minutes pour chacun, puis rincées à l'eau distillée.

➤ Colorations des coupes :

Les colorations entreprises dans le cadre de notre travail sont la coloration topographique de Trichrome de MASSON et l'hématoxyline éosine, et la coloration histochimique d'acide périodique de Schiff (APS).



Figure 20 : coloration des lames.

■ Coloration topographique

C'est une coloration destinée à donner une image topographique générale du tissu, dans le but de faciliter l'identification des différentes zones tissulaires, ainsi que la destination des structures cellulaires et matricielles. Elles sont destinées à donner une image de la topographie générale de tissu (Cannet ., 2006).

**Trichrome de Masson (TM) :**

C'est un traitement tricolore des coupes où Coloration histologique trichromique associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline, une coloration cytoplasmique par un mélange de colorants acides (Fuschine-Ponceau et l'orangé G) et une autre du collagène par le vert lumière ou le bleu d'aniline (Fiche technique 04) (Ganter et Jollés ., 1970. Siou. ; Guffroy ., 1990).

Les résultats : le collagène coloré en bleu ou en vert, le cytoplasme en rose à rouge, les noyaux en bleu foncé ou brun.

Hématoxyline-éosine :

Cette coloration permet de visualiser la morphologie des cellules noyau et cytoplasme. C'est la plus simple des colorations combinées qui s'effectue avec deux colorants, un colorant nucléaire basique, hématoxyline qui contient de l'hématéine (substance basique) et un mordant métallique (sels d'aluminium ou de fer) et un colorant d'éosine, c'est une substance plutôt acide qui colore les protéines cytoplasmiques et les fibres en rose, dans une gamme d'intensité plus ou moins vive, selon l'acidophilie des différents éléments (Fiche technique 05) (Siou ; Guffroy ., 1990).

Les résultats de cette coloration sont : les noyaux sont colorés en bleu violet et les cytoplasmes en roses (Stevens et Yong ., 2006).

■ Coloration histochimique :**Acide Périodique de Schiff (APS) :**

La coloration APS est une coloration utilisée en histologie (Fiche technique 06) pour mettre en évidence les chaînes glucidiques (polysaccharides, les glycoprotéines et glycolipides) qui se présentent dans certains tissus conjonctifs ainsi que dans le mucus. Le mécanisme est le suivant: un agent oxydant, l'acide périodique rompt les liaisons entre 2 carbones de certains groupements chimiques en faisant apparaître des aldéhydes. Ces aldéhydes sont visualisés par le réactif de Schiff en rouge (Ganter et Jollés ., 1970).

c) Montage des coupes :

Le montage entre lame et lamelle se fait à l'aide de l'histo-kit qui améliore l'observation des lames et de les conserver (Figure21).

d) Observation des coupes et acquisition des images :

Après séchage de l'histo-kit, les lames sont observées grâce au microscope optique Motic aux différents grossissements. Les images obtenues sont numérisées à l'aide d'un appareil photo de type Fujifilm (Figure 21).

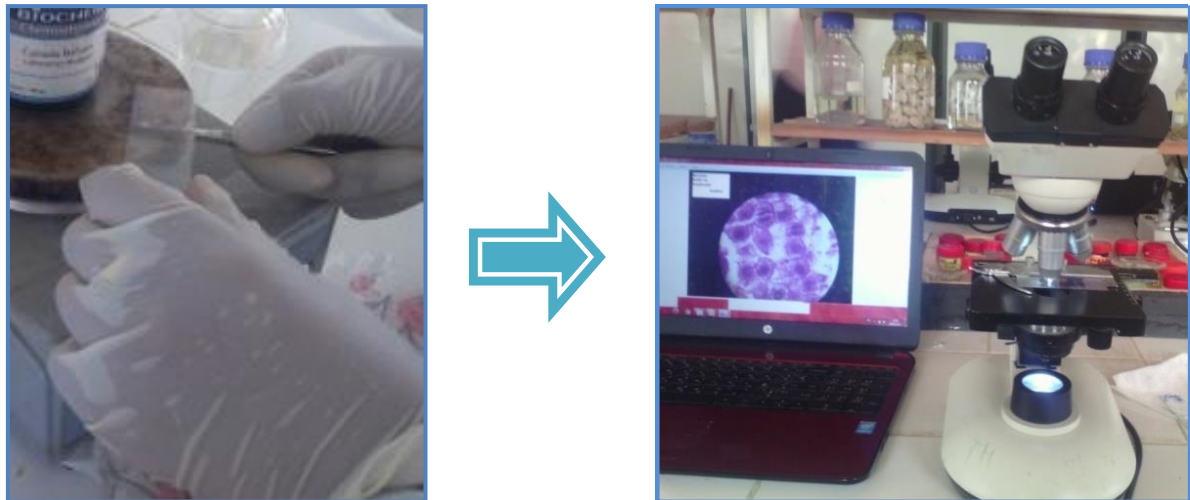


Figure 21: Montage (à gauche) et observation (à droite) des coupes.

II.3. Etude morphométriques :

a) Etude morphologique pondérale :

Il y'a nécessité de mesurer les paramètres morphométriques externes avant de procéder à l'histologie. Pour cela, les prélèvements des larves affamées (300 larves) se fait délicatement grâce à une pince souple sur une balance de précision (figure 21) afin de faire la pesée et cela pour chaque période de faim.

Des photographies sont tout de suite prises sous loupes binoculaires tout en respectant les mesures de calibration (figure 22).



Figure 22 : Pesée et photographié les larves.



Les mesures sont effectuées après étalonnage par un micromètre grâce au logiciel d'axio-vision. Les paramètres morphologique et pondérale pris en considération sont (Poids, Taille, surface) (figure 23).

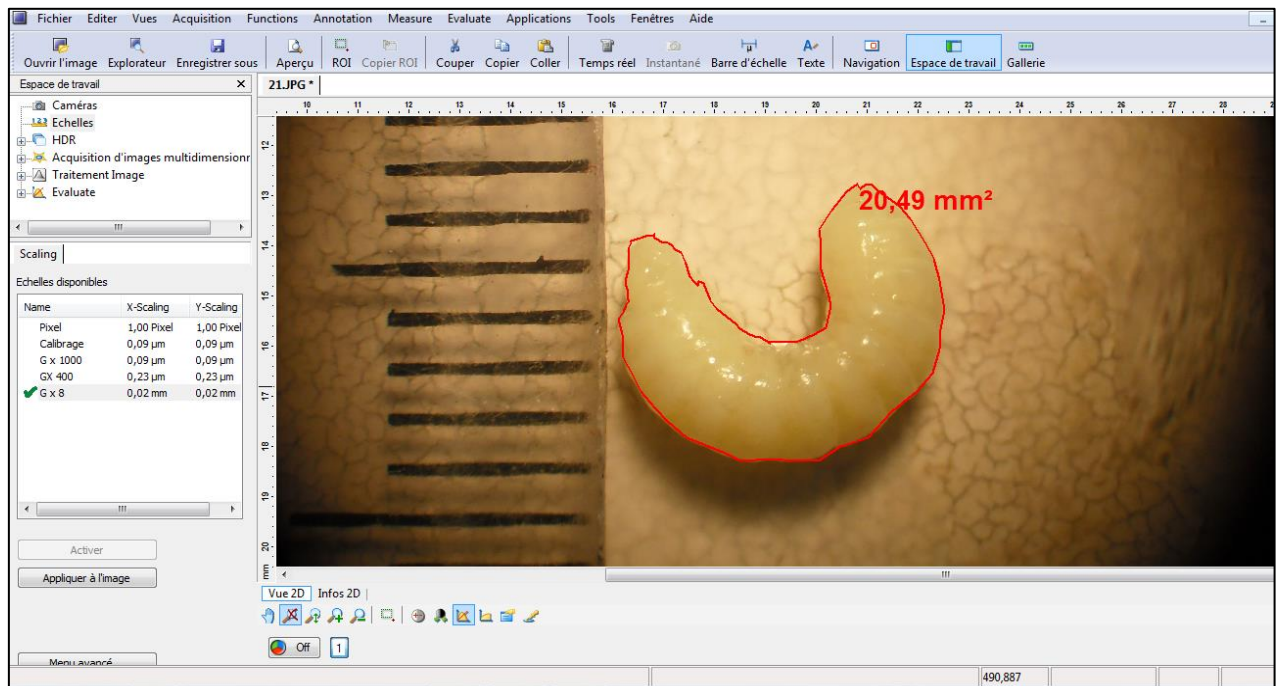


Figure 23 : Mesure la surface des larves sur Axio-vision.

b) Etude morpho-histologique :

Pour l'étude histologique, des relevés morphométriques ont été pris sur certains paramètres cellulaires, à savoir les cellules intestinales, la cuticule et les cellules du corps gras. Toutes les photos histologiques sont prises par le même appareil à différents grossissements. Nous avons ainsi effectué des mesures concernant :

- ✓ Les surfaces cellulaires et nucléaires des cellules de corps gras (trophocytes et œnocytes), leur ratio nucléo-cytoplasmique et leur nombre ont été effectués: 30 mesures chacune,
- ✓ L'épaisseur de l'exuvie et de la nouvelle cuticule (cuticule attachée et détachée lors des mues) a été effectuée: 30 mesures chacune.
- ✓ Les surfaces cellulaire et nucléaire des cellules intestinales, leur ratio nucléo-cytoplasmique ont été effectués: 30 mesures chacun



Toutes ces mesures sont possibles grâce à l'image *J*, qui est un logiciel morphométriques convertisseur de toutes données physiques de l'image en données scientifiquement exploitables (Figure 24).

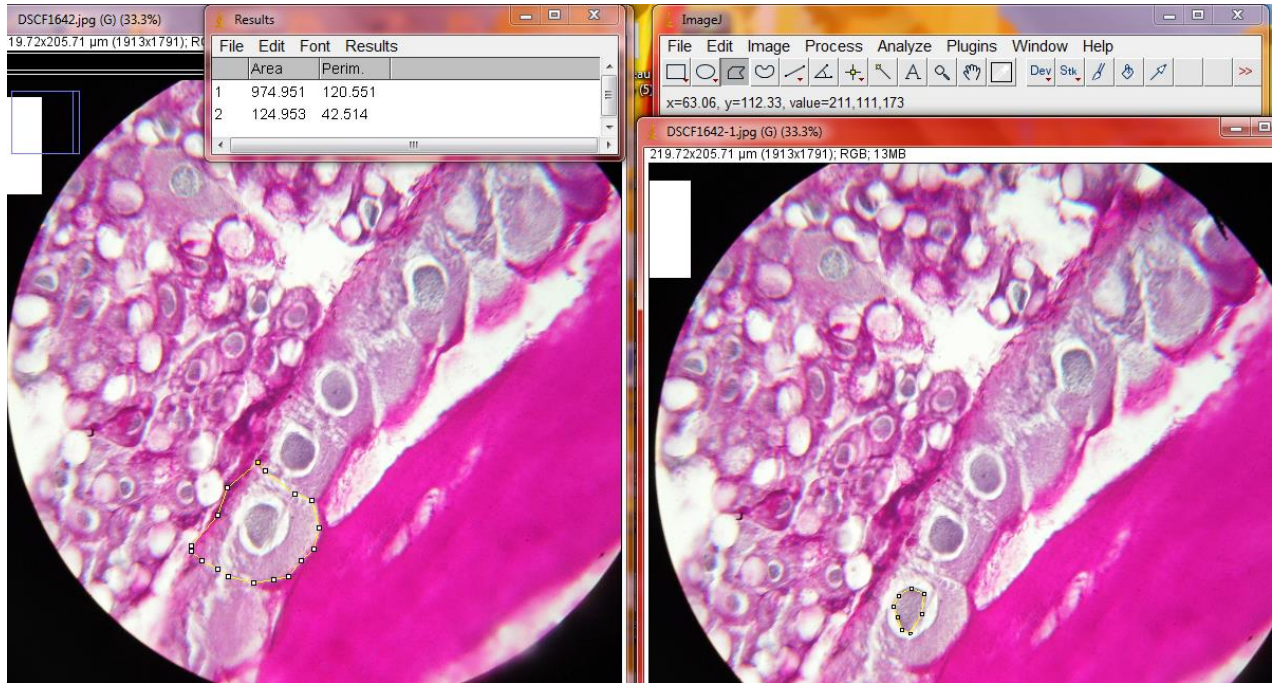


Figure 24 : Mesure morphometrique des cellules intestinales des larves sur l'image *J*.

II.4. Etude statistique

L'analyse statistique a été réalisée avec XLSTAT. En utilisant les différents tests de comparaison entre deux échantillons (Test de Kolmogorov-Smirnov) afin de vérifier la distribution de nos échantillons. L'utilisation des tests non paramétriques de Mann-Whitney pour la comparaison des moyennes entre les 2 populations traitée (larves affamées $t=12h$) et traitée (larves affamées $t= 4$ jours) avec un niveau de signification statistique fixé à $p < 0,05$. Et aussi les tests de corrélation simple entre les différents paramètres morpho-métriques.

Pour la comparaison des variances, nous avons utilisé le test non paramétrique de comparaison de K échantillon similaire au test ANOVA (test de Kruskal-Wallis).

Pour chaque série d'analyse, la moyenne et l'écart type sont calculés. Les paramètres statistiques sont donnés par les relations suivantes :

$$\text{Moyenne} = \frac{\sum x_i n_i}{N}$$

$$\text{Ecarttype} = \sqrt{\delta^2}$$



- ✓ n_i : désigne la fréquence.
- ✓ x_i : la valeur individuelle.
- ✓ N : effectif.

La variance δ^2 : est la moyenne des carrés des écarts types entre les valeurs de l'échantillon et la moyenne arithmétique

$$\delta^2 = \frac{\sum n_i(x_i - x_a)^2 + \sum n_i(x_i - x_b)^2}{(Na - Nb) - 2}$$

$$SEM = \frac{Ecarttype}{\sqrt{N - 1}}$$

$N-1$: désigne le degré de liberté (ddl)

$$t = \frac{Xa - Xb}{\sqrt{\delta^2 / Na + \delta^2 / Nb}}$$

Pour une ddl de $(Na + Nb) - 2$ et à 5% d'erreur, la valeur de t nous donne le degré de signification P , la différence entre deux moyennes est :

- ✓ Peu significative si $P < 0,05$ (*).
- ✓ Significative si $P < 0,01$ (**).
- ✓ Très significative si $P < 0,001$ (***)).
- ✓ Hautement significative si $P < 0,0001$ (****).

RESULTATS

&

INTERPRETATIONS



I. Résultats et Interprétations :

I.1. Morphométrie des larves :

Les larves récupérées sont pesées et mesurées sous loupe binoculaire. Les mesures sont faites grâce au logiciel Axio vision 4,8. 300 mesures sont faites sur des larves affamées pendant 12 heures et des larves affamées pendant 04 jours, respectivement (t_{12h} et t_{4j}).

Nous avons pris comme paramètres morphométriques externes, le poids, la taille et la surface larvaire (tableau IV). Dans l'état normal, la mesure de la taille chez les larves est prise en étirant la larve en position dorsale et en traçant un trait fictif reliant les extrémités buccale et anale. Dans notre cas, toutes les larves sont positionnées sur leurs flans avec prise de la mesure du périmètre, cette mesure est divisée par deux (pour que l'erreur soit distribuée sur tout notre échantillon et considérée comme nulle).

Pour la surface, une mesure faite sur l'image de la larve (2D), elle exprime le volume de la larve réelle (tableau IV).

Tableau IV : Mesure de certains paramètres morphométriques des larves d'abeille.

Poids (mg)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t_{12h}	0,001	0,736	0,043	0,060
Traitées t_{4j}	0,008	0,103	0,039	0,025
Taille (mm)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t_{12h}	1,913	17,271	8,711	3,787
Traitées t_{4j}	4,581	15,592	11,439	2,511
Surface larvaire (mm ²)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t_{12h}	0,859	56,719	17,853	15,323
Traitées t_{4j}	3,055	51,245	24,569	11,217

Nous tentons de comparer en premier lieu la distribution de nos deux échantillons par le Test de Kolmogorov-Smirnov. Les résultats montrent que :

La distribution de nos échantillons est significativement différente. Les p –values de tous les paramètres sont inférieurs à 0.05. Nous considérons donc, que les deux lots de larves ne sont pas distribués de la même manière, puisque le deuxième lot (traitées t_{4j}) a subi une période de faim plus longue.



En vue d'établir la relation qui existe entre les différents paramètres morphométriques, nous calculerons le coefficient de corrélation simple (Pearson) pour les larves traitées de 12 heures ($N > 50$) et celui de Spearman pour les larves affamées de 4 jours ($N < 50$). Les courbes de régression sont illustrées (annexe 1).

Matrice de corrélation (Pearson) :				Matrice de corrélation (Spearman) : Traités (t_4)			
Traités (t_{12h})				Traités (t_4)			
Variables	Poids	Taille	Surface	Variables	Poids	Taille	Surface
Poids	1	0,701	0,721	Poids	1	0,788	0,878
Taille		1	0,978	Taille		1	0,905
Surface			1	Surface			1

Il paraît que tous les paramètres morphométriques présentent un rapport positif entre eux. Effectivement, chez le lot 12h, il existe une forte corrélation entre la taille des larves qui évoluent dans le même sens que la surface. Cette corrélation diminue quand il s'agit du poids et la surface et encore plus entre le poids et la taille.

Nous trouvons presque la même corrélation chez les larves affamées de 4 jours, sauf qu'elle est moins forte pour les paramètres (taille et surface).

Cela veut dire que plus on fait sevrer les larves, plus on aura des larves disproportionnées. L'augmentation du poids des larves expérimentées a son influence sur la croissance de la surface et de la taille à des proportions différentes.

Pour les larves traitées de 12 heures, le poids du dernier stade larvaire L5 0,736 (max) évolue d'une manière rapide ($P_{max}/P_{min} = 669$ fois) par rapport aux larves affamées (13 fois) (Tableau V). Cette évolution est due à l'alimentation non encore épuisée chez ces larves par contre les larves expérimentées de 4 jours, utilisent leur réserves nutritives pour des besoins énergétiques.

Tableau V: Cinétique de l'évolution de stades larvaires (L5 = X.L1).

(X)	Traités (t_{12h})	Traités (t_4)
Poids	669,09	13,09
Taille	9,03	3,40
Surface	66,03	16,77

L'augmentation du poids des larves traités à 12 h et 4 j influence sur la croissance de la surface et la taille à des taux très différents.

Lorsque le poids des larves augmente, la taille et la surface augmentent aussi. Cependant la surface et la tailles ne varient pas de la même manière que le poids, cette



évolution est pareille pour les deux groupes de larves. **Les périodes de faim ont beaucoup plus d'influence sur l'évolution du poids des larves que sur leur taille et leur surface.**

Nous avons utilisé le test de Mann-Whitney pour la comparaison des moyennes des différents paramètres larvaires, cela a abouti à la figure 25.

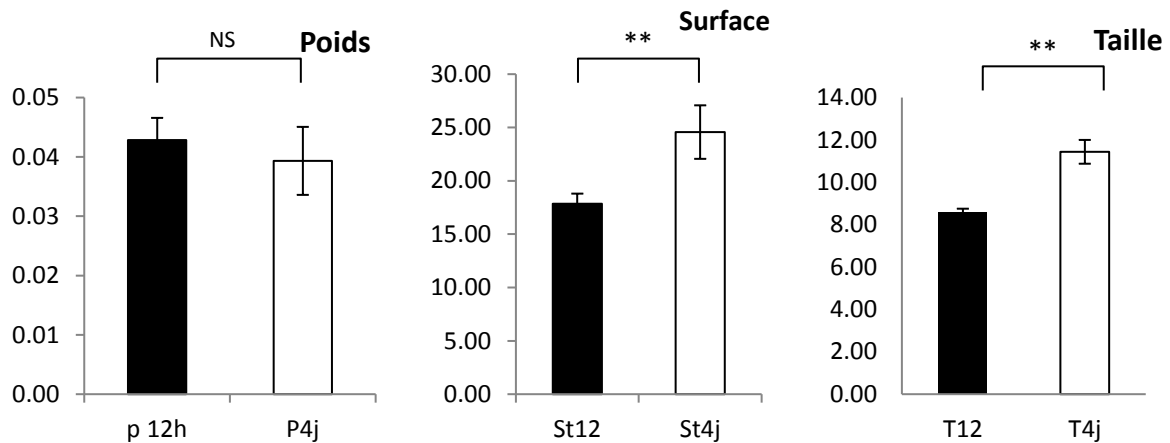


Figure 25 : Comparaison des différents paramètres morphométriques entre larves affamées de 12h et affamées de 4jours.

Les mesures que nous avons effectuées sur le poids, la taille et la surface des larves affamées montrent par rapport aux larves non affamées :

- ✓ Une différence non significative ($P > 0,05$) entre le poids des larves affamées de 12h et affamées de 4 jours.
- ✓ Une augmentation significative ($p < 0,05$) de 31 % de taille au profit des larves affamées de 4 jours.
- ✓ Une augmentation statistiquement significative ($p < 0,05$) de 38 % de la surface larvaire toujours au profit des larves traitées de 4 jours.

Cette augmentation dans la taille et la surface est normale chez les larves même s'il n'y a pas d'apport alimentaire, et c'est due à la multiplication des cellules non encore totalement différenciées, caractéristique de ce stade post-embryonnaire chez les insectes.

Par conséquent, **l'évolution du poids n'est pas la même chez ces larves, elle est plus lente chez le groupe expérimenté de 4 jours par contre la taille et la surface évoluent plus rapidement chez ce groupe.**



Il paraît que les larves affamées déploient toute leur énergie à la mue, conséquence de l'augmentation des paramètres (taille et surface) au profit de l'augmentation du poids (diminution des réserves lipidiques).

I.2. Résultats histologiques:

La partie histologique s'intéresse à la comparaison entre la structure topographique et histochimique du corps gras pariétal qui est adossé à l'épiderme et péri-viscéral qui entoure le tractus digestif chez les larves d'abeille *Apis mellifera intermissa* affamées de 12 h et celles qui ont subi une période de faim allant jusqu'à 5 jours.

Pour cela, nous avons utilisé des colorations topographique et histochimique pour mettre en évidence :

- ✓ Les noyaux des cellules colorés en bleu/violet, le cytoplasme en rose et les autres éléments cellulaires (vacuoles) ± basiques en rose/rouge par la coloration à l'hématoxyline éosine.
- ✓ Les collagènes colorés en vert par la coloration au trichome de Masson.
- ✓ Les glycoprotéines de structure par la coloration à l'acide périodique-Schiff (APS).

I.2.1. Histologie des larves soumises à de courtes périodes de jeûne (12- 48h) :

a) Au faible grossissement ;

L'observation des coupes histologiques à faible grossissement des larves d'abeille témoins colorées à l'hématoxyline-éosine montre qu'elle est contournée d'un tégument chitineux parfois détaché, d'un tube digestif traversant toutes la longueur de la larve et rétréci aux extrémités buccale et anale. Quelques organes (glandes salivaires, tube de Malpighi) baignent dans un environnement tantôt interstitiel (hémocoèle) tantôt formé d'un agglomérat de cellules qui constituent le tissu adipeux de la larve.

b) Au fort Grossissement :

✓ Corps gras

Il est formé pour sa majorité en adipocytes ou cellules dites trophocytaires. Ces cellules ont un aspect hexagonale avec un cytoplasme à apparence vacuolaire c'est-à-dire très riche en vacuoles cytoplasmiques et autres cavités, leur noyau a une forme polylobée.



Un deuxième type de cellule plus large apparaît dans ce tissu, il s'agit de cellules plus foncées à la coloration topographique, c'est-à-dire que leur cytoplasme est acidophile. Leur nombre est très réduit par rapport aux trophocytes. Leur noyau est central avec opacité périphérique (distribution de la chromatine).

✓ **Cuticule et exuvie**

La cuticule est une couche externe sécrétée par l'épiderme, elle ne comporte pas de cellules et constitue l'exosquelette de la larve. La cuticule est formée de plusieurs couches (épicuticule, exocuticule, endocuticule et l'épiderme). L'endocuticule est une couche fine et flexible, constituée d'un mélange de protéines et de chitine (mucopolysaccharide) donnée par la coloration d'APS.

Au moment de la mue, l'endocuticule se liquéfie sous l'action d'enzymes d'apolyse. Ceci permet à la larve de se détacher plus facilement de son ancienne peau. Après la mue, la cuticule, souple et élastique, se durcit au contact de l'air. Une grande partie de la matière lysée (liquéfiée) par le phénomène d'apolyse est recyclée (notamment les acides aminés des protéines) pour reformer la nouvelle cuticule. C'est ce qui reste qui sera expulsé sous forme **d'exuvie**.

La cuticule qui le recouvre est plus ou moins épaisse. Une abondante pigmentation noire masque le contenu cellulaire. La richesse en calcium est proportionnelle à la quantité de pigments et il n'existe pas de concrétions visibles au microscope photonique.

✓ **Tube digestif**

Le tube digestif est limité par un épithélium simple et est composé de trois segments, un segment antérieur ou stomodeum, un segment médian ou mésentéron et un segment postérieur ou proctodeum. Dans notre cas, l'appareil digestif de la larve d'abeille n'est formé que d'un seul intestin (moyen) clos à deux extrémités.

L'intestin moyen a un rôle dans la digestion et l'absorption. En effet, les cellules constitutives sécrètent des enzymes digestives protéolytiques ([Malone et Gatehouse., 1998](#)), et sont extrêmement importantes pour la digestion du pollen qui est la principale source de protéines dans le régime des abeilles ([Brodschneider et Crailsheim., 2010](#)). Ces cellules peuvent aussi absorber les produits de la digestion. La paroi du tube digestif moyen est d'origine endodermique, elle est composée de trois couches : couche musculaire, lame basale, cellules épithéliales ([Chapman., 1978](#)). L'épithélium est composé de différents types de cellules,



comme les cellules cylindriques, régénératrices, endocrines et caliciformes. Les cellules cylindriques sont le type de cellules prédominantes, elles forment un bord-rabdorium strié sur leur surface supérieure (Cruz-Landim et Cavalcanate., 2003).

I.2.2. Histologie des larves soumises à de longues périodes de jeûne (4j-5j) :

Au niveau tissulaire, la structure adipeuse est responsable du stockage et de la synthèse de la majorité de protéines et métabolites sécrété dans l'hémolymphe. Après la période de privation de nourriture qui durera jusqu'à 5 jours, nous avons pu observer avec l'analyse histologique et histochimique les points suivant :

- ✓ Négativité du marquage au Trichome de Masson au niveau du corps gras.
- ✓ Augmentation de la surface cytoplasmique chez les différents types de cellules (œnocytes et trophocytes).
- ✓ Dégranulation graduelle des trophocytes.
- ✓ Aplatissement des cellules épithéliales du tube digestif avec discontinuité du rabdorium et réduction de la lumière trophique.
- ✓ Epaississement progressif de la cuticule et de l'exuvie au cours du phénomène de jeûne.



Planche I : Coupes histologiques du Corps gras et du tégument chez la larve d'abeille *Apis mellifera intermissa* affamée de 12h.

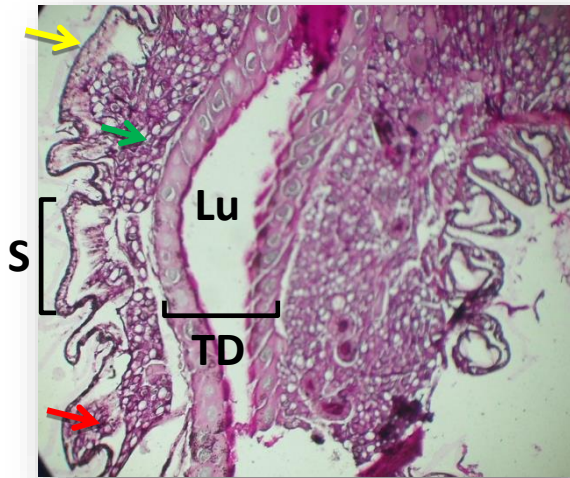


Figure 1 : Coupe longitudinale de larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 12h Coloration à l'APS. G. 100.

A faible grossissement, nous pouvons remarquer le tégument (cuticule) (flèches jaune), tissu adipeux pariétal (flèches rouges) et péri-viscéral (flèches vertes), tube digestif (TD) avec le bol alimentaire dans la lumière (Lu), Coelom de l'hémolymphe (flèches noires), les segments (S)

Figure 2 : Coupe histologique au niveau du corps gras chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 12h Coloration au TM. G. 1000.

Au Fort grossissement, nous pouvons observer les œnocytes avec leur noyau à aspect globulaire (trait rouge), le cytoplasme acidophile qui apparaît plus opaque. Les trophocytes apparaissent +/- petites, avec un cytoplasme plus clair et un noyau polylobé (trait bleu)

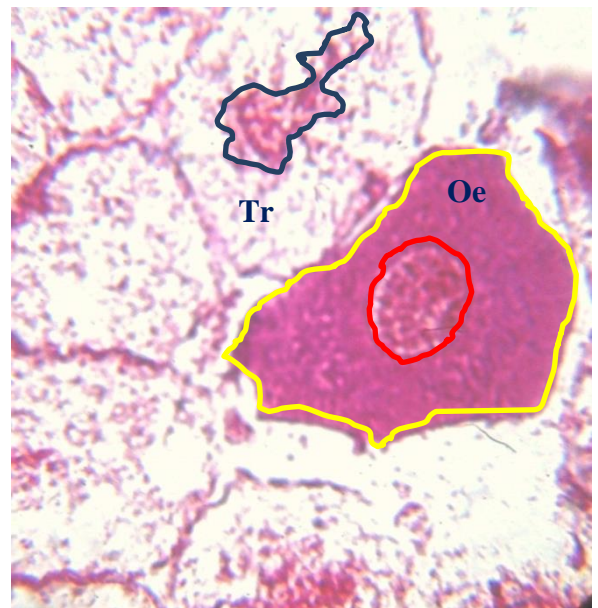


Figure 3 : Coupe histologique au niveau du Tégument chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 12h Coloration au TM. G. 400.

A faible grossissement, nous pouvons observer que l'exuvie commence à se détacher de la nouvelle cuticule au niveau du pli intersegmentaire (flèche noire), le corps gras pariétal étant aussi collé à l'épiderme dans des endroits (CGP), le corps gras péri-viscéral (CGPe) est accolé à la paroi du Tube Digestif.

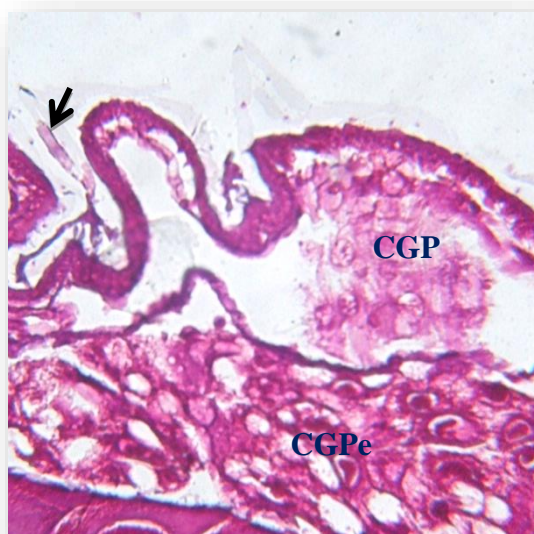




Planche II : Coupes histologiques du Corps gras et du tégument chez la larve d'abeille *Apis mellifera intermissa* affamée de 12h.

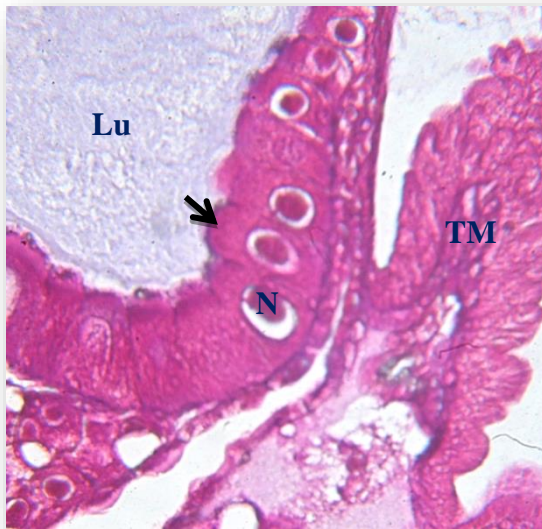


Figure 1 : Coupe histologique au niveau du Tube Digestif Moyen chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 12h Coloration au TM. G. 400.

Au grossissement moyen, nous pouvons observer les cellules épithéliales cylindriques du TD (flèche noire) avec leur noyau central (N) se logeant dans une sorte de vacuole, d'où le nom de l'épithélium vacuolaire, le cytoplasme acidophile qui apparaît granulaire et plus opaque, il sécrète les enzymes protéolytiques dans la lumière (Lu). A côté nous observons le Tube de Malpighi (TM).

Figure 2 : Coupe histologique au niveau du Tube Digestif Moyen chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 12h Coloration à l'HE. G. 400.

Toujours au grossissement moyen, nous pouvons observer la lame basale (flèches rouges) des cellules intestinales avec un côté apical couvert de sécrétions du mucus appelées rabdorium (flèches jaunes) qui a un rôle dans la protection des cellules épithéliales.



Figure 3 : Coupe histologique au niveau du Tégument chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 12h Coloration à l'APS. G. 1000.

Au Fort grossissement, nous pouvons observer la séparation de l'exuvie (flèche bleue) de la cuticule nouvellement formée (flèche verte) riche mucoglycannes et en hydrocarbones avec le tissu adipeux pariétal (CGP) comme support.

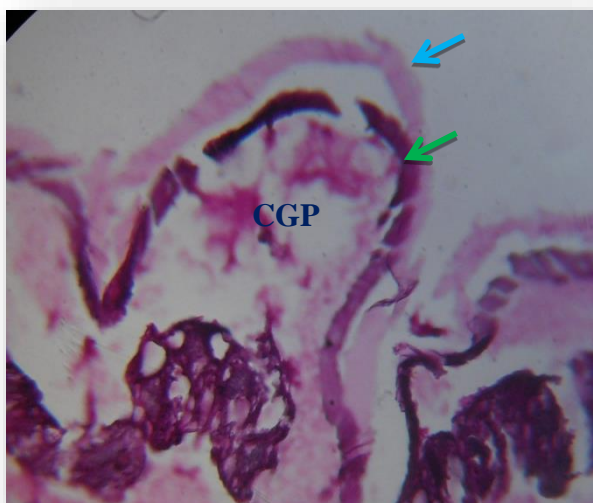




Planche III : Coupes histologiques du Corps gras et du tégument chez la larve d'abeille *Apis mellifera intermissa* affamée de 4 jours.

Figure 1 : Coupe longitudinale de larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4j Coloration à l'APS. G. 100.

A faible grossissement, nous pouvons remarquer le tégument (cuticule (flèches jaune), tissu adipeux pariétal (flèches rouges) et péri-viscéral (flèches vertes), tube digestif (TD) avec le bol alimentaire dans la lumière (Lu), Coelum de l'hémolymphe (flèches noires)

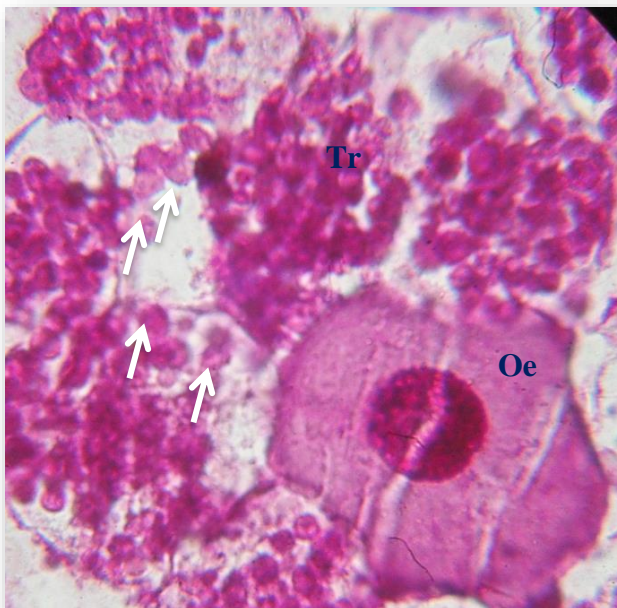
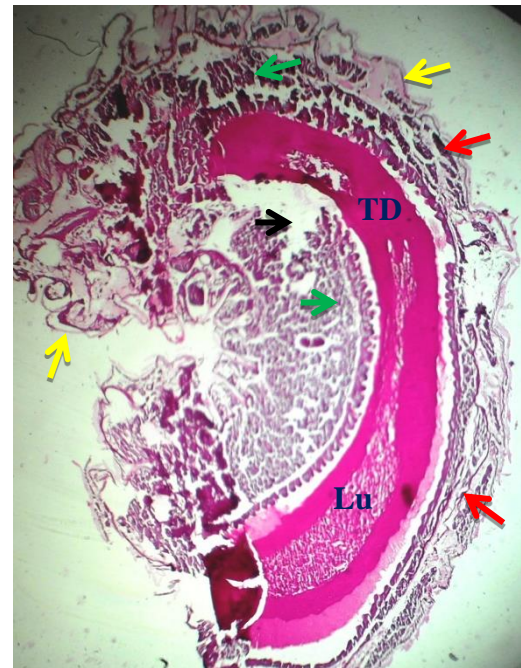


Figure 2 : Coupe histologique au niveau du corps gras chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4 jours. Coloration à l'APS. G. 1000.

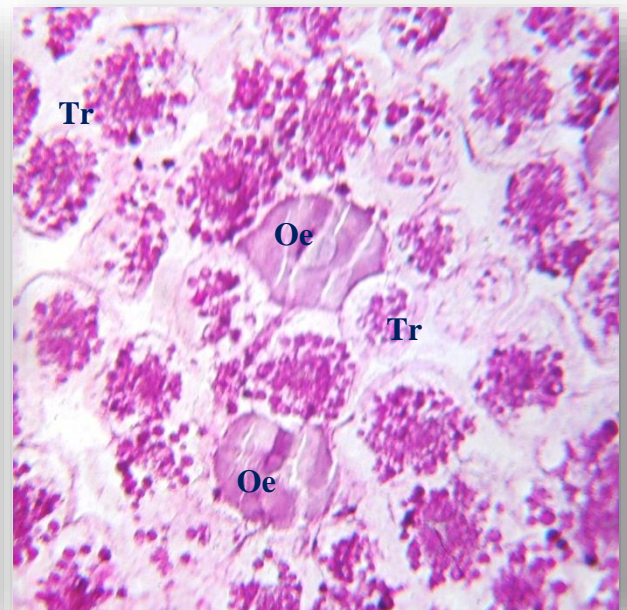


Figure 3 : Coupe histologique au niveau du corps gras chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4 jours. Coloration à l'HE. G. 400.

Au fort grossissement, on peut voir le nombre réduit des œnocytes (Oe) entourées par les trophocytes (Tr), le cytoplasme de ces dernières est riches en granules protéiques, gouttelettes lipidiques et du glycogène, le tout est contenu dans des vacuoles cytoplasmiques (flèches blanches)



Planche IV : Coupes histologiques du Tégument et du Tube Digestif chez la larve d'abeille *Apis mellifera intermissa* affamée de 4 jours.

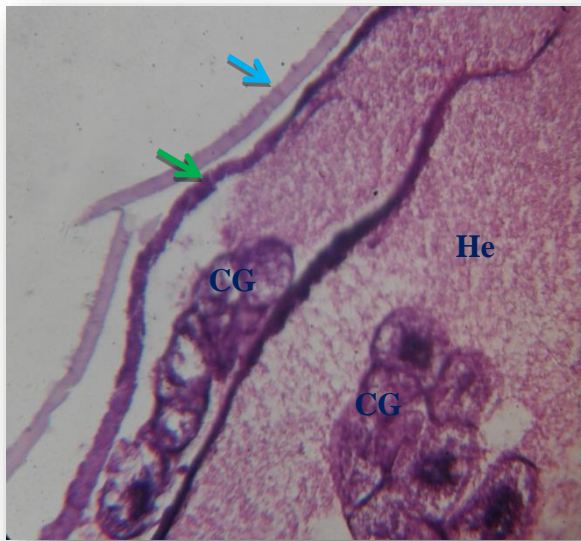


Figure 1 : Coupe histologique au niveau du Tégument chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4j Coloration au TM. G. 400.

Au grossissement moyen, il y'a épaissement des lames cuticulaires (flèche verte) et exuviales (flèche bleue). Plus la période de jeûne s'allonge plus il y'a de dépôts hydrocarbonés au niveau de ces structures. Les cellules du tissu soutien (corps gras) s'accroissent, elles sont contenues dans l'hémocoèle (He).

Figure 2 : Coupe histologique au niveau du Tube Digestif Moyen chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4j Coloration à l'HE. G. 400.

Toujours au grossissement moyen, nous pouvons observer l'aplatissement de l'épithélium vacuolaire avec une augmentation statistiquement significative de leur activité. Le cytoplasme devient plus pigmenté (flèches rouges) et le radorium en discontinu (flèches jaunes). Les cellules du corps gras aux noyaux plus actives (CG)



Figure 3 : Coupe histologique au niveau du Tube Digestif Moyen chez la larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4j Coloration à l'HE. G. 1000.

Au fort grossissement, le rapport nucléocytoplasmique des cellules intestinales augmente et le cytoplasme devient plus pigmenté (flèches rouges) et le radorium se découpe d'un endroit à un autre (flèche jaune).





I.3. Morphométrie des coupes histologiques

Les coupes histologiques nous ont permis de faire des mesures sur trois structures (le corps gras et les cellules épithéliales du tube digestif et le tégument).

I.3.1. Morphométrie du corps gras

Le corps gras est composé de deux sortes de cellules ; les œnocytes d'origine ectodermique, considérées comme cellules associées au corps gras, et les trophocytes d'origine mésodermique. Chaque type de cellule a un rôle bien déterminé dans le développement de la larve.

a) Morphométrie des œnocytes

La mesure d'une trentaine de cellules est faite à partir de 4 lots de larves, toutes soumises à des périodes de jeûne. Les paramètres surface cellulaire, surface nucléaire et le ratio nucléo-cytoplasmique (Tableau VI) sont traités statistiquement afin d'établir la relation entre eux dans un même groupe (lot) et entre les groupes.

Tableau VI : La morphométrie des œnocytes du corps gras chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h}, t_{48h}, t_{4j}, t_{5j})

La surface de la cellule (µm ²)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t _{12h}	261,193	1779,766	735,320	423,825
Traitées t _{48h}	1188,546	4361,465	2093,460	753,618
Traitées t _{4j}	1096,570	2669,430	1595,599	377,860
Traitées t _{5j}	739,498	4262,517	2365,790	881,624
Surface nucléaire (µm ²)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t _{12h}	38,474	411,539	113,851	92,195
Traitées t _{48h}	150,700	600,213	302,638	104,423
Traitées t _{4j}	130,630	548,300	342,496	103,102
Traitées t _{5j}	130,077	869,357	360,597	165,146
Le rapport nucléo-cytoplasmique				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t _{12h}	0,096	0,482	0,193	0,092
Traitées t _{48h}	0,080	0,378	0,183	0,069
Traitées t _{4j}	0,104	0,459	0,283	0,092
Traitées t _{5j}	0,065	0,430	0,204	0,099



Les mesures que nous avons effectuées sur la surface des cellules oenocytaires (SC), leur surface nucléaire (SN) et le ratio nucléo-cytoplasmique (RNC), chez les larves traitées montrent :

- ✓ Une augmentation hautement significative ($P < 0,0001$) de 222 % de la surface des cellules ($735,32 \pm 423,82 \mu\text{m}^2$ vs $2365,79 \pm 881,62 \mu\text{m}^2$),
- ✓ Une augmentation hautement significative ($P < 0,0001$) de 216 % de la surface nucléaire ($113,85 \pm 92,2 \mu\text{m}^2$ vs $360,6 \pm 165,17 \mu\text{m}^2$).
- ✓ Une augmentation significative ($p < 0,05$) de 47 % du ratio nucléo-cytoplasmique ($0,19 \pm 0,09$ vs $0,28 \pm 0,09$).

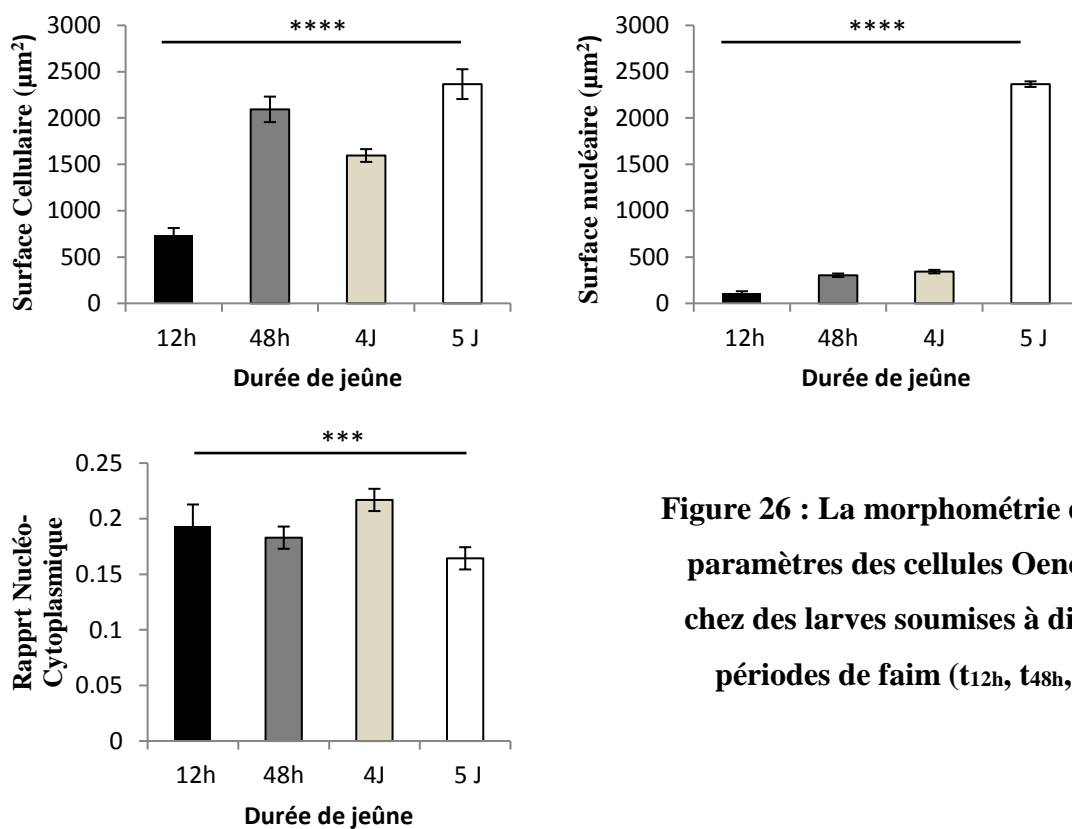


Figure 26 : La morphométrie de certains paramètres des cellules Oenocytaires chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h}, t_{48h}, t_{4j}, t_{5j})

Notons qu'après les périodes de faim, les cellules oenocytaires ont subi une augmentation dans leur taille, leurs noyaux et leurs rapport nucléo-cytoplasmique. Cela veut dire que la surface cytoplasmique a diminuée. Il est connu que les oenocytes sont impliquées dans la production et le stockage des lipides et les lipoprotéines (abondance des REL et des vacuoles de stockage), et aussi la synthèse des hydrocarbures de surface. Une telle diminution dans la surface du cytoplasme laisse prédire qu'il y a épuisement des réserves et produits sans qu'il y ait arrêt de l'activité cellulaire (ralentissement).



b) Cellules trophocytaires

La mesure d'une trentaine de cellules est faite à partir des lots expérimentés. Les paramètres surface cellulaire, surface nucléaire et le ratio nucléo-cytoplasmique (Tableau VII) sont traités statistiquement afin d'établir la relation entre eux dans un même groupe (lot) et entre les groupes (inter-groupes).

Tableau VII : La morphométrie de certains paramètres nucléaires des cellules trophocytaires chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h} , t_{48h} , t_{4j} , t_{5j}).

La surface de la cellule (μm^2)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t_{12h}	1483,410	4807,847	2497,719	750,800
Traitées t_{48h}	1554,983	2732,939	2118,788	288,576
Traitées t_{4j}	1018,923	2170,080	1452,704	293,622
Traitées t_{5j}	1266,723	3955,192	2360,961	679,510
Surface nucléaire (μm^2)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t_{12h}	335,982	1993,281	754,854	294,386
Traitées t_{48h}	283,896	1381,923	887,298	211,136
Traitées t_{4j}	213,478	660,604	366,444	111,022
Traitées t_{5j}	277,530	1785,668	952,529	381,789
Le rapport nucléo-cytoplasmique				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t_{12h}	0,202	1,291	0,472	0,224
Traitées t_{48h}	0,163	1,183	0,754	0,232
Traitées t_{4j}	0,154	0,666	0,350	0,121
Traitées t_{5j}	0,123	1,963	0,771	0,407

- ✓ Une diminution hautement significative ($P < 0,001$) de 72 % de la surface des cellules ($2497,72 \pm 750,80 \mu\text{m}^2$ vs $1452,70 \pm 293,62 \mu\text{m}^2$)
- ✓ Une augmentation très significative ($P < 0,01$) de 26,18 % de la surface nucléaire ($754,85 \pm 294,38 \mu\text{m}^2$ vs $952,53 \pm 381,79 \mu\text{m}^2$).
- ✓ Une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) de 69 % du ratio nucléo-cytoplasmique ($0,47 \pm 0,224$ vs $0,77 \pm 0,4$).

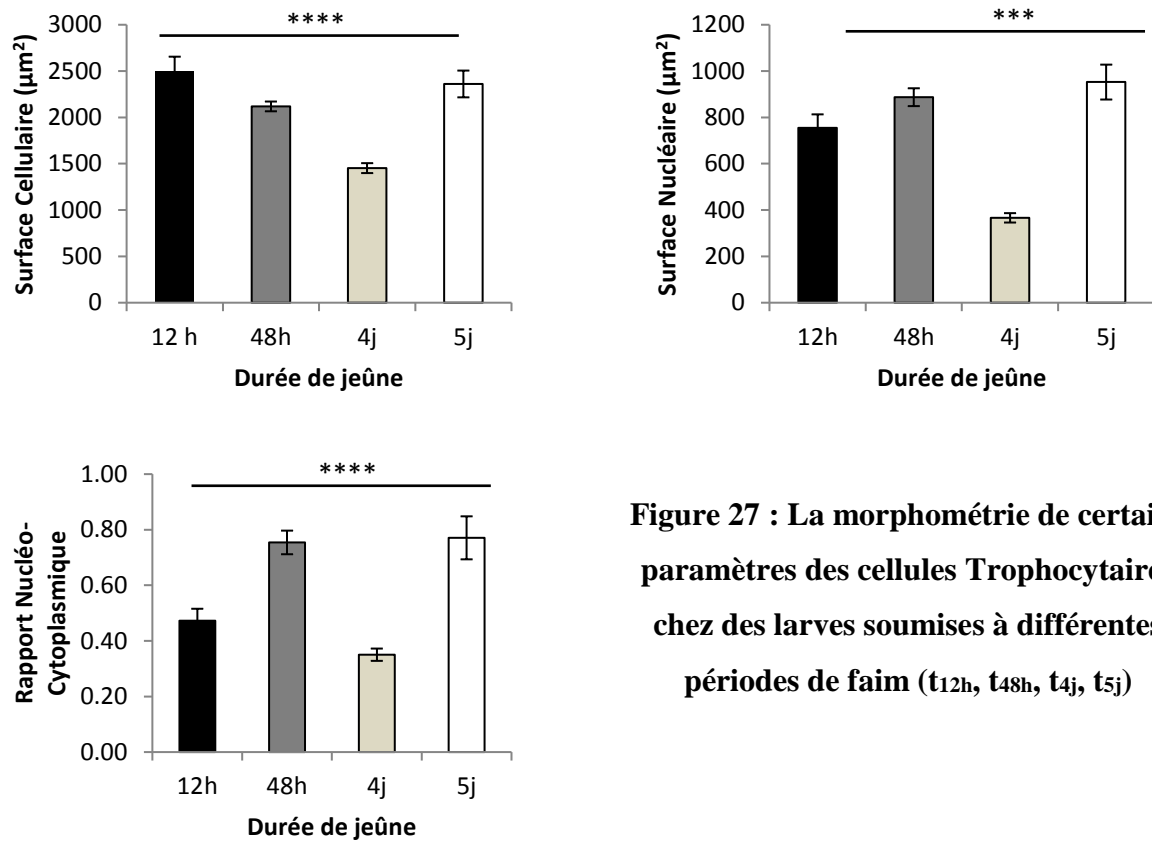


Figure 27 : La morphométrie de certains paramètres des cellules Trophocytaires chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h}, t_{48h}, t_{4j}, t_{5j})

Les observations faites sur les trophocytes, montrent qu'il y'a diminution de la taille cellulaire et augmentation de la surface nucléaire et du ratio nucléo-cytoplasmique, ce qui induirait inévitablement la réduction de la surface cytoplasmique. Parmi les rôles des trophocytes, nous pouvons citer l'entreposage des gouttelettes lipidiques, des granules protéiques et du glycogène. Une telle diminution dans la surface du cytoplasme signale aussi l'épuisement des réserves énergétiques sans que l'activité cellulaire soit interrompu (ralentissement).

c) Rapport trophocytes- œnocytes

Les cellules œnocytaires sont considérées comme des cellules associées au corps gras, leur présence dans ce dernier est tributaire de son environnement, ce qui nous pousse à chercher la relation entre ces cellules et les cellules trophocytaires. Un rapport entre les deux types de cellules est fait par un dénombrement aléatoire de trente zones du corps gras (Tableau VIII).



Tableau VIII : Le rapport entre les cellules oenocytaires et les cellules trophocytaires chez les larves expérimentées 12h et les larves affamées de 4 jours

Type de cellule	Nombre de cellules	
	Téraitées (t _{12h})	Traitées (t _{4j})
Oenocytes (Oe)	1,34	2,77
Trophocytes (Tr)	22,41	22,84
Rapport Oe/Tr	0,06	0,12

Le résultat montre bien que le rapport entre la présence des cellules oenocytaires et les cellules trophocytaires chez les larves testées aux différentes périodes de jeûne à bien **doublé**.

I.3.2. Morphométrie des cellules épithéliales du tube digestif

Pour cette partie, nous espérons voir le comportement des cellules épithéliales du tube digestif des larves d’abeille durant les différentes étapes de l’expérience (t_{12h}, t_{48h}, t_{4j}, t_{5j}). La mesure d’une trentaine de cellules est faite à partir des 4 lots. Les paramètres surface cellulaire, surface nucléaire et le ratio nucléo-cytoplasmique (Tableau IX) sont traités statistiquement afin d’établir la relation entre eux dans un même groupe (lot) et entre les groupes.

Tableau IX : La morphométrie de certains paramètres des cellules épithéliales du Tube Digestif chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h}, t_{48h}, t_{4j}, t_{5j}).

La surface de la cellule (µm ²)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t _{12h}	332,248	1321,435	639,575	250,488
Traitées t _{48h}	1245,270	17772,435	2755,945	2892,888
Traitées t _{4j}	2248,957	4605,656	3122,228	736,235
Traitées t _{5j}	778,831	4067,120	2375,928	737,945
Surface nucléaire (µm ²)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t _{12h}	48,945	752,043	163,747	160,846
Traitées t _{48h}	229,794	822,580	395,333	144,515
Traitées t _{4j}	316,950	887,975	553,766	146,052
Traitées t _{5j}	143,558	956,253	492,501	215,645
Le rapport nucléo-cytoplasmique				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t _{12h}	0,090	2,904	0,400	0,522
Traitées t _{48h}	0,016	0,506	0,228	0,104
Traitées t _{4j}	0,104	0,408	0,225	0,069
Traitées t _{5j}	0,115	0,595	0,265	0,105



Ces mesures entre les larves témoins et traitées montrent qu'il y'a :

- ✓ Une augmentation hautement significative ($P < 0,0001$) de 300 % de la surface des cellules ($639,57 \pm 250,48 \mu\text{m}^2$ vs $3112,22 \pm 736,23 \mu\text{m}^2$)
- ✓ Une augmentation hautement significative ($P < 0,0001$) de 200 % de la surface nucléaire ($163,74 \pm 160,84 \mu\text{m}^2$ vs $492,5 \pm 215,64 \mu\text{m}^2$).
- ✓ Une diminution non significative ($P > 0,05$) du ratio nucléo-cytoplasmique ($0,4 \pm 0,52$ vs $0,22 \pm 0,06$).

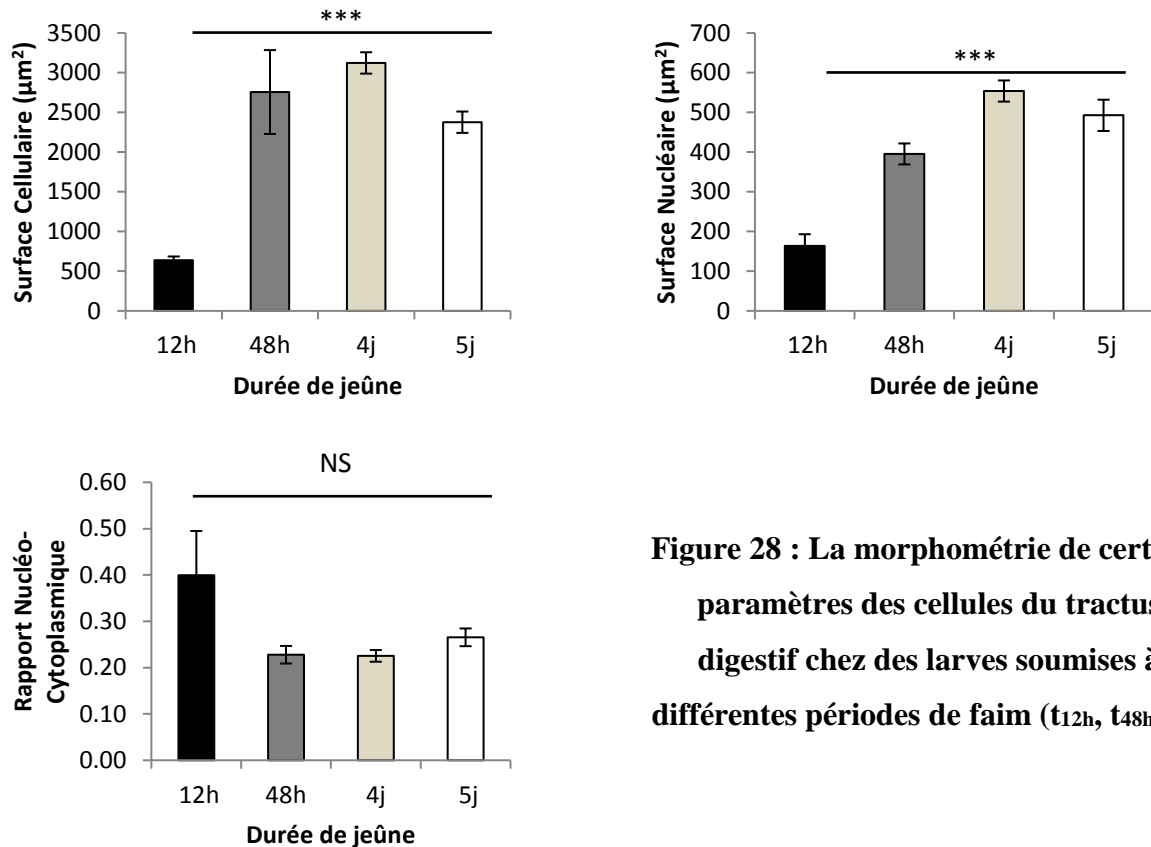


Figure 28 : La morphométrie de certains paramètres des cellules du tractus digestif chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h}, t_{48h}, t_{4j}, t_{5j}).

Nos observations montrent que la taille des cellules épithéliales au niveau du tube digestif des larves augmente au fur et à mesure que la période de faim s'allonge. Cette augmentation concerne aussi bien la surface cellulaire que la surface nucléaire, par contre le rapport nucléo-cytoplasmique diminue d'une manière non significative. Cela entraîne une augmentation considérable de la surface cytoplasmique. Pour ce qui est du rôle du tube digestif chez les larves d'abeilles, il est cité qu'il intervient dans la sécrétion de certaines enzymes protéolytiques et l'absorption. Cette augmentation de la taille des différents compartiments cellulaires est le signe d'une activité non interrompue. **L'activité intestinale**



continue d'une façon non interrompue chez les larves d'abeille soumises à une période de jeûne de cinq jours.

I.3.3. Morphométrie de l'exuvie et de la cuticule des différents lots de larves:

Pour cette partie, nous espérons faire le lien entre l'évolution de la cuticule au cours des mues et l'apparition des oenocytes exprimée en ratio onocyte/trophocytes au cours des différentes durée de jeûne (t_{12h} , t_{48h} , t_{4j} , t_{5j}) chez les larves d'abeilles. La mesure d'une trentaine de cellules est faite suivant les paramètres (épaisseur de l'exuvie, épaisseur de la cuticule et rapport Oenocyto-trophocytaires) (Tableau X). Ces mesures sont suivies par une analyse de corrélation simple afin d'établir le lien entre ce rapport et la mue.

Tableau X : La morphométrie de l'exuvie et de la cuticule chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h} , t_{48h} , t_{4j} , t_{5j}) et sa relation avec le rapport Oenocyto-trophocytaires.

Epaisseur de l'exuvie (μm)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t_{12h}	1,842	7,015	3,650	1,075
Traitées t_{48h}	2,430	16,137	8,632	4,021
Traitées t_{4j}	5,009	13,467	8,680	2,504
Traitées t_{5j}	5,816	12,347	9,003	1,659
Epaisseur de la cuticule (μm)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Traitées t_{12h}	3,841	9,040	6,102	1,464
Traitées t_{48h}	3,339	18,468	10,583	3,980
Traitées t_{4j}	4,206	21,670	10,578	4,697
Traitées t_{5j}	4,812	13,476	9,109	2,392
Rapport Oe/Tr				
Variable	Moyenne			
Traitées t_{12h}	0,06			
Traitées t_{48h}	0,07			
Traitées t_{4j}	0,12			
Traitées t_{5j}	0,08			

Ces mesures entre les larves témoins et traitées montrent qu'il y'a :

- ✓ Une augmentation hautement significative ($P < 0,0001$) de 145 % de l'épaisseur de l'exuvie ($3,65 \pm 1,07 \mu\text{m}$ vs $9,003 \pm 1,66 \mu\text{m}$)
- ✓ Une augmentation très significative ($p < 0,05$) de 49 % de l'épaisseur de la cuticule ($6,102 \pm 1,46 \mu\text{m}$ vs $9,109 \pm 2,39 \mu\text{m}$).

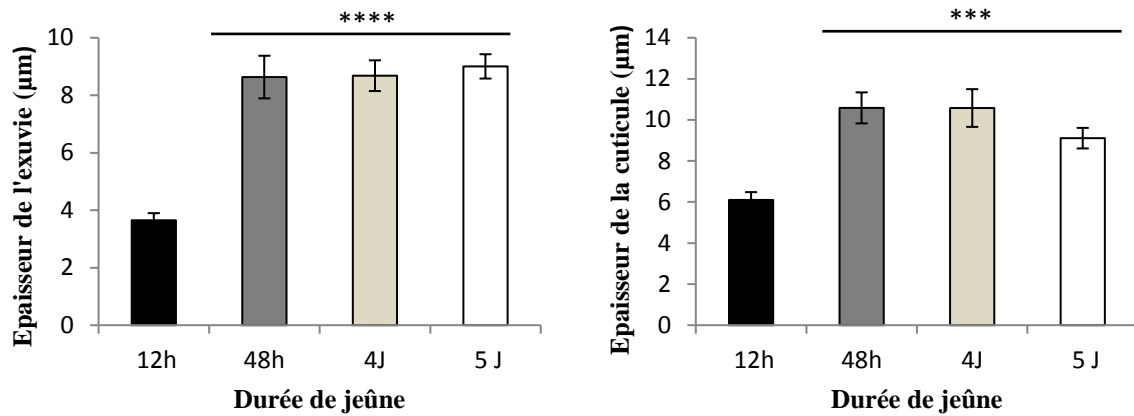


Figure 29 : La morphométrie des paramètres cuticulaires chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h}, t_{48h}, t_{4j}, t_{5j})

Nos observations montrent que l'épaisseur de l'exuvie et de la cuticule nouvellement formée augmente au fur et à mesure que la période de faim s'allonge. Nous dirons que cette augmentation est si significative qu'elle pourra entraîner **une certaine rigidité de la cuticule et une raideur entre les plis inter-segmentaires, ce qui ralentira le phénomène de mue.**

Pousser par notre curiosité, et vu que c'est les œnocytes qui sont responsables des sécrétions cuticulaires (hydrocarbures), il était essentiel de faire le lien entre le rapport des cellules œnocytaires et trophocytaires déjà calculé et le dépôt des sécrétions cuticulaires. La figure 30 montre bien que ces sécrétions (Ex, Cu) augmentent avec l'augmentation du rapport oeno-trophocytaire (Rot) où avec l'augmentation du nombre des œnocytes.

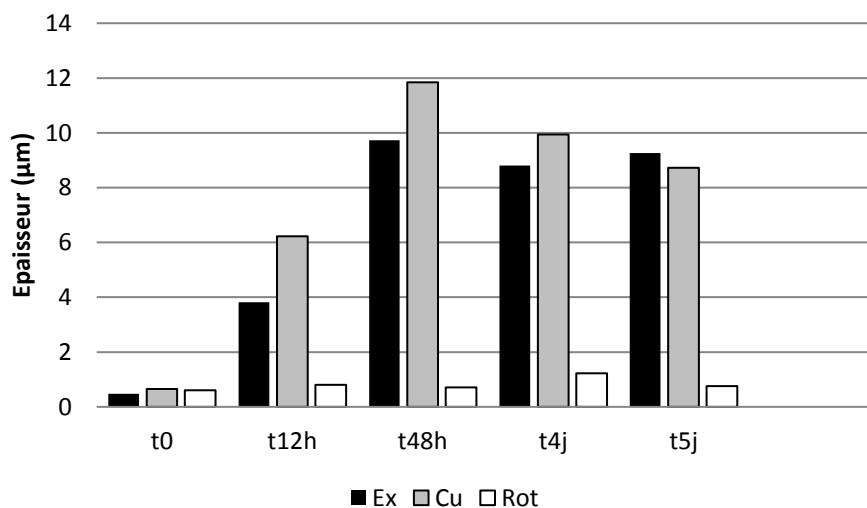


Figure 30 : Relation entre le dépôt cuticulaire (Épaisseur de l'exuvie (Ex) et de la cuticule (Cu) et le rapport oeno-trophocytaire (Rot) pendant les périodes de jeûne.

DISCUSSION
&
CONCLUSION

I. Discussion

Notre étude a pour but d'élucider le comportement de certaines cellules adipeuses en exposant des abeilles immatures (larves) à des périodes de faim, allant jusqu'à 4 à 5 jours. Des coupes histologiques ont été faites avec prise de mesures morphométriques qui ciblent essentiellement trois structures à savoir ; le corps gras (cellules trophocytaires et oenocytaires, le tube digestif moyen et le tégument (exuvie et cuticule).

Tous les paramètres morpho-métriques externes (Poids, taille, surface) présentent un rapport positif entre eux. Plus le poids augmente plus la taille et la surface augmentent, et cela chez les deux lots de larves (traitées 12heures et traitées 4 jours). Il se trouve que l'évolution pondérale des larves pendant les différentes périodes de jeûne n'est pas la même, le poids du dernier stade larvaire (L5) est 669 fois plus grand que le premier stade (L1) chez les larves affamées de 12h. Le poids de celles qui ont subi un jeûne plus long évolue lentement (x13). Il est clair que **les périodes de faim ont beaucoup plus d'influence sur l'évolution du poids des larves que sur leur taille et leur surface.**

C'est la mue qui permet la croissance de l'insecte. Il s'agit d'une croissance discontinue. Chaque espèce présente généralement un nombre fixe de mues (deux à six en moyenne) séparées par des stades. Chaque stade correspond à une forme et conserve des dimensions fixes. La croissance en longueur des larves se traduit par une courbe en escalier. La croissance en poids se traduit par une courbe continue, mais sinueuse puisque, entre deux mues, l'insecte se nourrit abondamment - son poids augmente - et qu'à l'approche de la mue, il arrête de s'alimenter - alors, son poids diminue. La Mue et la croissance sont généralement liées, mais peuvent ne pas l'être dans certaines conditions. C'est le cas du Collembole en écomorphose, qui mue alors qu'il ne s'alimente pas. C'est aussi le cas de la larve de *Tineola* (teigne) qui, bien nourrie, fait 4 mues larvaires en 26 jours de développement alors qu'en cas de jeûne, son développement dure 900 jours avec 40 mues ([Raccaud-Schoeller ., 1997](#)) L'insecte peut même devenir de plus en plus petit tout en muant: on rapporte le cas d'un petit Coléoptère, *Trogoderma*, qui mesurait 8 mm au moment de sa mise à jeun et 1 mm après cinq ans de jeûne (il pesait alors 1/ 600e du poids initial) ([Huryn Alexander et Bruce wallace ., 2000](#)).

Toutefois, il semble que l'évolution linéaire (taille, surface) soit beaucoup plus influencée par d'autres facteurs que l'alimentation. Chez le criquet, les modifications de taille

et de forme sont engendrées par d'autres facteurs dont le CO₂ et la thermophotosaison, les larves ont eu une croissance linéaire normale (Nicholas *et al.*, 1979).

La croissance pondérale et la croissance linéaire sont progressives au cours de la vie larvaire. Apparemment les larves affamées consacrent toute leur énergie à la mue, conséquence de l'augmentation des paramètres (taille et surface) au profit de l'augmentation du poids (épuisement des réserves énergétiques trouvées dans le tissu adipeux).

L'exploration du tissu adipeux à travers les coupes histologiques, nous laisse supposer deux hypothèses concernant l'existence de toutes les composantes de la matrice extracellulaire pendant la période larvaire :

- ✓ L'absence de la coloration topographique propre au collagène est dû au renouvellement continu de la matrice pendant cette période post-embryonnaire, qui se caractérise par l'abondance des sécrétions enzymatiques lors des mues alternées et rapprochées chez les larves d'abeilles. Effectivement, le liquide exuvial, riche en enzymes (chitinases et protéases) a pour fonction de digérer une grande partie de l'endocuticule de l'ancienne cuticule par apolyse, ce qui facilitera le phénomène d'exuviation (Michel ., 2010).
- ✓ La durée de fixation (dans le Bouin aqueux) des larves durant une période test allant de 2 à 5 jours a probablement endommagé la matrice extracellulaire, ce qui a rendu son observation difficile. Quoique la coloration à l'Hématoxyline-éosine a fait ressortir la topographie des cellules adipeuses. Pour ce qui est de la littérature, aucune durée de fixation précise n'est mentionnée (Le Conte *et al.*, 2006 . Yoshiko *et Reijiro ., 1988*).

Nos résultats histologiques révèlent la présence des deux types de cellules (trophocytes et œnocytes) au niveau du tissu adipeux. Les coupes histologiques montrent clairement l'existence des autres structures vitales telles que le tractus intestinal, tube de Malpighi, les glandes salivaires et le tégument.

Selon divers auteurs, le tissu adipeux ou corps gras chez les insectes à une origine mesodermique, il est formé de différents types de cellules groupées en rubans ou en lobes, et délimitées généralement par une lame basale. Quoique ce tissu soit distribué partout dans la cavité de corps d'insecte, il est plus abondant dans l'abdomen. Chez les insectes

holometaboles, le tissu adipeux est divisé en partie périphérique, qui est située juste au-dessous du tégument et la partie perivisceral, qui est formée par des lobes dans l'hémocoel. La partie périvisceral est attachée ou dissociée de l'organe viscéral (**Hauerland et Shirk ., 1995. Roma et al., 2010**).

Chez les Diptères, le tissu adipeux est formé par les trophocytes, qui sont des cellules à cytoplasme riche en mitochondries et en REG (**Raikhel et Lea., 1983. Martins et al., 2011a**).

Les trophocytes stockent des gouttelettes de lipide cytoplasmique (LDs) et des granules protéiques et le glycogène. Chez la femelle moustique, les trophocytes changent leur morphologie et la capacité de biosynthèse selon la demande énergétique des cellules (**Cardoso et al., 2010. Martins et al ., 2011b**). Chez certains ordres d'insecte, on a montré que les trophocytes peuvent être associé avec des cellules ectodermiques, appelées œnocytes dispersées dans le FB (**Martin et Ramalho-Ortigao., 2012**).

La cellule œnocytaire est large à aspect globulaire, elle est plus grande que les trophocytes mais présente en plus petites quantités. Son cytoplasme est acidophile, mais basophile pour la partie périnucléaire, le noyau est central avec distribution de la chromatine à la périphérie. Quant aux trophocytes, elles présentent des granules cytoplasmiques acidophiles avec une apparence vacuolée et un noyau polylobé (**Richardi et al., 2015**).

Les mesures morphométriques effectuées sur ces cellules, à partir de quatre lots de larves (affamées pendant 12h, 48h, 4 et 5jours) ont révélé qu'après les périodes de faim, les cellules œnocytaires et trophocytaires ont subi respectivement une augmentation, une réduction dans leur taille avec augmentation de la surface nucléaire. Le rapport nucléocytoplasmique a augmenté avec la réduction probable de la surface cytoplasmique.

Une variété de fonctions métaboliques a été assignée à ces cellules, y compris l'approvisionnement et le stockage de substances nutritives, l'élimination de substances toxiques (homéostasie) et la participation dans la réaction immunitaire. Le stockage de lipide est essentiel, et même critique pour le développement d'insectes, assurant ainsi la survie pendant la nymphose et pendant des périodes où des sources alimentaires sont indisponibles, aussi bien que la fourniture des composants du vitellus qui garantissent le bon développement des œufs (**Arrese et Soulages ., 2010**). De plus, les réserves de lipide peuvent aussi être mobilisées par le tissu adipeux en réponse à la demande d'énergie d'autres organes, tels que les muscles de vol et des ovaires (**Canavoso et al., 2001**).

Une telle diminution dans la surface du cytoplasme laisse prédire qu'il y a épuisement des réserves sans qu'il y'ait arrêt de l'activité cellulaire (ralentissement).

Ainsi, Le rapport trouvé entre la présence des cellules oenocytaires et les cellules trophocytaires chez les larves affamées de 12h et 4j a dupliqué, montrant par-là, l'activité intense des cellules oenocytaires lors de la privation de nourriture. Il se peut que ce comportement soit une réaction normale au stress alimentaire, suggéré d'ailleurs par quelques auteurs, en impliquant aussi les oenocytes dans les réactions immunitaires et dans l'élimination de substances toxiques ([Lycett et al ., 2013](#)).

La morphométrie du tube digestif moyen (mésentéron) chez la larve d'abeille révèle une augmentation de la taille des cellules épithéliales. **L'activité intestinale continue d'une façon non interrompue chez ces larves soumises à une période de jeûne de cinq jours.** Pour ce qui est du rôle du tube digestif chez les larves d'abeilles, il est cité qu'elles interviennent dans la sécrétion de certaines enzymes protéolytiques et l'absorption. Cette augmentation de la taille des différents compartiments cellulaires est le signe d'une activité non interrompue.

Les larves d'abeilles deviennent avec l'âge de moins en moins sensibles à l'infection ([Bamrick ., 1967](#)). Il a été proposé que c'est la matrice péritrophique (PM) qui agit comme une barrière efficace ([Gregorc et Bowen., 1998](#)). La matrice péritrophique, bordant l'épithélium du mésentéron, est une couche organisée composée de glycoprotéines et de chitine ([Tellam et Eisemann ., 2000](#)). Cette matrice intervient aussi bien dans la compartimentation des processus digestifs, que dans la protection de l'épithélium mésentérique contre les toxines ingérées, les particules alimentaires abrasives et les agents pathogènes ([Hegedus et al., 2009](#)). Il a été trouvé que tout blocage de la formation de la matrice péritrophique retarde le développement larvaire et augmente la mortalité vis-à-vis baculovirus ([Wang et Granados., 2000](#)).

Cependant, les agents pathogènes des insectes ont développé leurs propres outils pour perturber l'intégrité de cette matrice pérotrophique, pour exemple, plusieurs baculovirus et bactéries entériques entomopathogènes codent pour les métalloprotéases, qui dégradent cette composante matricielle, ce qui augmentera la perméabilité des particules, permettant ainsi au pathogène d'attaquer l'épithélium sous-jacent ([Peng et al., 1999](#). [Hajajj-Ellouze et al., 2006](#)).

Nos observations montrent que l'épaisseur de l'exuvie et de la cuticule nouvellement formée augmente au fur et à mesure que la période de faim s'allonge. Nous dirons que cette augmentation est si significative qu'elle pourra entraîner **une certaine rigidité de la cuticule et une raideur entre les plis inter-segmentaires, ce qui ralentira le phénomène de mue. Chez ces larves affamées le nombre de cellules oenocytaires augmente, ce qui entraîne une augmentation de l'épaisseur de la cuticule.** C'est ce qui a été rapporté par la littérature (Young *et* Schal ., 1997).

La cuticule qui recouvre toute la surface corporelle des insectes ne participe pas uniquement à la défense contre les agents pathogènes et les facteurs environnementaux, mais elle a également un rôle indispensable dans la construction et maintien des caractéristiques morphologiques externes et locomotives pendant tout le développement de l'insecte (Moussian *et al.*, 2005).

La cuticule est un matériau de composite complexe comprenant principalement de fibres de chitine et protéines (Andersen *et al.*, 1995. Moussian., 2010). Au niveau de la procuticle, les fibres de chitine sont disposées en lames antiparallèles et se superposées, formant des feuilles de fibrilles qui sont empilés d'une manière hélicoïdale, ce qui maintient la structure de la cuticule, son élasticité et sa stabilité (Moussian ., 2010). Chez les insectes terrestres, la teneur en chitine est positivement corrélée à la taille du corps, suggérant une relation étroite avec extension et expansion de la cuticule (Merzendorfer *et* Zimoch ., 2003. Lease *et* Wolf ., 2010).

Chez les larves des lépidoptères la cuticule est souple, elle exerce une légère pression au niveau des plis inter-segmentaires pour stabiliser le long corps cylindrique de la larve (Carter *et* Locke., 1993. Brackenbury 1997. Lin *et al.* 2009).

II. Conclusion et perspectives :

Dans le cadre de cette étude, nous avons exposé des larves d'abeille de tout âge à des périodes de faim allant jusqu'à 5 jours, afin d'observer le comportement de certaines structures. Des coupes histologiques ont été faites avec prise de mesures morphométriques qui ciblent essentiellement le corps gras (trophocytes et œnocytes), les cellules épithéliales de l'intestin moyen (mésentéron) et le tégument (cuticule et exuvie).

Pour ce faire, nous avons utilisés des approches histologique, histochimique voire morpho-métrique qui ont abouti aux résultats suivants :

- ✓ Tous les paramètres externes (Poids, taille, surface) présentent un rapport positif entre eux, avec une évolution pondérale des larves affamées plus lente ($L5=13xL1$) que celle des larves moins affamées ($L5=669xL1$). **Les périodes de faim ont beaucoup plus d'influence sur l'évolution du poids des larves que sur leur taille et leur surface.**
- ✓ Nos résultats histologiques révèlent la présence des deux types de cellules (trophocytes et œnocytes) au niveau du tissu adipeux avec négativité des colorations topographiques (Hématoxyline-éosine, Trichrome de Masson) et histochimiques (APS) sans doute due à la période de fixation non encore bien établie. Chez les lots expérimentés plus longtemps, ces cellules présentent une diminution dans leur surface cytoplasmique **qui laisse prédire qu'il y a épuisement des réserves sans qu'il y'ait arrêt de l'activité cellulaire (ralentissement).**
- ✓ **Une continuité** dans l'activité des cellules épithéliales mésentériques même dans les conditions de jeûne prolongé. Par contre **le rabdorium et/ou la matrice pérîtrophique est interrompue** d'un endroit à un autre.
- ✓ Une augmentation de l'épaisseur de la cuticule (et exuvie) **ce qui ralentira le phénomène de mue de croissance chez ces larves d'abeille affamées**

En perspectives, il serait utile d'élargir cette étude par :

- Confection de nouvelles coupes histologiques avec des périodes de fixation variées ;
- Mesure des mêmes paramètres morpho-métriques dans des conditions à générer un stress alimentaire.
- Utilisation d'autres colorations à révélation lipidique.

Références Bibliographiques



(A)

Adam F., 1953. A la recherche des meilleures lignées d'abeilles (Second Voyage). Publié en français dans *La Belgique Apicole*. vol. 19. 72- 80p.

Adam G., 2010. La biologie de l'abeille. Cours École d'apiculture Sud-Luxembourg. 26p.

Alberti G et Hänel H., 1986. Fine structure of the genital system in the bee parasite *Varroa jacobsoni* (Gamasida: Dermanyssina) with remarks on spermiogenesis, spermatozoa and capacitation. *Experimental & applied acarology*. vol. 2.63–104p.

Albouy V., 2012. des traités d'apiculture atypique à usage des amis des abeilles. Ed. la lesse. Edisud. PP. 147.

Alphandery R., 1992. La route du miel. Le grand livre des abeilles et de l'apiculture Ed. Nathan. Paris. pp. 260.

Amdam GV ; Aase. A.L.T.O; Seehuus SC ; Kim Fondrk M ; Norberg K ; Hartfelder K., 2005. Social reversal of immunosenescence in honey bee workers. *Experimental gerontology*. vol. 40. 939-947p.

Andersen SO; Hojrup; P and Roepstorff P., 1995. Insect cuticular proteins. *Insect Biochem. Mol. Biol.* Vol. 25. 153–176p.

Arrese EL; Soulages JL., 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu Rev. Entomol.* Vol.55.207-225p.

(B)

Baldensperger PJ ; 1932. Variété d'abeilles en Afrique du Nord. 5^{ème} congrès international. *J. Entomology*. 829-839p.

Bamrick JF., 1967 . Resistance to American foulbrood in honey bees. VI. Spore germination in larvae of different ages. *J Invertebr Pathol.* vol. 9. 30–34p.

Barour C; Tahar A; Baylac M., 2011. Forewing shape variation in Algerian honeybee populations of *Apis mellifera intermessa* (Buttel-Reepen, 1906) (Hymenoptera: Apidae): A landmark based geometric morphometrics analysis. *J. African Entomology*. vol.19.11-22p.

Bellerose LH., 1883. Petit manuel d'apiculture a l'usage des écoles. pp.141.

Belzunces LP., Vandame. R ; Gu. X ; 1996. Modulation of honey bee thermoregulation by adrenergic compounds. *Neuroreport* vol.7. 1601–1605p.

Bendjedid H et Achou M., 2014. Etude de La Diversité Morphométrique de Deux Populations d'Abeilles Domestiques (*Apis Mellifera Intermessa* et *Apis Mellifera Sahariensis*) Du Sud Algérien. *Synthèse : Revue des Sciences et de la Technologie*. vol. 95. 84–95p.

Bertrand B., 2013. Analyse de la diversité génétique de populations d'abeilles de la lignée



Ouest Méditerranéenne (*Apis mellifera mellifera*) : Application à la conservation. Thèse de doctorat en *Biologie Moléculaire et Génétique*. Univ. Paris-Sud. pp .131.

Biri M., 2002. Le Grand livre des abeilles cours d'apiculture moderne. Ed. De Vecchi Paris. pp.260.

Biri M., 2010. Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture. Ed. De Vecchi. Paris.pp.302.14-101p.

Boch R et Shearer DA., 1964. Identification of nerolic acid in the Nassenoff pheromone of the honey bee. *Nature*. Vol. 202. 320-321p.

Boch R; Shearer D; Stone BC., 1962. Identification of Iso-amyl-acetate as an Active Component in the Sting Pheromone of the Honey Bee. *Nature, G.B.* vol. 195.1018-1020p.

Brouwers EV; Eber R ; Beetsma J., 1987. Behavioural and physiological aspects of nurse bees in relation to the composition of larval food during caste differentiation in the honeybee. *J. Apicult. Res.*, vol. 26. 11-23p.

Bruneau E., 2006. Nutrition et malnutrition des abeilles. Biodiversité des plantes : une clé pour l'alimentation et la survie des abeilles. Comptes rendus de l'Académie d'agriculture de France.10p.

Butler CG et Simpson J., 1965. Pheromones of the Honeybee (*Apis mellifera* L.) An Olfactory Pheromone from the Koschewnikow Gland of the Queen. *Scientific Studies, Univ. Librice, ceskosl.* vol. 4. 33-36p.

Butler CG et Simpson J; 1967. Pheromones of the queen honeybee (*apis mellifera* L) which enable her workers to follow her when swarming. *Proc. r. entomol. soc. London.A.* vol.42. 149-154p.

Butler CG; Callow RK; Chapman JR., 1964. 9-Hydroxydec-trans-2-enoic Acid, a Pheromone Stabilizing Honeybee Swarms. *Nature, G.B.* 201, 733p.

Butler CG; Fairey EM., 1964. Pheromones of the Honeybee: Biological Studies of the Mandibular Gland Secretion of the Queen. *J. Apicult. Res. G.B.* vol. 3.65-76p.

Butler CG; Fletcher DCJ; Watler D., 1969. Nest-entrance Marking with Pheromones by the Honeybee *Apis mellifera* L. and by a Wasp. *Vespula vulgaris* L. *Animal Behav. G. B.* vol. 17. 142-147p.

Buttel-Reepen HV., 1906. Apistica Beitragezur Systematik, Biologie, sowie zurgeschichtlichenund geographischen Verbreitung der Honigbiene(*Apis mellifera* L.), ihrer Varietaten und der ilbrigen *Apis*-Arten.*MitteilWigen aus dem ZoologischenMuseum im Berlin.* vol. 3. 121-196p.



(C)

- Canavoso LE, Jouni, ZE, Karnas KJ, Pennington JE, Wells MA. 2001.** Fat metabolism in insects. *Annu Rev. Nutr.* Vol.21. 23-46p.
- Cannet C., 2006.** Les colorations topographiques. *Rev.Fr.Histotechnol.*vol. 19.85-96p.
- Cardoso AF; Cres RL; Moura AS; de Almeida F; Bijovsky AT., 2010.** *Culex quinquefasciatus* vitellogenesis: morphological and biochemical aspects. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* .vol.105.254-262p.
- Caron DM., 1999.** Honey bee biology and beekeeping. *Wicwas Press*, LLC. Cheshire. 355p.
- Chauvin R., 1958.** Biologie de l'abeille revue générale jusqu'en 1956. Station de Recherches Apicoles, Bure-sur-Yvette.
- Clément H., 2009.** L'abeille sentinelle de l'environnement. Paris. *Alternatives*. 144 p.
- Clément H., 2010.** Une ruche au jardin. Ed. Rustica. Paris.pp.79.20-29p.
- Cruz-Landim C. 1983.** O corpo gorduroso da larva de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Apidae: Meliponinae). *Naturalia* .vol.8.7-23p.

(D)

- Daniel Y., 1983.**le pollen.Ed .mloine.6eme édition. Paris. 11-17p.
- Dessart P., 1975.** L'abeille Institut. Royal. Météorologique. Belgique. pp. 120.
- Donzé G., 1995.** Adaptations comportementales de l'acarien ectoparasite *Varroa jacobsoni* durant sa phase de reproduction dans les alvéoles operculées de l'abeille mellifère *Apis mellifera*. Thèse de doctorat ès sciences. Univ. Neuchâtel. pp. 152.

(E)

- Engel MS ; Hinolosa-Díaz IA ; Rasnitsyn AP., 2009.** A honey bee from the Miocene of Nevada and the biogeography of *Apis* (Hymenoptera: Apidae: Apini). *Proceedings of the California Academy of Sciences*. vol.60.23-38p.

(F)

- Faucon JP., 1992.** précis de pathologie.connaître et traiter les maladies des abeilles .Ed.Cneva-Fnosad. Angers. pp. 512.
- Fluri P., 1994.** Réflexions des chercheurs en apiculture sur la régulation de la durée de vie des ouvrières. *Journal suisse d'Apiculture*. vol. 91. 19-27p.
- Free J.B., 1970.** Insect pollination of crops. Academic Press, London. 544p.
- Free JB., 1987.** Pheromones of Social Bees. Chapman and Hall. London.
- Free. J. B et Butler. C. G; 1955.** An Analysis of the Factors involved in the Formation of the Cluster of Honeybees. *Behaviour*, Nelherl. vol.7. 304-316p.



Frérés JM; Guillume JC., 2011. L'apiculture écologique de A à Z. nouvelle Ed. marco pietteur.pp.816.119-142p.

(G)

Gabe M., 1968. Technique histologique .Ed. Masson et Cie, Paris .1113p.

Ganter P et Jollés G., 1970. Histologie Normale et Pathologique. Éd. Gauthier-Villars.vol.2.

Garnery L., 1998. Genetic diversity of the west European honey bee(*Apis mellifera mellifera*and *Apis mellifera iberica*).vol.30.49-74p.

Gary NE., 1962. Chemical mating attractants in the queen honey bee. Science. V. 136. 773-74p.

Gempe T; Hasselmann M; Schjøtt M ; Hause G ; Otte M ; Beye M., 2009. Sex Determination in Honeybees: Two Separate Mechanisms Induce and Maintain the Female Pathway. PLoS Biol. vol. 7.

Girdwoyi M., 1876. Anatomie et physiologie de l'abeille .Ed. Paris. 39p.

Gregorc A and Bowe ID.,1998. Histopathological and histochemical changes in honeybee larvae (*Apis mellifera* L.) after infection with *Bacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood disease. Cell Biol Int. vol. 22. 137–144p.

Gregory P; 2011. Manuel d'Apiculture Elémentaire.Ed. fera. pp.70. 3-12p.

Grissa K; Cornuet JM ; Msadda K ; Fresney J., 1990. Etude biométrique des populations d'abeilles tunisiennes.J. *Apidologie*. vol.21. 303–310p.

Guerzou M et Nadji N., 2002. Etude comparative entre quelques miels locaux et autres importes, mémoire d'ingénieur en agronomie. Univ. Ziane Achour de djelfa. Alger.pp.184.

Gustin Y., 2008. L'apiculture illustrée. Eds. Rustica. Fler. Paris. pp.223.

(H)

Haccour P., 1960. Recherche sur la race d'abeille saharienne au Maroc. Comptes Rendus, Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc. vol.6. 96-98p.

Haddad NJ ; Loucif-Ayad W ; Adjlane N ; Deepti S ; Rushiraj M ; Venkatesh K; Banan A; Batainh AM ;Mugasimangalam R .,2015. Draft genome sequence of the Algerian bee *Apis mellifera intermissa*. Genomics Data. vol. 4. 25–24p.

Hajaij-Ellouze M; Fedhila S; Lereclus D and Nielsen-LeRoux C., 2006. The enhancin-like metalloprotease from the *Bacillus cereus* group is regulated by the pleiotropic transcriptional activator PlcR but is not essential for larvicidal activity. FEMS Microbiol Lett vol.260. 6-16p.

Hauerland NH et Shirk PD., 1995. Regional and functional differentiation in the insect fat body. Annu. Rev. Entomol. vol 40.121-145p.



Hegedus D; Erlandson M; Gillott C and Toprak U., 2009. New insights into peritrophic matrix synthesis, architecture, and function. *Annu Rev Entomol* vol.54.285–302p.

Hennebelle S., 2010. L'abeille *In* Doc apiculture.

Huryn Alexander D; Bruce Wallace J ., 2000. Life history and production of stream insects.*Annu. Rev. Entomol.* Vol.45.83-110p.

(I)

Ioiriche EN., 1979. Les abeilles. Pharmaciennes ailées. Ed. Mir. Moscou. PP.228.

(J)

Jay SC., 1962. Colour changes in honeybee pupae. *Bee World* .vol.43. 119-122p

Jay SC., 1963. The longitudinal orientation of larval honeybees *Apis mellifera* in their cells.*Can. J. Zool.*vol.41. 717-723p.

Jay SC., 1964. The cocoon of the honeybee *Apis mellifera* L *Can. Entomot.* vol. 96.784-792p.

Johnson R ; Borowiec M; Chiu J ;Lee E ; Atallah J ; Ward. P., 2013. Phylogenomics resolves evolutionary relationships amongs ants, bees, and wasps. In *Current Biology.* vol. 23. 1-5p.

(K)

Kaatz H; Hilderbrandt H; Engels W., 1992. Primer effect of queen mandibular pheromone on juvenile hormone biosynthesis in adult worker honey bees. *J Comp Physiol B.* vol.162. 588-592p.

Kalem K., 2013. Précis d'anatomie pathologique du laborantin. Office des publications universitaires. 89p.

Karlson P et Luscher M., 1959. « Pheromones: a New Term for a Class of Biologically Active Substances. *Nature.* G.B.vol.183, 55-56p.

Karlson P et Butenandt A., 1959. Pheromones (ectohormones) in insects. *Ann. Rev. Entomol.,U.S.A.* vol. 4. 39-48p.

Koeniger N et Veith HJ., 1983. Identification of triglyceride (glyceryl-1,2-dioleate-3-palmitate) as a brood pheromone of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie.* vol. 14.204-210p.

Kotthoff U ; Wappler T ; Engel M., 2011. Miocene honey bees from the Randeck Maar of southwestern Germany (Hymenoptera, Apidae).

(L)

Lamy M., 2000. Les étapes successives de la mue. *Biologie de l'insecte.*vol.8. 31-34p.

Le Conte Y ; Becard JM ; Costagliola G ; de Vaublanc G ; El Maataoui DC; Plettner E ;



- Slessor KN., 2006.** Larval salivary glands are a source of primer and releaser pheromone in honey bee (*Apis mellifera* L.) .*Naturwissenschaften*.vol.93.237–41p.
- Le conte Y., 2011.** Mieux connaitre l'abeille. La vie sociale de la colonie. In : Bruneau.E ; Barbançon J.-M ; Bonnaffé P. Clément H ; Domerego. R ; Fert G ; Le Conte. Y ; Ratia .G ; Reeb. C ; Vaissière. B. *Le traité Rustica de l'apiculture*. Ed. Rustica. Paris. pp.527. 12-83p.
- Le Conte Y; Arnold G; Trouiller J; Masson C; Chappe B., 1990.** Identification of a brood pheromone in honeybees. *Naturwissenschaften*. vol. 77. 334-336p.
- Lease HM and Wolf BO., 2010.** Exoskeletal chitin scales isometrically with body size in terrestrial insects. *J. Morphol.* vol.271. 759–768p.
- Lin HT; Dorfmann AL and Trimmer BA., 2009.** Soft-cuticle biomechanics: a constitutive model of anisotropy for caterpillar integument. *J. Theor. Biol.* Vol.256. 447–457p.
- Lobreau-Callen D et Damblon F., 1994.** Spectre pollinique des miels de l'abeille *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) et Zones de Végétations en Afrique Occidentale Tropicale et Méditerranéenne. *Grana*. vol.33. 245-253p.
- Loucif AW; Achou M; Legout H; Alburaki M; Garnery L., 2014).** Genetic assessment of Algerian honeybee populations by microsatellite markers. *Apidologie*.
- Lycett GJ; McLaughlin LA; Ranson H; Hemingway J; Kafatos FC; Loukeris TG., 2006.** *Anopheles gambiae* P450 reductase is highly expressed in oenocytes and *in vivo* knockdown increases permethrin susceptibility. *Insect Mol. Biol.* Vol.15. 321-327p.

(M)

- Marchenay P et Berard L., 2007.** L'homme, l'abeille et le miel. Ed. Borée. Paris. pp.223.
- Martin C; Salvy M; Provost E; Bagnères AG; Roux M; Crauser D; Clément JL ; Le Conte Y., 2001.** Variations in chemical mimicry by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* according to the developmental stage of the host honey-bee *Apis mellifera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* .vol . 31.
- Martin SJ., 1994.** Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp. Appl. Acarol.*vol. 18.87-100p.
- Martins GF et Ramalho-Ortigão JM., 2012.** Oenocytes in insects. *Invertebr. Surv.* Vol.9. 139-152p.
- Martins GF; Serrão JE; Ramalho-Ortigão M.; Pimenta PFP., 2011b.** Histochemical and ultrastructural studies of the mosquito *Aedes aegypti* fat body: effects of aging and diet type. *Microsc. Res. Tech.* vol.74.1032-1039p.
- Martins GF;Serrão JE; Ramalho-Ortigão M; Pimenta P., 2011.** A comparative study of



- fat body morphology in five mosquito species. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Vol106. 742-747p.
- Martoja R et Martoja PM., 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animal. Eds Masson et cie. Paris. 300-301p.
- Marx R., 1987.** Changes in the fat body ultrastructure during the fifth larval instar in workers, queen and drones of the honey bee, *Apis mellifera* L. In: Eder, J., Rembold, N. (Eds.), Chemistry and Biology of Social Insects. Peperny Verlag Munchen, Berlin pp:86–87.
- Maschwitz UW., 1964.** Alarm Substances and Alarm Behavior in Social Hymenoptera Nature, G.B.vol.204. 324-327p.
- Medori P et Colin ME., 1982.** Les abeilles comment les choisir et les protéger de leurs ennemis .Ed. J.B. Baillièrè. Paris. pp.129.5-27p.
- Melathopoulos AP ; Winston. M.L; Pettis. JS ; Pankiw. T ; 1996.** Effect of queen mandibular pheromone on initiation and maintenance of queen cells in the honey bee (*apis mellifera* l.).vol. 128. 263-272p.
- Merzendorfer H and Zimoch L., 2003.** Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. J. Exp. Biol. Vol.206. 4393–4412p.
- Michel L .,2010.** Les Insectes et les hommes. eBook. PP.420.
- Michener CD., 2000.** The Bees of The World. The Johns Hopkins University Press.pp.807.
- Moussian, B., 2010.** Recent advances in understanding mechanisms of insect cuticle differentiation. Insect Biochem. Mol. Biol. Vol.40. 363–375p.
- Moussian, B; Schwarz H; Bartoszewski S and Nusslein-Volhard S., 2005.** Involvement of chitin in exoskeleton morphogenesis in *Drosophila melanogaster*. J. Morphol. Vol.264. 117–130p.

(N)

- Nicholas G; Fuzeau-Braeschs S; Elgolli N; Arba J., 1979.** Etude morphométrique de deux souches de *Locusta migratoria* L. Analyse des actions du CO₂ et de la thermo-photopériode. Acad. sci.Paris T. vol.288. 119 – 122p.

(P)

- Paes de Oliveira VT et da Cruz-Landim. C., 2003.** Morphology and function of insect fat body cells: Review. Biocencias vol.11. 195–205p.
- Paillet A; Kirkor S; Granger A ., 1949.** L'Abeille, anatomie, maladies, ennemis. Ed. Trevous. pp.172.
- Pain J., 1961.** Sur la phéromone des reines d'abeilles et ses effets physiologiques. Thèse Sc. nat. Paris.103 p.



- Pain J., 1971.** Pheromones et comportement chez quelques hyménoptères. *Apidologie* .vol. 2.319-355p.
- Pascal R., 2009.** Les abeilles et la fabrication du miel. Ed. Astronome. Europe. 17-27p.
- Paterson PD., 2008.** L'apiculture. Ed. Quae CTA .pp.163.
- Paxton RJ., 2005.** Male mating behaviour and mating systems of bees: An overview. *Apidologie* vol.36. 145-156p.
- Peacock P., 2008.** Apiculture. Ed. Marabout. pp.144.
- Pedigo LP., 2002.** Entomology and pest management. Fourth edition. Prentice Hall.742p.
- Pelletier C; Cloutier I; Goulet D., 1994.** revue des études sur les effets biologiques des champs électriques et magnétiques sur les abeilles. Hydro-Québec. 37p.
- Peng J Zhong J and Granados RR., 1999.** A baculovirus enhancin alters the permeability of a mucosal midgut peritrophic matrix from lepidopteran larvae. *J Insect Physiol.* Vol. 45. 159–166p.
- Pham-delegue MH., 1999.** Les abeilles. Ed. Genève. Minerva. 206 p.
- Philippe JM., 2007.** Le guide de l'apiculture. Ed. Aix-en-Provence. France. pp. 347.
- Piroux M., 2014.** Ressources poulinières et mellifères de l'Abeille domestique, *Apis Mellifera*, en paysage rural du nord-ouest de la France. Sciences agricoles. Univ. Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. pp.318.
- Pohl F., 2008.** l'élevage des abeilles. Ed. Artémis.95p.
- Prost JP., 2005.** Apiculture : Connaître l'abeille. Conduire le rucher. Ed. J.B. Baillière.7e édition revue et complétée par Le conte Y. pp. 698.

(R)

- Raccaud-Schoeller J., 1997.** Les insectes : Physiologie, développement. Ed Dunod .p296.
- Raikhel AS, Lea AO.1983.** Previtellogenic development and synthesis in the fat body of a mosquito: an ultrastructural and imunocytochemical study. *Tissue Cell* .vol.15.281-300p.
- Rasolofoarivao H., 2014.** *Apis mellifera unicolor* (Latreille, 1804, Hymenoptera: Apidae) et *Varrroa destructor* (Anderson and Trueman, 2000, Acari : Varroidae) à Madagascar : diversité génétique, impact et comportement hygiénique.Thèse doctorat en Sciences.pp.144.
- Ravazzi G., 2007.** Abeille et apiculture. Ed. Vecchi. Paris. pp. 159.12-39p.
- Rembold H; Kremer JP; U Irich GM., 1980.** Characterization of postembryonic developmental stages of the female castes of the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie*. vol. 11. 29-38p.
- Renner M et Baumann M., 1964.** Über Komplexe von subepidermalen Drüsenzellen



(Duftdrüsen?) der Bienenkönigin. Naturwissenschaften, Dtsch. vol. 51.68-69p.

Riondet J., 2013. Le rucher durable. Ed. ulmer. Paris. pp. 271.

Rollo JP et Camargo-Mathias MI., 2006. Morphohistochemical characterization of the perivisceral fat body in royal and worker female castes in different ages of *Atta sexdens rubropilosa* ants (Hymenoptera, Formicidae). Sociobiology. vol. 47. 519– 530p.

Roma GC; Bueno OC; Camargo-Mathias MI., 2010. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: a review. Micron. Vol.45. 395-401p.

Rueppell O; Fondrk MKE; Page R; 2005. Biodemographic analysis of male honey bee mortality. *Aging Cell* .vol.4. 13–19p.

Ruttner F., 1968. Systématique du genre *Apis*. Les races d'abeilles. In : Chauvin R. Traité de biologie de l'abeille, tome I. Eds. masson et cie. Paris. 1-44p.

Ruttner F., 1988. Biogeography and taxonomy of honeybees. Springler, New York.

(S)

Schmidt JO., 1999. Attractant or pheromone: the case of Nasanov secretion and honeybee swarms. J. chem. Ecol. vol. 25. pp.2051-2056.

Seeley TD., 1983. Division of labor between scouts and recruits in honey bee foraging. Behavioral ecology and sociobiology. vol. 12. 253-259p.

Shearer DA et Boch R., 1965. 2-Heptanone in the Mandibular Gland Secretion of the Honeybee. Nature. G.B. 206, 530p.

Siou G et Guffroy M., 1990. Colorations topographiques et signalétiques associées (Colorations tétrachromiques à base de fuchsine basique). Fr Histotechnol.vol. 03.27-34p.

Slessor KN; Winston ML; Le Conte Y., 2005. Pheromone communication in the honeybee (*apis mellifera* l.). *journal of chemical ecology*.vol.31. 2731-2745p.

Spürgin A., 2010. Guide de l'abeille. Ed. Delachaux et Niestlé. Paris. PP.125. 29-58p.

Stevens A et Yong B., 2006. Wheater's functional histology a text and color atlas. Ed. Health J. 5^{ème} edition. 430-432p.

(T)

Tasei. JN et Picart M., 1972. murielle picart. observations préliminaires sur la biologie d'*osmia* (*chalcosmia*) *c_rulescens* l. (hymenoptera megachilidae), pollinisatrice de la luzerne (*medicago sativa* l.). apidologie. springer verlag. vol. 3.149-165p.

Tasel JN., 1973. observations sur le développement d'*osmia cornuta* latr. et *osmia rufa* l. (hymenoptera megachilidae), beobachtungen über die entwicklung von *osmia cornuta* latr. und *osmia rufa* l. (hymenoptera megachilidae).vol.4.295-315p.



Tellam RL., and Eisemann C., 2000. Chitin is only a minor component of the peritrophic matrix from larvae of *Lucilia cuprina*. *Insect Biochem Mol Biol*.vol. 30. 1189–1201p.

Terzo M et Rasmont P., 2007. l'apiculture, univ. mons-halnut. laboratoire de zoologie.

Tourneret E; 2013. (Page consultée le 06 mars 2013). Stock photos [en ligne]. Adresse URL: <http://www.thehoneygatherers.com/html/phototheque1.html>

(V)

Vandame R., 1996. Importance de l'hybridation de l'hôte dans la tolérance à un parasite.

Cas de l'acarien parasite *Varroa jacobsoni* chez les races d'abeilles *Apis mellifera* européenne et africanisée, en climat tropical humide du Mexique. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard, Lyon. vol. 1. 126p.

Vareschi E et Kaissling KE., 1970. Dressur von Bienenarbeiterinnen und Drohnen auf Pheromone und andere Duftstoffe. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.* vol. 66.22-26p.

Von Frisch K., 2011. Vie et mœurs des abeilles. Ed. Albin Michel. Paris. 21-66p.

(W)

Wang P and Granados RR., 2000. Calcofluor disrupts the midgut defense system in insects. *Insect Biochem Mol Biol*.vol. 30.135–143p.

Wendling S., 2012. *Varroa destructor* (ANDERSON et TRUEMAN, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* LINNAEUS, 1758. Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction. Thèse de doctorat vétérinaire. Faculté de Médecine. Créteil. pp. 190.

Williams IH; Pickett JA; Martin AP., 1981. The nasanov pheromone of honeybee, *Apis mellifera* L. Bioassay of components foragers *J. Chem. Ecol.* vol. 7.225-237p.

Wilson EO., 1971. The insect societies. Havard Univ. Press. Cambridge.

Winston ML., 1987. The biology of the honey bee. Harvard Univ. Press. Cambridge. pp.188.

Winston ML., 1993. La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par G. Lambermont. Ed. Frison Roche. Paris. pp.276.

Winston ML; Higo HA; Slessor KN., 1990. Effect of various dosages of queen mandibular gland pheromone on the inhibition of queen rearing in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* V. 83. 234-238p.

Wyatt GR.1980. The fat body as a protein factory. In: Locke, M., Smith, D.S. (Eds.), *Insect Biology in the Future*. Academic Press, New York .201–225p.

Wyatt TD., 2003. Pheromones and animal behavior. New York.



(Y)

Yoshiko O, Reijiro H. 1988. Effects of Glutaraldehyde Fixation on the Body Size of Red Sea Bream (*Pagrus major*) Larvae *Aquaculture*. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam-Printed in The Netherlands .vol.71.265-269p.

Young HP et Schal C., 1997. Cuticular hydrocarbon synthesis in relation to feeding and developmental stage in *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae) nymphs. *Ann Entomol Soc Am* .vol.90.655–663p.

INDEX



Index des tableaux

Intitulé de tableau	Page
Tableau I: Principales glandes chez l'abeille et leurs fonctions	07
Tableau II: Durées de développement du couvain d'abeilles	12
Tableau III: Produits chimiques utilisés	23
Tableau IV : Mesure de certains paramètres morphométriques des larves d'abeille	33
Tableau V: Cinétique de l'évolution de stades larvaires (L5 = X.L1)	34
Tableau VI : La morphométrie des œnocytes du corps gras chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h} , t_{48h} , t_j , t_{5j})	43
Tableau VII : La morphométrie de certains paramètres nucléaires des cellules trophocytaires chez des larves soumises à différentes périodes de faim	45
Tableau VIII : Le rapport entre les cellules œnocytaires et les cellules trophocytaires chez les larves expérimentées 12h et les larves affamées de 4 jours	47
Tableau IX : La morphométrie de certains paramètres des cellules épithéliales du Tube Digestif chez des larves soumises à différentes périodes de faim	47
Tableau X : La morphométrie de l'exuvie et de la cuticule chez des larves soumises à différentes périodes de faim et sa relation avec le rapport Oenocytotrophocytaires.	49



Index des figures

Intitulé de la figure	Page
Figure 01 : Répartition d' <i>Apis mellifera</i> dans le monde	03
Figure 02 : La localisation d' <i>Apis mellifera</i> en Algérie	03
Figure 03: Morphologie externe de l'abeille femelle adulte	04
Figure 04 : Schéma de l'anatomie interne de l'abeille adulte	06
Figure 05. Schéma des 3 castes de l'abeille	08
Figure 06: Détermination des castes chez l'abeille	11
Figure 07 : De l'œuf à l'abeille adulte	11
Figure 08: Photo des œufs	12
Figure 09 : Couvain au stade larvaire.	13
Figure 10 : Anatomie interne d'une larve d'abeille	14
Figure 11: Les étapes successives de la mue	15
Figure 12: Photo de nymphe.	16
Figure 13 : Jeune Abeille sortant de l'alvéole.	17
Figure 14: Les phéromones incitatrices et modificatrices	18
Figure 15: Photographie d'abeille <i>Apis mellifera</i>	22
Figure 16 : Prélèvement des cadres de couvain.	24
Figure 17 : Automate de circulation.	25
Figure 18: Inclusion et mise en bloc.	26
Figure 19 : Confection et étalement des coupes.	26
Figure 20 : Coloration des lames.	27
Figure 21: Montage (à gauche) et observation (à droite) des coupes	29
Figure 22 : Pesée et photographié les larves	29
Figure 23 : Mesure la surface des larves sur Axio-vision	30
Figure 24 : Mesure morphométriques des cellules intestinales des larves sur l'imageJ	31
Figure 25 : Comparaison des différents paramètres morphométriques entre larves affamées de 12h et affamées de 4jours.	35
Figure 26 : La morphométrie de certains paramètres des cellules Oenocytaires chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h} , t_{48h} , t_{4j} , t_{5j})	44
Figure 27 : La morphométrie de certains paramètres des cellules Trophocytaires	46



chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h} , t_{48h} , t_{4j} , t_{5j})	
Figure 28 : La morphométrie de certains paramètres des cellules du tractus digestif chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h} , t_{48h} , t_{4j})	48
Figure 29 : La morphométrie des paramètres cuticulaires chez des larves soumises à différentes périodes de faim (t_{12h} , t_{48h} , t_{4j} , t_{5j})	50
Figure 30 : Relation entre le dépôt cuticulaire (Epaisseur de l'exuvie (Ex) et de la cuticule (Cu) et le rapport oeno-trophocytaire (Rot) pendant les périodes de jeûne.	50

Index des Planches

	Intitulé de la Planche	Page
Planche I	<p>Coupes histologiques du Corps gras et du tégument chez la larve d'abeille <i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 12h</p> <p>Figure 1 : Coupe longitudinale de larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 12h Coloration à l'APS. G. 100.</p> <p>Figure 2 : Coupe histologique au niveau du corps gras chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 12h Coloration au TM. G. 1000.</p> <p>Figure 3 : Coupe histologique au niveau du Tégument chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 12h Coloration à l'APS. G. 1000.</p>	39
Planche II	<p>Coupes histologiques du Corps gras et du tégument chez la larve d'abeille <i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 12h.</p> <p>Figure 1 : Coupe histologique au niveau du Tube Digestif Moyen chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 12h Coloration au TM. G. 400.</p> <p>Figure 2 : Coupe histologique au niveau du Tube Digestif Moyen chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 12h Coloration à l'HE. G. 400.</p> <p>Figure 3 : Coupe histologique au niveau du Tégument chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 12h Coloration</p>	40
PlancheIII	<p>Coupes histologiques du Corps gras et du tégument chez la larve d'abeille <i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 4 jours.</p> <p>Figure 1 : Coupe longitudinale de larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 4j Coloration à l'APS. G. 100.</p> <p>Figure 2 : Coupe histologique au niveau du corps gras chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 4 jours. Coloration à l'APS. G. 1000.</p> <p>Figure 3 : Coupe histologique au niveau du corps gras chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 4 jours. Coloration à l'HE . G. 400.</p>	41
PlancheIV	<p>Coupes histologiques du Tégument et du Tube Digestif chez la larve d'abeille <i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 4 jours.</p> <p>Figure 1 : Coupe histologique au niveau du Tégument chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 4j Coloration au TM. G. 400.</p> <p>Figure 2 : Coupe histologique au niveau du Tube Digestif Moyen chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 4j Coloration à l'HE. G. 400.</p> <p>Figure 3 : Coupe histologique au niveau du Tube Digestif Moyen chez la larve d'<i>Apis mellifera intermissa</i> affamée de 4j Coloration à l'HE. G. 1000.</p>	42

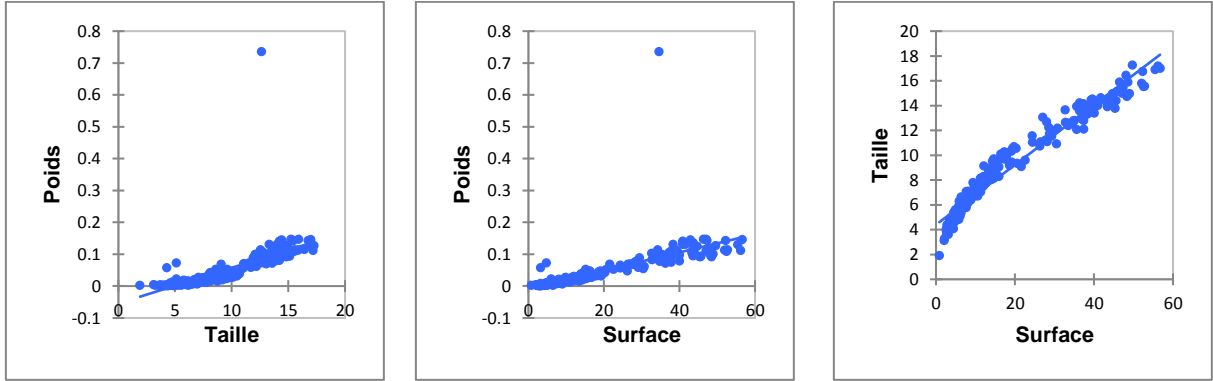
ANNEXES



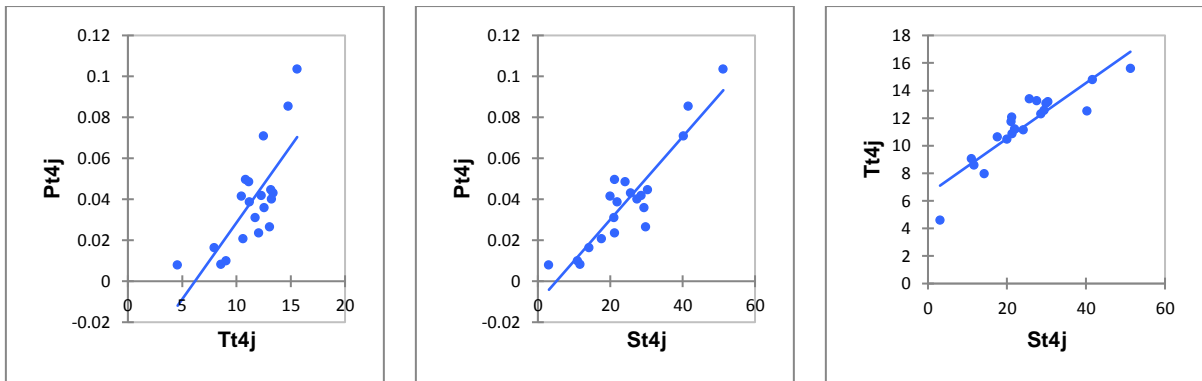
Annexes

Annexe 01: Les courbes de régression des différents paramètres morpho-métriques des larves non affamées et affamées de 4 jours.

1. Larves affamées de 12 h.



2. Larves affamées de 4 jours.



FICHES TECHNIQUES



FICHE TECHNIQUE N° 01

FIXATION AU Bouin aqueux

Composition de Bouin aqueux

- ❖ Solution aqueuse saturée de l'acide picrique 30ml.
- ❖ Formol commercial 10ml.
- ❖ Acide acétique 02ml.

Fixer 72 heures, puis laver dans l'eau courante pendant 24 heures.

FICHE TECHNIQUE N° 02

PREPARATION DE DILUTION DES ALCOOLS ETHYLIQUES POUR L'HYDRATATION ET LA DESHYDRATATION

Volume d'alcool absolu (éthanol C ₂ H ₅ OH) (ml)	Alcool obtenu	Volume d'eau distillé ajouté (ml)
100	50°	107,44
	70°	47,75
	90°	13,25
	95°	6,5
	100°	0

FICHE TECHNIQUE N° 03

PREPARATION DU LIQUIDE D'ETALEMENT, L'EAU GELATINEE (0.4%)

La préparation se fait à chaud par la mélange de :

- ❖ Gélatine 0.4g.
- ❖ Eau distillée 100ml.



FICHE TECHNIQUE N° 04

COLORATION AU TRICHROME DE MASSON

Réactifs

1. Hématoxyline de Mayer.
2. Fuchsine Ponceau
3. Alcool chlorhydrique.
4. Vert lumière ou Bleu d'aniline.
5. Acide phosphotungstique
6. Solution aqueuse à 1% d'acide acétique

Préparation des réactifs :

1. Hématoxyline de Mayer (solution préparée) : filtrer avant utilisation.

2. Fuchsine de Ponceau : Préparer à froid.

- ❖ Fuchsine acide 0,1g.
- ❖ Ponceau 0,2g.
- ❖ Eau distillée 300ml.

Après dissolution, on ajoute :

- ❖ Acide acétique 0,6ml.

Conservation illimitée.

3. Alcool chlorhydrique :

- ❖ Acide chlorhydrique 37% 0.75ml.
- ❖ Alcool 70% 100ml.

4. Vert lumière 1% (solution acétique) :

- ❖ Vert lumière 0,1g.
- ❖ Acide acétique 01ml.
- ❖ Eau distillée 100ml.

Conservation illimitée.



5. Acide phosphotungstique 3% :

❖ Acide phosphotungstique	3g.
❖ Eau distillée	100ml.

6. Eau acétiée 1% :

❖ Acide acétique	01 ml.
❖ Eau distillée	99ml.

Mode opératoire

1. Déparaffiner les coupes suivi par 02bain de cyclohexane, 15min de chacun.
2. Hydrater dans l'alcool à degré décroissant (100°, 96°, 90°, 70°, 50°), 2 min de chacun.
3. Laver à l'eau distillée pendant 10 min.
4. Coloration nucléaire par l'Hématoxyline de Mayer pendant 12min.
5. Laver à l'eau courante 1ou 2 rinçages.
6. Laver dans l'alcool chlorhydrique pendant 02 seconds (quelques mouvements).
7. Différencier à l'eau courante 05 min (laisser bleuir les coupes dans l'eau courante).
8. Rincer dans l'eau distillée
9. Colorer par Ponceau de Xylidine 1% pendant 03 min.
10. Laver à l'eau distillée pendant quelques seconds.
11. Colorer par l'acide phosphotungstique pendant 07 min.
12. Coloration de collagène par le vert lumière 03 min ou bien par bleu d'aniline 08 min.
13. Laver à l'eau acétique de 1% pendant 02min.
14. Déshydrater dans l'alcool à degré croissant (50°,70°,90°, 96°, 100°) 02 min de chacun.
15. éclaircir par le passage des lames dans un bain de cyclohexane pendant 02 min.
16. Monter avec un milieu de montage (Histo-kit).

Résultats :

Le trichrome de Masson est colorant nucléaire permet de colorer le tissu conjonctif en particulier les fibres de collagènes (de type I) en verts ou en bleu par le remplacement de verte lumière en bleu d'aniline. Les noyaux sont colorés en bleu nuit, et le cytoplasme en rose à rouge.



FICHE TECHNIQUE N°05

COLORATION A L'HEMATOXYLINE-EOSINE

Réactifs

1. Hématoxyline de Mayer (solution préparée) : filtrer avant utilisation..
2. Eosine.
3. Solution aqueuse à 1% d'acide acétique.

Mode opératoire

1. Déparaffiner les coupes suivi par 02bain de xylène, 15min chacun.
2. Hydrater dans l'alcool à degré décroissant (100°, 96°, 90°, 70°, 50°), 02 min de chacun.
3. Laver à l'eau distillée pendant 05 min.
4. Colorer par l'Hématoxyline de Mayer pendant 04 min.
5. Laver à l'eau courante pendant 2min.
6. Laver à l'eau acétique de 1% pendant 02min.
7. Laver à l'eau courante pendant 02 min.
8. Colorer par l'Eosine pendant 02 min.
9. Déshydrater dans l'alcool absolu 02 min.
10. Eclaircir par le passage des lames dans un bain d'xylène pendant 02 min.
11. Monter avec l' Histo-kit.

Résultats :

Les noyaux sont colorés en bleu violet et les cytoplasmes en roses.

FICHE TECHNIQUE N° 06

COLORATION A L'ACIDE PERIODIQUE DE SCHIFF

Réactifs :

1. Hématoxyline de Mayer.
2. Réactif de Schiff.
3. Acide Périodique.



Préparation des réactifs :

1. Acide périodique en solution aqueuse à 1% :

- ❖ Acide périodique 01g.
- ❖ Eau distillée 100ml.

2. Réactifs de Schiff

Dans 200ml d'eau distillée bouillante, on dissolue :

- ❖ Fuchsine basique 01g.

Laisser refroidir et filtrer, ajouter :

- ❖ Méta bisulfite de sodium 02g.
- ❖ Acide Chlorhydrique 1 normale 01g.

Laisser la solution se décolore en l'agitant de temps à l'autre (pendant 24h), on ajoute :

- ❖ Charbon actif 0,5g.

Agiter, laisser reposer puis filtrer.

Mode opératoire :

1. Déparaffiner les coupes suivi par 02 bain de cyclohexane pendant 15 min de chacun.
2. Hydrater dans l'alcool à degré décroissant (100°, 96°, 90°, 70°, 50°), 2 min de chacun.
3. Laver à l'eau distillée pendant 05 min.
4. Colorer par l'acide Périodique pendant 10 minutes.
5. Rinçage dans un bain d'eau courante pendant 10 minutes.
6. Traitement par le Réactif de Schiff en baril fermé et à l'obscurité pendant 18 min
7. Laver à l'eau distillée pendant 03min.
8. Colorer par l'Héματοxyline de Mayer pendant 30 seconds.
9. Rinçage dans un bain d'eau courante pendant 30 seconds
10. Déshydrater dans l'alcool à degré croissant (50°,70°,90°, 96°, 100°) 02 min de chacun.
11. éclaircir par le passage des lames dans un bain de cyclohexane pendant 02 min.
12. Monter par l' Histo-kit.

Résultats :

Les noyaux sont colorés en bleu nuit, le cytoplasme en rose et les résidus polysaccharidiques en rose fuchsien à rouge vifs.

RESUME

Un élevage expérimental de larves d'abeille *Apis mellifera intermissa* a été réalisé en les exposant à des périodes de faim allant jusqu'à 5 jours. Ce travail s'est intéressé à l'étude de la croissance, du développement et des transformations physiologiques de ces larves. Il présente les croissances linéaire et pondérale ainsi que les changements histologiques spécifiques au corps gras, au tube digestif moyen et au tégument. Un échantillonnage aléatoire a été effectué à partir de quatre lots de larves (affamées pendant 12h, 48h, 4 et 5 jours). Les larves, préalablement fixées au Bouin aqueux, sont numérisées puis mesurées par analyse d'image. Des coupes histologiques sont ensuite confectionnées et mesurées suivant certains paramètres morphométriques.

Tous les paramètres externes (poids, taille, surface) présentent un rapport positif entre eux, avec une évolution pondérale des larves affamées de 4j plus lente ($L5=13 \times L1$) que celle des larves moins affamées ($L5=669 \times L1$). **Les périodes de faim ont beaucoup plus d'influence sur l'évolution du poids des larves que sur leur taille et leur surface.**

Nos résultats histologiques révèlent la présence des deux types de cellules (trophocytes et œnocytes) au niveau du corps gras avec négativité des colorations topographiques (Trichrome de Masson). Chez les lots qui ont subi une période de jeûne plus longue, ces cellules présentent une diminution dans leur surface cytoplasmique **qui laisse prédire qu'il y a épuisement des réserves sans qu'il y ait arrêt de l'activité cellulaire (ralentissement)**. Une **continuité de l'activité épithéliale** est aussi observée au niveau du mésentéron, même dans les conditions de jeûne prolongé. Par contre **le rhabdiorium et/ou la matrice pérîtrophique est interrompue** d'un endroit à un autre. Une augmentation de l'épaisseur de la cuticule (et exuvie) **ce qui ralentira le phénomène de mue de croissance chez ces larves d'abeille affamées.**

Mots-clés : Larve d'abeille, Corps Gras, Trophocyte, Oenocyte, Tube Digestif Moyen, Cuticule.