

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 : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie

*Effet du stress alimentaire sur le tissu
adipeux des larves d'abeille (*Apis
mellifera intermissa*).*

Présenté par :

Melle MILIANI AMINA

Melle MOHAMMED SAFIA

Melle TACHEGOUSTE FETTOUMA

Devant le jury composé de :

Président: Mr CHEURFA. M

(MCB) U DB_KM

Examineur: Melle LAISSAOUI. A

(MCB) U DB_KM

Promoteur: Mr BOUSSOUBEL AEK

(MAA) U DB_KM

Année Universitaire : 2019/2020

Remerciements

Nous remercions « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté d'entamer et de finir ce mémoire.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous ceux qui nous ont aidé à la réalisation de ce manuscrit.

En premier lieu, nous exprimons particulièrement notre reconnaissance à :

Notre encadreur monsieur Boussoubel Abdelkader qui a encadré ce travail avec beaucoup de compétences :

Merci pour votre indéfectible disponibilité, votre rigueur scientifique, l'acuité de vos critiques et pour vos conseils éclairés.

Merci pour votre confiance et orientation qui ont constitué un apport considérable ; sans le quel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

Nos sincère remerciements s'adressent aussi au membre de Jury d'avoir accepté et bien voulu prendre le temps d'évaluer notre travail, et de contribuer à son enrichissement par leurs valeureuses remarques :

Mr. Cheurfa pour avoir accepté de présider le jury et dévaluer notre travail.

Mme. Laïssaoui pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous pensons à tous les membres du corps scientifique de la faculté des sciences de la nature et de la vie, qu'ils trouvent à travers ce modeste travail, la matérialisation et /ou la concrétisation de cette mosaïque de connaissances qu'ils nous ont transmise durant notre parcours.

Dédicace

Ce mémoire est dédié à :

* **LA FEMME** qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences, qui m'a comblé avec sa tendresse et son amour. Celle qui m'a toujours soutenu tout au long de mon parcours ... à toi chère **MAMAN**

* **L'HOMME** qui a travaillé dur pour me rendre heureuse, et qui m'a comblé avec son amour. Celui qui m'a toujours fait confiance ... à toi cher **PAPA**

« Mes parents à qui je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain »

HOUDA et TINA : mes deux sœurs adorées qui comptent tant pour moi, qui me soutiennent et me consolent, celles qui sont toujours là pour moi. Celles que j'aime plus que tout.

HIBA : ma meilleure amie, ma confidente qui me prête son épaule quand j'en ai besoin. Celle qui m'a toujours suivi et encouragé dans ma vie (arrivant à cet instant où j'écris ces mots).
Celle que j'aime et j'apprécie le plus.

Mes amies :

Manel qui a cru en moi et m'a toujours aidé... Merci d'être ma meilleure amie.

Rania, Hind et Amira avec lesquelles j'ai passé les plus belles 5 ans de ma vie.

Fatiha qui m'a aidé et soutenu énormément.

Mes deux collègues : *FATIMA et SAFIA*. Merci pour tous les bons moments.

Toute ma famille : Tantes, oncles, cousins et cousines ; particulièrement ma tante *Djamila* et ma *grand-mère* paternelle, que ce modeste travail soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières.

À tous ceux qui me sont chers.

À tous ceux qui m'aime

À tous ceux que j'aime.

« AMINA »

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ceux qu'ils je n'arriverais jamais d'exprimé mon amour sincère :

A ma chère mère et mon chère père, pour tous leur sacrifices, leur soutien, leur amour, leur tendresse et leur prières tout au long de ma vie.. Qu'ALLAH les protège et leurs offre la bonne santé et le bonheur.

A mes chères frères : Sadek, Zaki, Abdelkader, Mehdi et Fares qui n'ont jamais cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.. Qu'ALLAH leurs offre la chance et la joie.

A mes chères amies : Ahlem, Meriem, Rofaida, Kamilia et Mejda

A mes adorables nièces : Djamila, Meriem, Malek et mon adorable neveu Riadh

A tous les professeurs qui m'ont enseigné tout au long de ces cinq années universitaires, surtout Mr.Boussoubel, Mr.Sahraoui, Mr Cheurfa, Mr.Chaouad, Mr.Rouwabeh, Mm Aissaoui et Mm Benouaqlil... Pour leurs efforts, leur soutien et leur patience.

Sans oublier mon binômes : Amina et Fatima pour leurs patience et leurs compréhension tout au long de ce projet

♥Merci a dieu « ALLAH » ♥

♥ Merci a tous ceux qui m'aiment ♥

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents :

Papa, maman vous êtes toujours crue moi, vous m'avez écouté, soutenu et donné toutes les possibilités pour réaliser mes études comme je le souhaitais. Je vous en suis éternellement reconnaissante. Merci pour votre confiance.

Mes frères et mes sœurs :

Mohamed et Fethi, Salima, Zola, Hayet, Zahya, Kheira, Amina, Wahiba qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Mon fiancé :

Abdeljalile qui n'a jamais cessé de me soutenir et m'encourager.

Tous les enfants :

Mimi, Malak, Youef, Sedik, Aya, Rano, Zineb, Rahma, Rahil, Amine, Younes, Hiba, Abdrahime. je vous souhaité une vie heureuse plein de bonheur.

Mes deux collègues :

Amina et Safia.

Ma famille proche et éloignée. J'adresse aussi mes dédicaces à mes amies « Manal, Majda, Amina, Zahra » avec qui j'ai passé des moments agréables.

Fetouma

R E S U M E

Un élevage expérimental de larves d'abeille *Apis mellifera* a été réalisé en exposant certaines d'entre elles à des périodes de faim allant jusqu'à 4 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 tissu adipeux et aux glandes salivaires. Un échantillonnage aléatoire a été effectué à partir d'un lot de larves témoins (non affamées) et un lot expérimenté (affamées pendant 4 jours). Les larves, préalablement fixées au Bouin aqueux, 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 plus lente ($L5=13 \times L1$) que celle des larves non affamées ($L5=69 \times L1$). **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 oenocytes) au niveau du tissu adipeux avec négativité des colorations topographiques (Hématoxyline-éosine, Trichrome de Masson) et histochimiques (APS). Chez le lot traité, 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 diminution de l'activité cellulaire est aussi observée au niveau des glandes salivaires, qui s'accroît au fur et à mesure que la période de faim s'allonge, synonyme d'un arrêt ou réduction de la sécrétion phéromonale.**

Mots-clés : Larve d'abeille, tissu adipeux, Trophocyte, Oenocyte, Glandes salivaires.

Abstrat

An experimental breeding of *Apis mellifera* bee larvae was carried out by exposing some of them to hungry periods of up to 4 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 the salivary glands. Random sampling was carried out from a batch of control (non-starved) larvae and one experimented batch (hungry for 4 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 slower evolution of larvae (L5 = 13xL1) than non-starved larvae (L5 = 69xL1). 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) and histochemical (APS). In the treated batch, these cells show a decrease in their cytoplasmic area; this predicts that there is depletion of the reserves without stopping cell activity (slowing down). A decrease in cellular activity is also observed in the salivary glands, which increases as the hunger period becomes longer, synonymous with a halt or reduction in pheromon secretion.

Key-words: Larvae of honeybee, Fat body, trophocyte, oenocyte, salivary glands

ملخص :

لقد اجري بحث تجريبي لتربيته يرقات النحل العسل من خلال تعريض بعضها لفترات تجويع لمدة تصل إلى 4 أيام. قد ركز هذا العمل على دراسة النمو، التطور والتغيرات الفيزيولوجية لهذه اليرقات. وهو يعرض النمو الخطي والوزن وكذلك التغيرات النسيجية محددة في الغدد اللعابية والأنسجة الدهنية وقد تم أخذ عينة عشوائية من الكثير من اليرقات عينة شاهدة و عينة خاضعة لتجويع لمدة 4 أيام. تم تثبيت اليرقات في محلول بوبن والقيام بتحديد و قياس بواسطة تحليل الصورة. وضعت مقاطع نسيجية وقيست تبعاً لبعض المعايير الظاهرية.

جميع المعايير الخارجية (الوزن، الحجم والمساحة السطحية) لها علاقة إيجابية بينهما مع تغيير وزن اليرقات تجويع ببطء بالنسبة لليرقات الشاهدة. فترات التجويع لها تأثير كبير على زيادة الوزن 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 و النسيج الكيميائي APS. لوحظ عند العينات الجائعة انخفاض في المساحة الهيولية للخلايا الذي نبأنا باستنزاف دون وقف النشاط الخلوي (تباطؤ). لوحظ انخفاض في النشاط الخلوي أيضاً في الغدد اللعابية، مما يزيد تدريجياً مع تطويل فترة الجوع، مرادفة للوقوف أو الحد من إفراز فرمون.

المفتاح: يرقة النحلة، الجسم الدهني، oenocyte، trophocyte، الغدد اللعابية



ABBREVIATIONS

2HPT	2-heptanone
9-ODA	Acide 9-oxo-(E)-2-décénoïque
API	Acétate isopentyl
APS	Acide Périodique de Schiff
BP	BroodPheromon
EO	EthyleOleate
EGF	epidermal growth factor
EGFr	epidermal growth factor reseptor
FB	Fat Body
HOB	Arahydroxybenzoate de Méthyle
HMP	4-hydroxy-3-méthoxyphényléthanol
HVA	Alcoolhomovanillylique
JH	Hormone juvénile
LDs	Lipidic Droplets
LEA	Linolenic Acide
Oe	Oenocyte
ORNs	Olfactory Receptor of Neurons
MRJP	major royal jellyprotein
PGMR	Phéromone de la glande mandibulaire de la reine
QMP	Queen MandibularPheromon
Qx	Quintaux
R-9-HDA	Acide (R)-9-Hydroxy-2(E)-Décénoïque
RER	Réticulum Endoplasmique Rugueux
REL	Réticulum Endoplasmique Lisse
RNC	Ratio Nucléo-Cytoplasmique
S-9-HAD	Acide (S)-9-Hydroxy-2(E)-Décénoïque
SC	Surface Cellulaire
SN	Surface Nucléaire
SNC	Système Nerveux Centrale
TM	Trichrome de Masson



INDEX

1. INDEX DES FIGURES :

N°	Titre des figures	Page
Figure 01	Répartition du genre Apis dans le monde	02
Figure 02	Morphologie de l'abeille	05
Figure 03	Polyéthisme d'âge des ouvrières	07
Figure 04	la forme de riz des œufs et la façon dont la reine les a positionnés « debout » dans La cellule	14
Figure 05	Larves enroulées dans ses cellules	14
Figure 06	Les cellules ouvertes révèlent un œuf et des nymphes en développement	16
Figure 07	Diagramme des différents stades de développement en fonction de l'âge de L'ouvrière en jour	17
Figure 08	Prélèvement des cadres de couvain	22
Figure 09	Pesée des larves et prise de photographies sous la loupe binoculaire	23
Figure 10	Fixation, déshydratation et éclaircissement des larves d'abeilles	24
Figure 11	Inclusion et la mise en bloc	24
Figure 12	la microtomie et l'étalement des coupes histologiques	25
Figure 13	Étude morphométrique des larves d'abeilles grâce à l'ImageJ 1.	26
Figure 14	Étude morphométrique des cellules oenocytaires à l'aide d'un outil informatique, Axio Vision 4.8 de CARL ZEISS	27
Figure 15	Comparaison des différents paramètres morphométriques entre larves non affamées et affamées de 4 jours	31
Figure 16	La morphométrie de certains paramètres des cellules Oenocytaires chez des larves témoins (t_0) et affamées pendant 4 jours (t_{4j})	39
Figure 17	La morphométrie de certains paramètres des cellules Trophocytaires chez des larves témoins (t_0) et affamées pendant 4 jours (t_{4j})	41
Figure 18	La morphométrie de certains paramètres des cellules épithéliales des glandes salivaires des larves témoins (t_0) et affamées pendant (t_{24h} , t_{36h} , t_{48h} , t_{4j})	43

2. Index des tableaux :

N°	Titre du tableau	Page
<u>Tableau I</u>	Récapitulatif de l'anatomie externe de l'abeille	03
<u>Tableau II</u>	Temps de développement moyen des trois castes d'abeilles (Donzé.,1995 ; Rembold et al., 1980 ; Winston., 1993 ; Jay., 1964).	13
<u>Tableau III</u>	Produits chimiques utilisés	21
<u>Tableau IV</u>	La mesure de certains paramètres morphométriques des larves d'abeille	29
<u>Tableau V</u>	La morphométrie de certains paramètres nucléaires des cellules oenocytaire des larves témoins (t0) et expérimentées (t4j)	38
<u>Tableau VI</u>	La morphométrie de certains paramètres nucléaires des cellules trophocytaires des larves témoins (t0) et expérimentées (t4j)	40
<u>Tableau VII</u>	Le rapport entre les cellules oenocytaires et les cellules trophocytaires chez les larves témoins et les larves affamées de 4 jours	42
<u>Tableau VIII</u>	La morphométrie de certains paramètres des cellules épithéliales des glandes	42

3. Index des planches :

N°	Intitulé de la Planche	Page
Planche I	<p>Coupes histologiques du Tissu adipeux de larves d'abeille domestique témoins</p> <p>Figure 01 :Coupe histologique de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa non affamée. Coloration à l'APS. G. 400.</p> <p>Figure 02 : Coupe histologique de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa non affamée. Coloration au TM G. 1000.</p>	34
Planche II	<p>Coupes histologiques des glandes salivaires de larve d'abeille domestique témoins</p> <p>Figure 01 :Coupe histologique de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa non affamée. Coloration au TM. G. 400.</p> <p>Figure 02 :Coupe histologique de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa non affamée. Coloration à l'APS. G. 1000.</p>	35
Planche III	<p>Coupes histologiques du Tissu adipeux de larve d'abeille domestique affamée de 4 jours.</p> <p>Figure 01 :Coupe longitudinale de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa affamée de 4 jours. Coloration à l'APS. G. 100.</p> <p>Figure 02 :Coupe histologique de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa affamée de 4 jours. Coloration à l'APS. G. 1000.</p> <p>Figure 03 :Coupe histologique de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa affamée de 4 jours. Coloration à l'HE. G. 400.</p>	36
Planche IV	<p>Coupes histologiques des glandes salivaires de larves d'abeille domestique affamée de 4 jours</p> <p>Figure 01 : Coupe histologique de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa affamée de 4 jours. Coloration à l'HE. G. 400.</p> <p>Figure 02 : Coupe histologique de larve d'<i>Apis mellifera</i> intermissa affamée de 54 jours. Coloration à l'HE. G. 1000.</p>	37



Table de matière

ABREVIATION

Listes des figures

Listes des tableaux

Listes des planches

INTRODUCTION

01

Partie 01 : Revue bibliographique

I. Généralités sur l'abeille	02
I.1. Répartition géographique d' <i>Apis mellifera</i>	02
I.1.1. Dans le monde	02
I.1.2. En Algérie	03
I.2. Anatomie de l'abeille adulte	05
I.3. La colonie d'abeille .	05
I.3.1. Les individus de la colonie.	05
I.3.1.a. Le couvain.	05
I.3.1.b. La reine.	05
I.3.1.c. Le faux-bourdon.	06
I.3.1.d. L'ouvrière.	07
I.3.2. La physiologie de l'abeille.	08
I.3.3. Les hormones.	08
I.3.4. La génétique.	09
II. La communication chimique chez l'abeille.	09
II.1. Les phéromones de la reine.	09
II.1.a. la QMP (Queen MandibularPheromone).	09
II.1.b. La QRP (Queen RetinuePheromone).	10
II.2. Les phéromones d'ouvrière.	10
II.2.a. Phéromones d'alarme .	10
II.2.b. Phéromone de Nasanov .	10
II.2.c. L'oléate d'éthyle « EO » .	11
II.3 Les phéromones de couvain	11
III. Reproduction et développement du couvain	12
III.1. Accouplement et fécondation	12
III.2. La ponte	12
III.3. Le développement	12
III.3. A. L'œuf	12
III.3. B. Larve	13
III.3. C. Nymphe	16
III.3. D. L'imago	16
IV. Physiologie de la larve	17
IV.1. Le corps gras	17

Partie 02 : Matériels et méthodes

I. Matériels	20
I. 1. Matériel Biologique	20
I. 2. Matériel non biologique	20
I. 2.1. Equipement et instruments	20

I. 2.2. Produits et solution histologique	20
I. 2.3. Programmes informatiques	21
I. 3. Protocole expérimental	21
II. Méthodes	23
II. 1. Technique histologique	23
II. 1.1. Fixation histologique	23
II. 1.2. Déshydratation	23
II. 1.3. Eclaircissement	23
II. 1.4. Inclusion	24
II. 1.5. Mise en bloc	24
II. 1.6. Confection des coupes et étalement	24
II. 1.7. Coloration	25
II. 1.8. Déshydratation et montage	26
II. 1.9. Iconographie	26
II. 2. Etude morphométrique	26
II.3. Etude statistique	27
<i>Partie 03 : Résultats et interprétations</i>	
I. Résultats	29
I.2. Morphométrie des larves	29
I.3. Résultats histologiques	31
I.3.1. Histologie des larves témoins	32
I.3.2. Histologie des larves expérimentées	33
I.4. Morphométrie des coupes histologiques	38
I.4.1. Morphométrie du tissu adipeux	38
I.4.2. Morphométrie des cellules épithéliales des glandes salivaires	41
<i>Partie 04 : Discussion et conclusion</i>	
I. Discussion	45
II. Conclusion et perspectives	50
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	
RESUME	



INTRODUCTION

Les abeilles sont un maillon essentiel de la biodiversité. Elles permettent la pollinisation avec ce transport de grains de pollen qui féconde tous genre de plantes. L'apport de ces insectes pollinisateurs aux principales cultures mondiales est évaluée à 70%, en terme pondéral, cela représente 35 % de la production mondiale de nourriture, une bouchée sur trois en moyenne (**Gallai *et al* ; 2008**).

L'abeille social ou *Apis mellifera*, a pu être domestiqué par l'homme pour que ce dernier puisse profiter de ses produits, tels que le miel, la propolis, la gelée royale et la cire (**Van Engelsdorp *et al* ; 2010**). Malheureusement, les pratiques de l'homme n'arrangent rien. L'agriculture intensive a réduit la variété et le nombre des fleurs, provoquant un déséquilibre alimentaire chez les abeilles. Certaines espèces n'ont plus à leur disposition les plantes dont elles se nourrissent traditionnellement.

Malgré cela, l'abeille tente bien que mal à survivre en faisant intervenir tous les acteurs de la colonie, à savoir ; La reine, les ouvrières et les faux-bourçons que chacun possède des particularités et doit alors assumer des tâches bien distinctes. Néanmoins, le rôle que jouent les individus immatures (larves) a été toujours écarté. Cette caste pourrait constituer un élément clé dans la régulation de colonie d'abeille. Connaitre les phénomènes physio-comportementaux du couvain nous donnerait une autre vision sur le fonctionnement de la colonie elle-même. Chez les larves d'insectes, 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 durant toute la période de développement de la larve (**Cruz-Landim ; 1983. Marx ; 1987**).

Ce présent travail tente de relever le comportement de certaines cellules adipeuses en exposant des abeilles immatures (larves) à des périodes de faim. Des coupes histologiques seront faites avec des mesures morpho-métriques qui ciblent essentiellement les trophocytes et les oenocytes. Ce manuscrit sera organisé comme suit :

- ✓ Une première partie est consacrée aux rappels bibliographiques actualisés sur la régulation sociale chez l'abeille domestique *Apis mellifera*.
- ✓ Une deuxième partie sociale consacrée aux matériels et méthodes utilisés dans l'exploration des données expérimentales.
- ✓ Puis une dernière partie pour la discussion des résultats et conclusion.



REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur l'abeille :

I.1. La répartition géographique d'*Apis mellifera* :

I.1.1. Dans le monde :

L'espèce *Apis mellifera* présente une aire de répartition naturellement large, qui s'étend jusqu'à l'Afrique sub-saharienne, le Nord de l'Europe et l'Asie centrale (Ruttner., 1988 ; Smith., 1991 ; Shepared et Meixner., 2003 ; Arias et Shepard., 2005 ; Whitfield *et al.*., 2006). A l'heure actuelle 29 sous-espèces ont été reconnues et décrites sur la base de caractères morphologiques, comportementaux, écologiques, et de distributions géographiques (Ruttner., 1988 ; Engel., 1999 ; Shepard et Meixner., 2003 ; Shaibi *et al.*, 2009).

L'origine évolutive d'*Apis mellifera* reste encore un sujet très controversé. Néanmoins, il avait été admis que cette espèce était issue d'une abeille venue du moyen orient. Une étude plus récente suggère cependant plutôt une origine africaine (Han *et al.*, 2012).

D'après des études morphométriques, génétiques, physiologiques et comportementales, les sous-espèces de l'abeille domestique se répartissent en quatre lignées évolutives : Africaine, ouest-méditerranéenne, nord-méditerranéenne, Turquie et Caucase (Mgnus *et al.*, 2014). (Fig : 01)

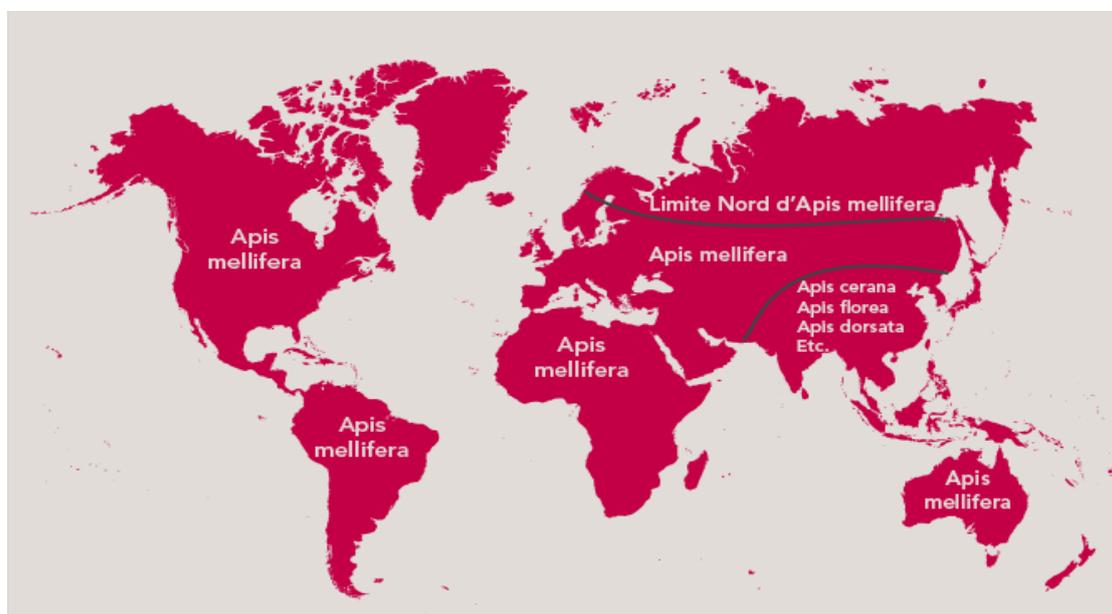


Figure 01: Répartition du genre *Apis* dans le monde
(carte par free vector maps)

I.1.2. En Algérie :

Parmi les nombreuses races, appartenant aux espèces *Apis mellifera*, deux sous-espèces sont présentes en Algérie :

A. *Apis mellifera intermissa* (Buttel-reepen) :

C'est une race d'abeille un peu grosse. Elle se localise entre l'Atlas et la méditerranée au nord, et la côte atlantique à l'ouest. Elle est en position intermédiaire entre les abeilles tropicales africaines et les races européennes (Fayet., 2013).

L'origine de cette abeille tellienne (Buttel-reepen., 1906) est la Libye, la Tunisie, l'Algérie et le Maroc, mais elle est plus répandue en Algérie. Elle est très agressive, très nerveuse, très essaimeuse, mais aussi très féconde et très bonne récolteuse de pollen et de propolis (Ruttner., 1975).

B. *Apis mellifera sahariensis* (Beldensperger 1922) :

Cette abeille comme son nom l'indique vit dans le désert du Maroc et dans les régions intérieures de l'ouest d'Algérie. Elle est plus petite que la tellienne, peu essaimeuse, fait peu de cellules royales et les reines vierges sont éliminées pendant l'essaimage. Par ailleurs la colonie n'est pas très défensive et peu nerveuse (Fayet., 2013)

I.2. Anatomie de l'abeille adulte :

Le corps de l'abeille se compose d'une tête avec les organes sensoriels et les pièces buccales, d'un thorax composé de 3 segments : prothorax-mésothorax-métathorax. Portant les ailes et les pattes, le thorax forme avec l'abdomen le tronc (Tab : 01) (Girdwoyn., 1876).

Tableau I: Récapitulatif de l'anatomie externe de l'abeille.

Sis	Organe	Description	Références
Tête	Les yeux	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Deux yeux composés (facettes) : grands, très allongés et ovales. ▪ 3 yeux simples (ocelles) : demi-sphériques 	(Girdwoyn., 1876)
	Les antennes	Insérées entre les ocelles et l'appareil buccal, brisées de 12 ou 13 articulations.	(Hamet., 1859)
	L'appareil buccal	Composé d'une lèvre supérieure, des mandibules, d'une lèvre inférieure, des palpes et d'une langue.	(Girdwyn., 1876)
Thorax	Les ailes	2 paires membranaires attachées sur le segment postérieur du thorax.	(Biri., 1989)
	Les pattes	Sont au nombre de six, réparties en trois paires : les pattes antérieures, médianes et postérieures.	
Abdomen		Comporte 7 segments visibles en contient les organes internes ainsi que le dard.	

Toutes ces parties sont couvertes d'une matière cornée nommée chitine qui est une Substance organique azotée qui constitue l'exosquelette ou tégumentaire des insectes (**Maeterlinck., 1901**).

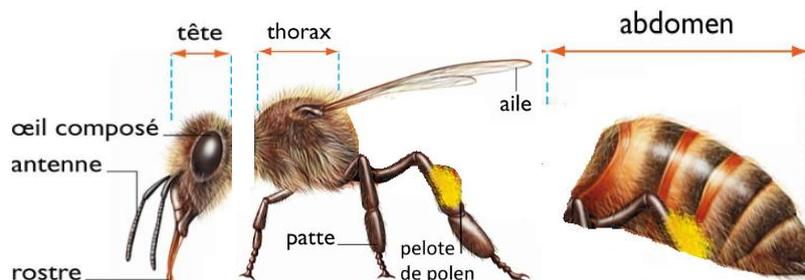


Figure 02: Morphologie de l'abeille.(www.wixe.com)

il existe 3 types d'abeilles dans une ruche : la reine, la femelle ouvrière et le mâle ou faux-bourdon. Ces 3 castes présentent des particularités anatomiques liées à leur physiologie. Il existe donc des différences marquées entre les trois castes d'abeilles :

La reine	<ul style="list-style-type: none"> ➤ C'est l'individu le plus grand de la colonie mesurant 18 à 22 mm de long et son thorax atteint environ 4,2mm (Albouy et Le Conte., 2014). ➤ elle se reconnaît facilement par son abdomen allongé bien développé et volumineux qui dépasse largement les ailes au repos (Collins et Pettits., 2013). ➤ elle présente des yeux plus petits que les ouvrières ou les mâles et une langue plus courte (Leimar et al., 2012) ➤ Les trois paires de pattes sont similaires (Killani., 1999) 	
L'ouvrière	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Elle mesure 12 à 13 mm et son thorax atteint 4mm de diamètre (Ravazzi. G., 2007) ➤ sa tête est triangulaire, sa trompe est bien développée et longue pour la collecte de nectar. ➤ L'abdomen est ovale, allongé, et composé de 6 segments. ➤ Les ailes sont bien développées et s'étendent sur toute la longueur du corps. (Killani., 1999) ➤ Les pattes postérieures présentent une corbeille destinée à ramasser le pollen (Girdwoyn., 1876) 	
Faux-bourdon	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Il mesure généralement 15 mm, son thorax atteint 5mm et les ailes sont aussi longues que le corps. (Darrouzet et Corbara., 2016) ➤ Sa tête est arrondie, les yeux composés sont très grands et les yeux simples sont très rapprochés les uns des autres. ses mâchoires et trompe sont plus petites. les antennes ont 14 articles (Girdwoyn., 1876) ➤ 8 segments sont visibles sur l'abdomen. il ne possède pas d'aiguillon (Birri., 1989) 	

I.3. La colonie d'abeilles :

Une colonie d'abeilles, dans laquelle plusieurs dizaines de milliers d'individus interagissent et vivent ensemble, est un bon exemple de système complexe. En effet, une des caractéristiques notables des abeilles de l'espèce *Apis*, et qu'elles vivent en colonie suivant un comportement eusocial (**Winston., 1987**).

Cette organisation sociale dépend des multiples interactions des individus spécialisés d'âges et de castes différents. Des phénomènes complexes émergent de ces interactions au niveau du système (la colonie), permettant son auto-régulation et son auto-adaptation comme par exemple : Le changement de spécialité suivant les besoins de la colonie (**Seeley., 1995**), La thermorégulation du nid (**Sumpter et Broomhead., 2000**) et La sélection des meilleures sources de nectar disponibles (**Dornhaus et al., 2006**) (**Seeley et Visscher., 1988**).

I.3.1. Les individus de la colonie :

Une colonie d'abeilles se compose généralement de couvain (ensemble des abeilles immatures) et de trois types d'abeilles adultes: les ouvrières, les faux bourdons et une reine dont chaque membre a une tâche précise à accomplir.

A. Le couvain :

Les trois types d'abeilles adultes passent par trois stades de développement avant d'émerger comme adultes: œuf, larve et nymphe. Les trois stades sont appelées collectivement "couvain". Les ouvrières s'occupent des immatures pour assurer le renouvellement de la colonie donc Les immatures sont complètement dépendants de l'apport en soins des nourrices dont Les larves indiquent leurs besoins aux ouvrières pour optimiser leur développement.

B. La reine :

Dans une colonie d'abeilles il n'y a qu'une seule reine, c'est la mère unique qui est totalement investie dans la reproduction. Une reine se distingue facilement des autres membres de la colonie, Son corps est normalement beaucoup plus long en particulier pendant la période de ponte lorsque l'abdomen est très allongée. Elle peut pondre jusqu'à 2 000 œufs par jour au printemps, et deux millions au cours de sa vie qui dure de trois à cinq ans (**Albouy et Le Conte., 2014**).

La reine est entourée par des ouvrières qui lui prodiguent les soins nécessaires, en la nourrissant avec une nourriture riche lui permettant d'assurer ses rôles principaux. Son

premier rôle de pondreuse est indispensable à la survie de la colonie. A l'intérieur de son abdomen se trouvent deux ovaires de taille importante ainsi qu'une spermathèque ou réserve de spermatozoïdes faisant de la reine une puissante « machine à pondre ». Son deuxième rôle, permet la cohésion de la colonie par le biais des phéromones régulant la physiologie et le comportement des ouvrières (**Winston et Punnett., 1982**).

C. Le faux-bourdon :

Les abeilles mâles, sont les plus grandes abeilles de la colonie, ils sont présents dans la ruche à partir du printemps jusqu'en début d'automne. Les faux bourdons deviennent sexuellement matures environ une semaine après l'émergence et meurent instantanément lors de l'accouplement, Leur principale fonction est de féconder la reine vierge.

Le faux bourdon accomplit aussi quelques petites tâches quotidiennes, aide à ventiler la ruche, participe à la transformation du nectar en miel (**Ravazzi. G., 2007**)

D. Les ouvrières :

Les ouvrières sont les plus petits et constituent la majorité des abeilles qui occupent la colonie, elles sont des femelles sexuellement non développées mais peuvent toutefois pondre des œufs non fécondés. Au cours de leur vie, les ouvrières peuvent s'engager dans différentes fonctions afin d'assurer le développement de la colonie, par le soin au couvain, la défense de la colonie ou le butinage (**Wilson., 1971**). La vie d'une ouvrière est de 40 jours environ, mais peut s'allonger de l'automne jusqu'au printemps suivant, c'est-à-dire 4 ou 5 mois (**Biri. M., 2002**).

Chez les espèces hautement eusociales, une répartition des tâches existe entre les ouvrières, qui sont organisées autour d'une division de l'ensemble des travaux nécessaires au développement de la colonie (**Seeley., 1982; Wilson., 1971**). Les ouvrières participent aux tâches à l'intérieur du nid quand elles sont jeunes puis s'engagent dans les activités extérieures quand elles vieillissent. La répartition des tâches repose sur le principe de polyéthisme temporel ou **d'âge** (**Harvell., 1994; Nicholas et Calderone., 1998**).

Le développement comportemental peut être accéléré, retardé ou inversé en fonction du contexte social et des besoins directs de la colonie (**Amdam., 2011**).

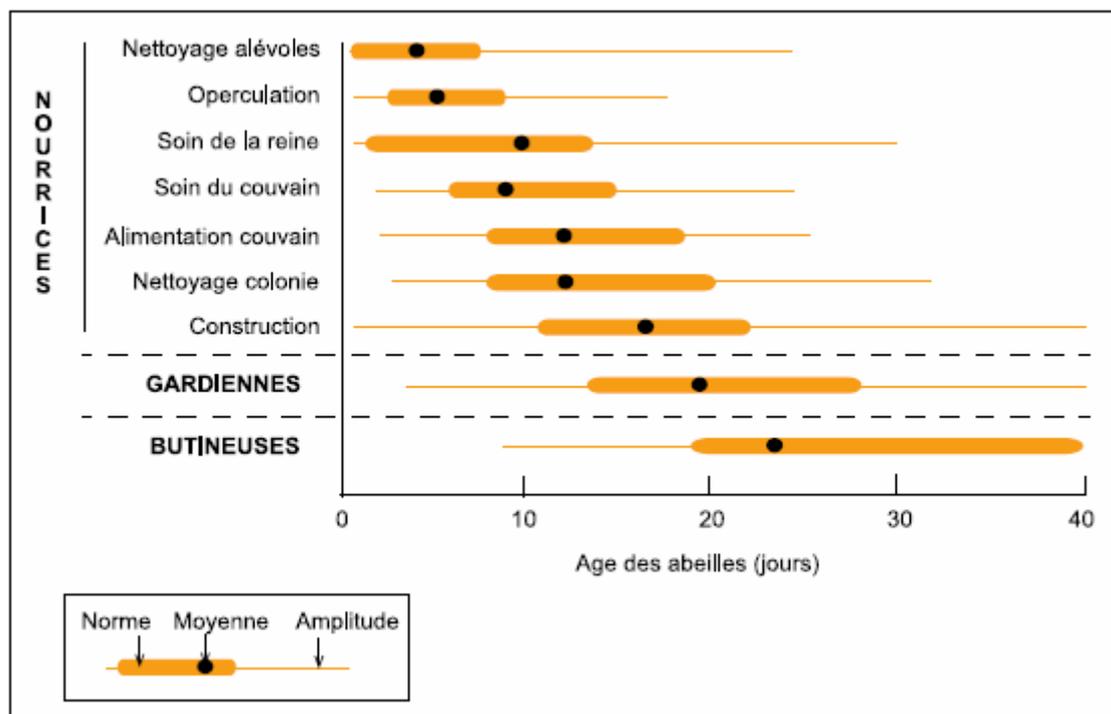


Figure 03 : Polyéthisme d'âge des ouvrières (Adapté de Wilson, 1971).

Ce polyéthisme d'âge révèle 4 grandes classes qui se chevauchent chronologiquement :

- ✓ **Les nettoyeuses de cellules :** Ces abeilles émergentes (0-3 jours) ne peuvent pas voler ou piquer et sont considérées comme immatures (Winston., 1987). Ces jeunes abeilles travaillent au nettoyage des cellules.
- ✓ **Les nourrices :** Les nourrices prennent soin du couvain en le nourrissant avec une sécrétion riche en protéines, produite par deux de leurs glandes (mandibulaire et hypopharyngienne), qui permet la croissance des larves .elles prennent également les soins nécessaires de la reine pour sa survie. Le stade de nourrice dure environ de l'âge de 4 à 12 jours (Seeley., 1982).
- ✓ **Les abeilles d'âge intermédiaire (MAB Middle-Aged Bees) :** Les MAB s'occupent de tâches à l'intérieur du nid de l'âge de 12 à 21 jours en moyenne (Johnson., 2008b; Seeley., 1982). Les MAB participent à environ 15 tâches, allant de la construction du nid et son entretien, en passant par la réception du nectar et son traitement, à la défense du nid (gardiennes) (Johnson., 2008a; Johnson., 2008b).
- ✓ **Les butineuses :** Une fois la transition vers le butinage effectuée, les abeilles ne s'occupent plus des tâches d'intérieur (Winston., 1987) mais de la recherche de ressources dont la colonie à besoin (propolis, eau, pollen et nectar).

Le stade nourrice et le stade butineuse sont les deux stades les plus stables et distincts dans la vie d'une abeille (**Ament et al., 2010**) et la transition de la tâche de nourrice vers celle de butineuse s'accompagne de profondes modifications physiologiques, notamment endocriniennes, métaboliques et neuronales (**Robinson., 2002**).

I.3.2. La physiologie de l'abeille :

Les glandes mandibulaires, hypopharyngiennes et cirières sont très développées chez les nourrices puis leur taille diminue et elles se résorbent au moment du passage au stade butineuse (**Winston., 1987**). Ces glandes produisent les éléments nécessaires à la nutrition du couvain (bouillie larvaire, gelée royale) et à l'entretien et la construction du nid (cire).

D'autres changements accompagnent le développement comportemental des abeilles, comme la perte de 40% du poids des abeilles lors de leur transition vers le butinage. Cette perte de poids provient en partie d'une baisse de moitié des réserves lipidiques contenues dans les corps gras (**Wilson-Rich et al., 2008**). De plus, La disponibilité en nourriture pour chaque individu dans la colonie conduit à des changements dans leur capacité à stocker des éléments nutritifs à l'intérieur de leur corps, et engendre des changements dans leur physiologie et leur développement comportemental (**Ament et al., 2010**).

I.3.3. Les hormones:

La maturation comportementale des abeilles est liée à plusieurs hormones. Le taux d'hormone juvénile augmente avec l'âge des abeilles, mais également avec le développement comportemental des abeilles, les butineuses ont des taux plus élevés de JH dans leur hémolymphe que les nourrices. La JH est produite dans les *corpora allata*, une paire de glandes sécrétrices localisées à proximité du cerveau, une ablation de ces glandes engendre un retard de la maturation des abeilles (**Sullivan et al., 2000**).

L'autre hormone la vitellogénine (Vg), une hormone produite dans les corps gras des abeilles, a été identifiée comme inhibant la maturation des abeilles (**Amdam et al., 2003**). Quand la production de Vg est stoppée, les abeilles ont une maturation comportementale accélérée (**Nelson et al., 2007**). Donc la JH et la Vg semblent interagir chez les abeilles en s'inhibant réciproquement (**Page et Amdam., 2007**).

Une neuro-hormone, l'octopamine, a aussi un rôle dans les mécanismes de transition entre nourrices et butineuses. Cette neuro-hormone se retrouve en plus forte quantité dans le cerveau (**Wagener-Hulme et al., 1999**), des butineuses, que dans ceux des nourrices. Des

traitements à l'octopamine engendrent un butinage précoce des nourrices (**Schulz et Robinson, 2001**).

I.3.4. La génétique :

Les différences raciales interviennent aussi dans la maturation des abeilles. Les deux races *A. m. ligustica* et *A. m. mellifera*, qui sont les plus éloignées génétiquement (**Whitfield et al., 2006a**), ont des maturations comportementales très différentes. Les ouvrières des colonies d'*A. m. ligustica* ont un développement comportemental rapide alors que les abeilles des colonies d'*A. m. mellifera* ont une maturation plus longue (**Brillet et al., 2002**).

II. La communication chimique chez l'abeille :

L'organisation sociale de la colonie est flexible et les différentes régulations sociales et la vie de la société d'abeilles sont surtout guidées par des phéromones (**Alaux et al., 2010b**).

Une phéromone est définie comme une substance secrétée à l'extérieur d'un individu et reçue par un ou plusieurs individus de la même espèce qui, en réponse, modifieront leurs comportements et/ou leurs physiologies (**Karlson et Luscher., 1959**). Le mode d'action des phéromones dépend de leur nature chimique et de leur volatilité ou de leur solubilité, propriétés qui conditionnent leurs durées de vie (**Slessor et al., 2005a**).

Deux groupes de phéromones ont été décrits, les phéromones incitatrices (releaser) et modificatrices (primer). Une phéromone incitatrice déclenche immédiatement une réponse comportementale de l'individu récepteur, alors qu'une phéromone modificatrice modifie à plus long terme la physiologie (système endocrinien, reproducteur...) chez l'individu receveur (**Wilson et Bossert., 1963**).

Reine, faux bourdons, ouvrières, larves: tous produisent des phéromones qui organisent les rapports sociaux au sein de la colonie. Les échanges constants des phéromones se font lors d'échange de nourritures ou trophallaxie (**Riondet. J., 2013**).

A. Les phéromones de la reine :

La reine diffuse des phéromones royales pour réguler l'homéostasie et le développement de la colonie :

- ✓ **la QMP (Queen Mandibular Pheromone) :** Cette phéromone produite par les glandes mandibulaires de la reine est composée de 5 molécules :
 - ✓ les deux énantiomères (R+S) du 9-hydroxydec-2-énoic acid (9-HDA)
 - ✓ le méthyl p-hydroxybenzoate (HOB)

- ✓ 4-hydroxy-3-methoxyphenylethanol (HVA)
- ✓ le 9-ODA ((E)-9-oxodec-2-enoic acid) (**Barbier et Lederer., 1960; Butler et al., 1962; Pain., 1961**).

La QMP attire fortement les jeunes ouvrières et stimule le soin à la reine de la part des ouvrières qui la nourrissent, la nettoient. La QMP retarde l'âge des abeilles au butinage (**Pankiw et al., 1998a**), les abeilles restent donc plus longtemps auprès de la reine, à lui prodiguer des soins. de plus, il a été établi qu'elle inhibe partiellement les ovaires des ouvrières (**Hoover et al., 2003**), elle inhibe la production de JH (**Kaatz et al., 1992; Pankiw et al., 1998a**) et à l'inverse augmente les taux de Vg des ouvrières (**Fischer et Grozinger., 2008**).

La QMP favorise la construction de cellules au format ouvrières (**Ledoux et al., 2001**), et elle inhibe la construction de cellules de mâles et de reines jusqu'à un certain stade de développement de la colonie (**Winston et al., 1990**). La QMP engendre la cohésion de l'essaim lors de l'essaimage (**Winston et al., 1989**).

- ✓ **La QRP (Queen Retinue Pheromone)** : cette phéromone est un mélange de la QMP avec quatre composés : l'alcool coniféryle, l'oléate de méthyle, l'hexadécane-1-ol et l'acide linoléique. Elle induit une attraction plus forte des ouvrières vers la reine (**Keeling et al., 2003**).

B. Phéromones d'ouvrière :

- ✓ **Phéromones d'alarme** : sécrétée par les abeilles, surtout les gardiennes, lors d'un comportement de défense de la colonie pour protéger la ruche. il existe quatre phéromones d'alarme principales:
 - l'isopentyl 5 acetate (IPA) (**Boch et al., 1962**).
 - le cis-11-Eicosanol retrouvé dans la glande à venin (**Pickett et al., 1982**).
 - le 2-heptanone qui est produit par les glandes mandibulaires (**Shearer et Boch., 1965**).
 - le 3-méthyl-2-buten-1-yl acetate produit uniquement dans les glandes à venin des abeilles africanisées (**Hunt et al., 2003**).
- ✓ **Phéromone de Nasanov** : c'est une phéromone d'orientation et d'organisation, sécrétée par les ouvrières pendant l'essaimage (**Morse et Boch., 1971**) pour attirer les ouvrières sœurs de façon organisée et calme (**Free., 1987; Winston., 1987**). Cette phéromone permet également de trouver une source d'eau ou de nourriture (**Winston.,**

1987). elle est formé de sept composés : geraniol, nerol, (E,E)-farnesol, (E)-citral, (Z)-Citral, Acide Geranique, Acide Nerolique, produits par la glande de Nasonov des ouvrières.

- ✓ **L'oléate d'éthyle « EO »** : une phéromone produit par les butineuses, elle ralentit la progression naturelle des ouvrières vers le stade butineuse (**Leoncini et al., 2004**). L'EO fait également parti des composés émis par la reine (**Keeling et Slessor., 2005**) et le couvain (**Le Conte et al., 1990**) manière inhibe la maturation comportementale vers le stade de butineuse .

C. Les phéromones de couvain :

Par l'émission de différentes phéromones, le couvain module le comportement des ouvrières pour améliorer sa nutrition :

- ✓ La première phéromone de couvain identifiée est le Glyceryl-1,2-dioleate-3-palmitate, cette phéromone permet de regrouper une grappe d'ouvrières autour d'une cellule royale (**Koeniger et Veith., 1983a; Koeniger et Veith., 1983b**).
- ✓ **BEP = Brood Ester Pheromone** (Pheromone du couvain composée d'ester) :

une autre phéromone produit par le couvain composée d'un mélange de 10 esters éthyliques et méthyliques agissant sur la physiologie et le comportement des ouvrières (**Le Conte et al., 1990**). Cette phéromone est sécrétée par les glandes salivaires de larves (**Le Conte et al., 2006**), principalement de vieilles larves (4 à 5 jours) (**Maisonasse et al., 2010**). Ces glandes ont été aussi connues pour leur rôle dans la sécrétion de la soie, nécessaire à la construction d'un cocon qui précède le stade de nymphe (**Silva-Zacarin et al., 2003**).

L'émission de la BEP induit a une augmentation de la quantité de gelée royale déposée dans les cellules par les ouvrières (**Le Conte et al., 1995a**) et augmente le taux des protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières pour améliorer la production de la nourriture larvaire (**Mohammedi et al., 1996; Peters et al., 2010**). De plus, Cette phéromone induit la reconnaissance de l'âge des larves par les abeilles nourrices (**Le Conte et al., 1994**) et à la fin du cinquième stade larvaire elle induit l'operculation des cellules par les ouvrières (**Le Conte et al., 1990**).

- ✓ **le E- β -ocimène** : (3(E)-3,7-dimethyl-1,3,6-octatriene), elle est plus volatile que la BEP c'est-à-dire quelle est facilement dispersée dans la colonie, et est principalement émise par de jeunes larves (L1, L2, L3) (**Maisonasse et al., 2010**).

le E- β -ocimène accélère la maturation comportementale des ouvrières (**Maisonasse et al., 2010**) et inhibe les ovaires des ouvrières (**Maisonasse et al., 2009**) .

III. Reproduction et développement du couvain :

III.1. Accouplement et fécondation :

Les reines des abeilles mellifères sont polyandres et s'accouplent avec plusieurs faux-bourçons durant un vol nuptial. Ces derniers atteignent leur maturité sexuelle environ deux semaines après leur émergence (**Winston M., 1987 ; Ellis et al., 2015**) et meurent généralement pendant ou peu après l'accouplement (**Baer., 2005**).

Ce processus d'accouplement initie de nombreux changements comportementaux, physiologiques et moléculaires qui façonnent la fertilité de la reine et son influence sur la colonie. Par exemple, la réception de sperme de faux-bourçon peut moduler l'activation des ovaires de la reine, la production de phéromones, et le comportement subséquent des ouvrières (**Brutscher et al., 2019**).

III.2. La ponte :

Une fois que la reine termine son dernier vol nuptial et retourne à la ruche, elle commence à stocker le sperme dans sa spermathèque, un organe spécialisé trouvé chez des nombreux insectes pour faciliter le stockage des spermatozoïdes, et commence la ponte (**Ellis et al., 2015 ; Brutscher et al., 2019**).

Quarante-huit heures après l'accouplement, la mère commence à pondre des œufs en deux sortes : il y a ceux qui renferment des spermatozoïdes et ceux qui en sont dépourvus, les premiers produisent des femelles tandis que les autres ne donnent uniquement naissance qu'à des mâles ou faux bourçons (**Girdwoyn., 1876**). Ce phénomène est appelé la parthénogenèse arrhénotoque (**Vandame., 1996**). Une reine peut pondre jusqu'à 2000 œufs par jour au printemps alors que les ouvrières pondent des œufs qu'en absence de la reine et des jeunes larves (**Linksvayer et al., 2011 ; Leimar et al., 2012**)

III.3. Le développement :

Le temps de développement est différent pour chaque caste d'abeilles et varie en fonction de facteurs environnementaux comme la chaleur et l'humidité. Toutes les castes effectuent huit stades de développement différents pour atteindre l'état adulte : un stade œuf, cinq stades larvaires, durant lesquels un maximum d'énergie sera emmagasiné, un stade nymphal, durant lequel aura lieu la métamorphose qui conduira à l'émergence et le stade adulte durant lequel seront effectuées les différentes tâches au sein de la colonie. Le développement pouvait durer entre 14 et 17 jours pour la reine, 16 et 26 pour les ouvrières, 20

et 28 jours pour les mâles (tab 02) (Winston., 1987 ; Charpentier., 2013).

Tableau II : Temps de développement moyen des trois castes d'abeilles (Donzé.,1995 ; Rembold et al., 1980 ; Winston., 1993 ; Jay., 1964).

Stade de développement du couvain d'abeilles		Durée de chaque stade (jours)			
		Reine	Male	Ouvrière	
Stade œuf		3.0	3.0	3.0	
Stades Larvaires	1	4.6	6.3	5.5	
	2				
	3				
	4				
	5	Non operculé	1.4	2.1	1.5
		Operculé avant et pendant le tissage du cocon			
		Operculé après le tissage du cocon ou prénympe			
Stade nymphale		4.6	8.9	8.0	
Stade imago ou pré-émergent		0.9	1.2	0.8	
Temps nécessaire pour un développement total (jours)		16.0	24.0	21.0	

A. L'œuf :

L'œuf éclot au bout de 3 jours. Il est blanc, translucide, ovale et possède une extrémité plus pointue par laquelle il s'adhère à la paroi de la cellule (fig 04) (Biri M., 2011).

L'œuf est enveloppé de deux membranes : la première est transparente et se nomme *chorion*. Tandis que la seconde, ou inférieure, est très-fine et forme la membrane du jaune d'œuf dont le contenu intérieur est un liquide tenant en suspension de petites cellules, des corpuscules de graisse jaune. La partie concave de l'œuf se nomme ventricule ; et la partie convexe s'appelle dos. Dans le pôle supérieur des œufs se trouvent des micropyles ou ouvertures par lesquelles les spermatozoïdes pénètrent dans l'intérieur de l'œuf et le fécondent (Girdwyn. M., 1876).

Les œufs des ouvriers sont pondus dans des petites cellules tandis que les cellules plus grandes sont réservées aux œufs des faux-bourdons (Ellis et al., 2015 ; Brutscher et al., 2019). Toutes ces

cellules sont déjà nettoyées et préparées par les ouvrières pour élever la nouvelle couvée (**Blackiston. H., 2015**).

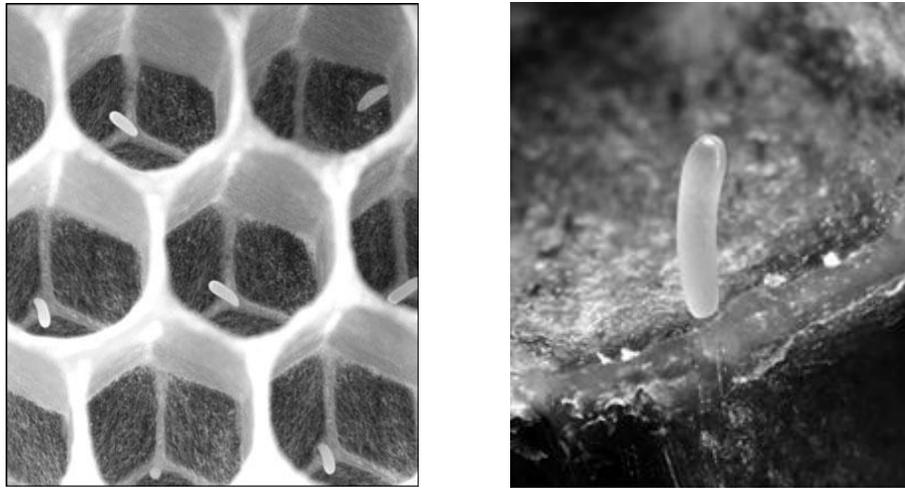


Figure 04 : la forme de riz des œufs et la façon dont la reine les a positionnés « debout » dans la cellule (**Blackiston. H., 2015**).

B. Larve :

En plus des abeilles adultes, les larves d'abeilles sont la base de développement et renouvellement des colonies (**Tavares et al., 2017 ; Suzhen Qi et al., 2020**).

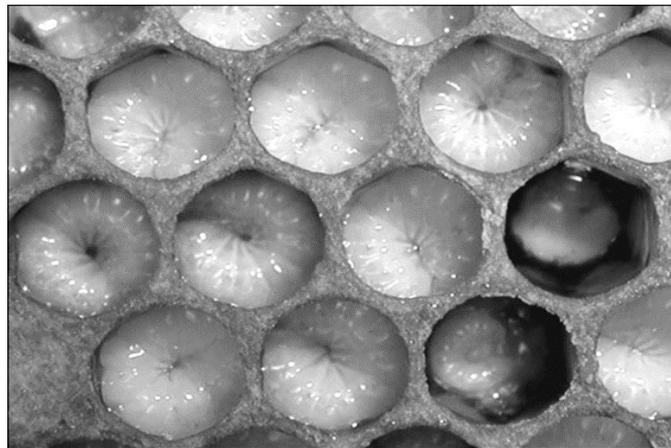


Figure 05: Larves enroulées dans ses cellules (**john clayton**).

La larve éclot de l'œuf trois jours après la ponte. Elle est à peine visible à l'œil nu. D'abord plus petite que l'œuf, et couchée au fond de l'alvéole dans une gouttelette de gelée royale, elle ressemble à un minuscule ver, annelé, blanc, à peine incurvé, sans pattes ni yeux (fig 05) (**Prost et Le conte., 2005**). La larve mesure environ 106 mm, son poids est de 0,1 mg

(Vandame., 1996). La durée de vie larvaire d'abeille dépend de sa caste. En moyenne, elle est de 5 jours et 1/2 pour une reine et 6 jours pour une ouvrière. Lorsqu'il s'agit d'un mâle, la durée est de 6 jours et 1/2 (Prost et Le conte., 2005).

✓ **Différenciation des castes :**

La différenciation entre reine et ouvrières se fait généralement pendant le développement post-embryonnaire, et est régulée par un nourrissage différentiel des larves (Haydak., 1970).

Jusqu'au troisième jour de développement, toutes les larves sont nourries par les nourrices à la gelée royale produite par les glandes hypopharyngiennes des nourrices. Les larves destinées à être reines seront encore nourries par cette gelée jusqu'au huitième jour. Les larves destinées à être ouvrières seront par contre nourries avec du pollen, du miel et des sécrétions glandulaires, il s'agit du « pain de l'abeille » (Barchuk *et al.*, 2007). De plus, les larves de reine potentielles reçoivent 10 fois plus de nourriture que les larves d'ouvrières (Bienenforsch. Z., 1966). En seulement cinq jours, elles sont 1 570 fois plus grandes que leur taille d'origine. À ce moment, les abeilles ouvrières scellent les larves dans la cellule avec un coiffage poreux de cire d'abeille beige. Une fois scellées, les larves tournent un cocon autour de leur corps (Blackiston. H., 2015).

En raison de ce régime d'alimentation différentiel, les deux types de larves suivent deux trajectoires de développement très différent, bien qu'elles aient exactement le même bagage génétique. Ce processus de différenciation des castes implique deux types d'altérations du modèle de développement : un type, que nous pouvons appeler altération incrémentielle, qui affecte la croissance générale du corps ou d'organes spécifiques, en particulier les ovaires. Tandis que L'autre type peut être considéré comme des altérations de l'état du caractère qui se traduisent par la présence ou l'absence de structures spécifiques entières, telles que l'appareil de collecte de pollen sur les pattes postérieures, les glandes cireuses (Barchuk *et al.*, 2007).

Comme autre possibilité, une étude récente de (Kamakura 2011) ont montré que la royalactine, une protéine majeure de la gelée royale (MRJP), influence la croissance et le développement des larves et est nécessaire au développement complet d'un phénotype de reine. La royalactine (également connue sous le nom de MRJP1 monomère) affecte quantitativement les taux de croissance et de développement des larves par l'activation de la voie du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGF) (Egfr) (Kamakura. M., 2011; Brutscher *et al.*, 2019).

Le stade larvaire n'est que le premier stade du développement de la reine. Après environ 6 jours de développement, les larves se nymphosent et les reines passent environ 8 jours à se développer en pupes avant d'émerger en tant que reines adultes (Yao Yi et al., 2020).

C. Nymphe :

Les stades pré nymphal (métamorphose) et nymphal se sont des périodes critiques de transformation intense susceptibles de perturbations environnementales (Groh et al., 2004 ; Diego et Walter., 2020).

Les organes sensoriaux imaginaires (antennes et yeux), appendices locomoteurs (pates et ailes) , et presque tous les autres organes sont développé à partir de zéro . Tandis que les systèmes nerveux et digestifs sont simplement réorganisés (Myser., 1954 ; Oertel., 1930 ; Farris et al., 1999 ; Diego et Walter., 2020).

Les transformations en cours sont cachées sous les coiffes de cire. Cette petite créature commence à prendre les traits familiers d'une abeille adulte. Les yeux, les jambes et les ailes prennent forme. La coloration commence par les yeux : d'abord rose, puis violette, puis noire. Enfin, les poils fins qui recouvrent le corps de l'abeille se développent. Après 12 jours, l'abeille maintenant adulte se fraye un chemin à travers la coiffe de cire pour rejoindre ses sœurs et ses frères (fig 06) (Blackiston., 2015).

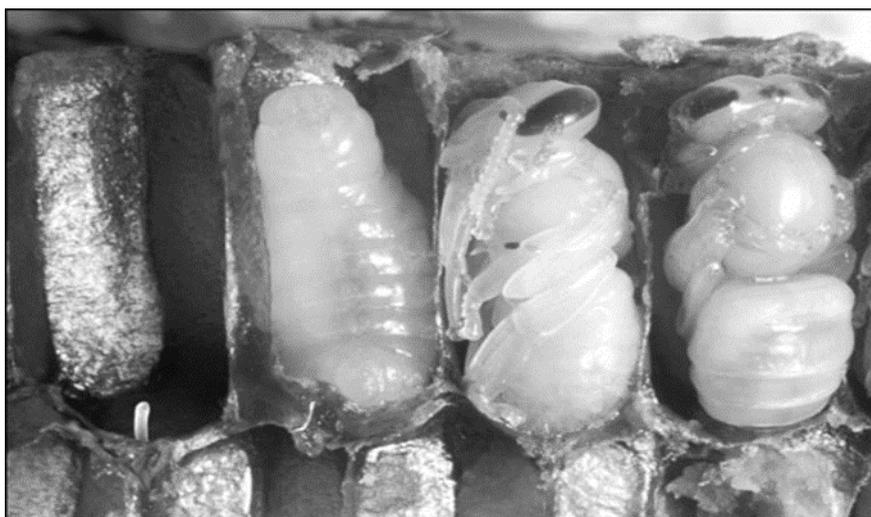


Figure 06 : Les cellules ouvertes révèlent un œuf et des nymphes en développement.
(dr.Edward ross -california academy of sciences-).

Les nymphes, immobiles, ne se nourrissent pas, ne grandissent pas et aucun changement extérieur de forme n'est observé. Les organes internes subissent par contre des remaniements importants (**Winston., 1993**)

D. L'imago :

Gould & Gould, 1993 signalent que l'adulte naissant, appelé aussi imago, présente une cuticule molle qui peut mettre plusieurs heures à sécher et durcir. Dans ce stade, le développement des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires commence, la maturité est atteinte trois jours après la naissance. Dix jours plus tard, c'est au tour des glandes cirières de se développer. Vingt jours après, des gènes spécifiques impliqués dans le système olfactif et de mémorisation sont exprimés dans la tête de la butineuse ; ils lui permettent d'effectuer son rôle de récolte de la nourriture pour la colonie (fig 07) (**Alaux et al., 2009**).

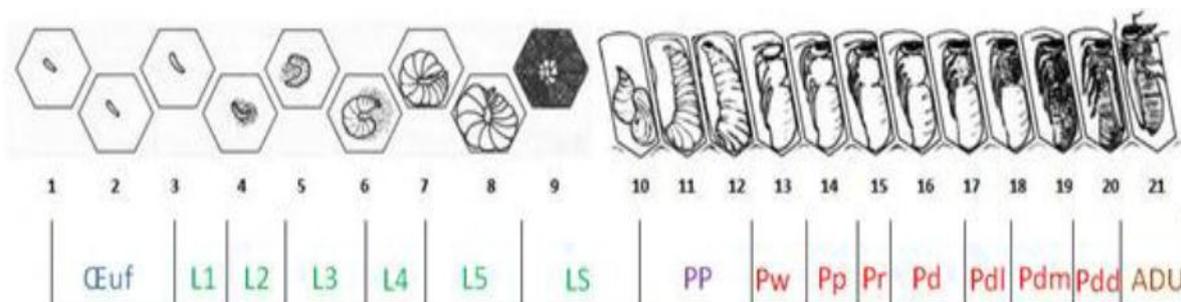


Figure 07: Diagramme des différents stades de développement en fonction de l'âge de l'ouvrière en jour.

L1, L2, L3, L4 et L5 = stades larvaires 1, 2, 3, 4 et 5 ; LS = redressement de la larve qui tisse le cocon ; PP = immobilisation de la larve après tissage du cocon ou prénymphe ; Pw = Nympe aux yeux blancs ; Pp = Nympe aux yeux roses ; Pr = Nympe aux yeux rouges marrons ; Pd = Nympe aux yeux marrons foncés ; Pdl = Nympe aux yeux marron foncé et à la cuticule claire ; Pdm = Nympe aux yeux marron foncé et à la cuticule de couleur intermédiaire ; Pdd = Nympe aux yeux marron foncé et à la cuticule foncée ; ADU = Ouvrière adulte ou imago. (**Jay., 1962 ; Rembold et al., 1980**).

IV. Physiologie de la larve :

IV.1. Le corps gras :

Le corps gras chez les insectes joue un rôle essentiel dans le stockage et l'utilisation de l'énergie, Il est le dépôt de stockage central pour l'excès de nutriments. En outre, il est un organe d'une grande activité biosynthétique et métabolique (**Law et Wells., 1989**). Les

cellules du corps gras non seulement contrôlent la synthèse et l'utilisation de l'énergie des réserves de graisse et de glycogène, mais synthétisent également la plupart des protéines d'hémolymphe et les métabolites circulants. De grandes quantités de protéines pertinentes, telles que les protéines de stockage utilisés comme des acides aminés pour la morphogenèse, les lipophorines qui sont des lipoprotéines responsable pour le transport des lipides dans la circulation (hémolymphe), ou la Vitellogenine nécessaire pour la maturation de l'œuf, sont sécrétées par le corps gras (**Keeley LL., 1985**).

Pour effectuer de multiples fonctions métaboliques pour répondre aux besoins des changements physiologiques de l'insecte au cours du développement, le corps gras doit être en mesure d'intégrer des signaux d'autres organes. Un grand nombre de ces fonctions sont hormono-réglées, et donc le corps gras est la cible organe de plusieurs hormones (**Schooley et al., 2005**). En plus de son rôle de stockage et d'utilisation des nutriments, le corps gras est un organe endocrine (**Hoshizaki DK., 2005**), qui produit plusieurs peptides antimicrobiales (**Ferrandon et al., 2007**), et participe à la détoxification du métabolisme de l'azote (**Keeley LL., 1985**).

Le corps gras est un organe diffus qui remplit la cavité corporelle et se compose de cellules mésodermiques appelées trophocytes ou cellules adipeuses, Outre les trophocytes, les abeilles contiennent des œnocytes, un autre type de cellule d'origine ectodermique disséminé dans tout le corps adipeux (**Martins et al., 2011**). De plus, le corps gras présente d'autres spécialités cellulaires, telles que les cellules urinaires (urocytes), les cellules d'hémoglobine, les mélanocytes et les cellules chromatiques, Le corps gras est divisé en une partie vitale, entoure les viscères et occupe la cavité abdominale des insectes et une partie de paroi (**Rangel et al., 2015**).

Dans une étude de Zara et Caetano, ils montrent trois types de cellules différents : le trophocyte, la cellule d'urate et l'œnocyte. Le trophocyte est le type cellulaire le plus abondant dans le corps gras, ces cellules sont arrondies et présentent des noyaux de tailles et de formes variables, plusieurs sphères lucides aux électrons, gouttelettes lipidiques et certains granules d'éosinophiles peuvent être observés dans leur cytoplasme.

Les cellules d'urate, apparemment plus abondantes à côté de ventricule, sont réparties parmi les trophocytes dans toute la cavité corporelle, sont reconnaissables à leur morphologie légèrement polygonale, présentent un noyau central avec une grande quantité

d'hétérochromatine et plusieurs petites vésicules lucides peuvent être observées dans leur cytoplasme.

Le dernier type cellulaire sont les oenocytes, présente une forme arrondie bien qu'ils puissent être légèrement déformés en raison de la pression exercée par les cellules voisines, ils présentent un noyau arrondi et grand, situé au centre avec une grande quantité d'hétérochromatine, le cytoplasme semble floclé semblable a des petites vacuoles (**Zara et Caetano., 2004**).

Le corps gras périphérique de l'insecte est situé juste sous la cuticule et s'étend sur la majeure partie du corps (**Lowe et al., 2013**) et des études ont prouvé qu'un niveau élevé d'accumulation des protéines sous forme de vitellogénine en tant que constituant majeur du corps adipeux des abeilles (**Nilsen et al., 2011**). Le corps gras est plus important chez les insectes immatures, en particulier les insectes holométaboliques et chez les larves d'*Apis mellifera* (**Da Cruz Landim., 2008**).

Les changements de nutrition aux stades embryonnaires ont un effet clair sur la structure cellulaire du corps gras, ainsi qu'il y a des différences histologiques entre les stades larvaires (de L1 jusqu'au L5). La caste et l'âge d'abeille jouent aussi un rôle dans la différenciation histologique du corps gras (**Dalal MA., 2018**).



MATERIELS

&

METHODES

Le but de cette étude est de suivre le comportement du tissu adipeux (aspect histologique) lors d'un trouble alimentaire survenu pendant une période de sevrage. Nous avons pris comme modèle animal le couvain d'abeilles *Apis mellifera* intermissa.

Les manipulations expérimentales ont été réalisées sur terrain et au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Chlef (DSP Chlef), entre la période de février et avril 2020.

I. Matériel :

I. 1. Matériel Biologique :

Il faut rappeler que l'insecte est choisi pour ses qualités adaptatives et sa période post-embryonnaire plus ou moins courte (6 à 7 jours). Pendant cette durée la larve d'abeille subit 5 mues. Les prélèvements se sont fait pendant cette période où les larves seront privées de toute source de nourriture.

I. 2. Matériel non biologique :

I. 2.1. Equipement et instruments :

- ✓ Etuve réglée à 60°C
- ✓ Microtome de type *Lab-Kite*
- ✓ Appareil photo numérique *FUJIFILM*
- ✓ Bec benzène
- ✓ Agitateur
- ✓ Plaque chauffante
- ✓ Microscope photonique *motic*
- ✓ Lames et lamelles
- ✓ Pipette pasteur
- ✓ Eprouvette graduée
- ✓ cristallisoirs en verre
- ✓ Balance de précision
- ✓ Micropipette
- ✓ Bécher
- ✓ Thermomètre
- ✓ Trousse de dissection
- ✓ Bain marrie
- ✓ Barre de Leuckart.

I. 2.2. Produits et solution histologique :

Tableau III: Produits chimiques utilisés

Produits histologiques	Constitution de Hématoxyline-éosine	Constitution du Trichome de MASSON	Constitution de l'Acide Périodique de Schiff
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bouin aqueux ▪ Ethanol ▪ Paraffine ▪ Xylène ▪ Cyclohexane ▪ Gélatine ▪ Histo-kit 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hématoxyline de Mayer ▪ éosine 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Acide acétique, ▪ Acide phosphotungstique ▪ Fuchsine acide, ▪ Hématoxyline de Mayer ▪ Orangé G ▪ Ponceau ▪ Vert lumière 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Acide Chlorhydrique, ▪ Acide périodique ▪ Charbon actif ▪ Fuchsine basique ▪ Méta bisulfite de sodium

I.2. 3. Programmes informatiques :

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

I. 3. Protocole expérimental :

Avant toutes manipulations, il faut préparer au préalable les cadres de couvain à prélever. Un élevage de colonie d'abeilles est fait dans des conditions naturelles (fig. 08). Certaines conditions doivent être maintenues avant la récupération des larves à savoir, l'importance de la colonie (40 à 60000 d'individus), l'âge de la reine pondreuse, l'absence de symptômes pathologiques. Les cadres sont retirés de la ruche et confinés dans un incubateur obscur où $T = 36^{\circ}\text{C}$ et l'humidité = 60 %. Ces larves sont privées de nourriture pour les différentes périodes de (00h, 12h, 24h, 48h et 4jours). Après; elles seront prélevées directement à partir des alvéoles ou elles seront pesées, photographiées et plongés rapidement dans le liquide fixateur (Bouin aqueux).

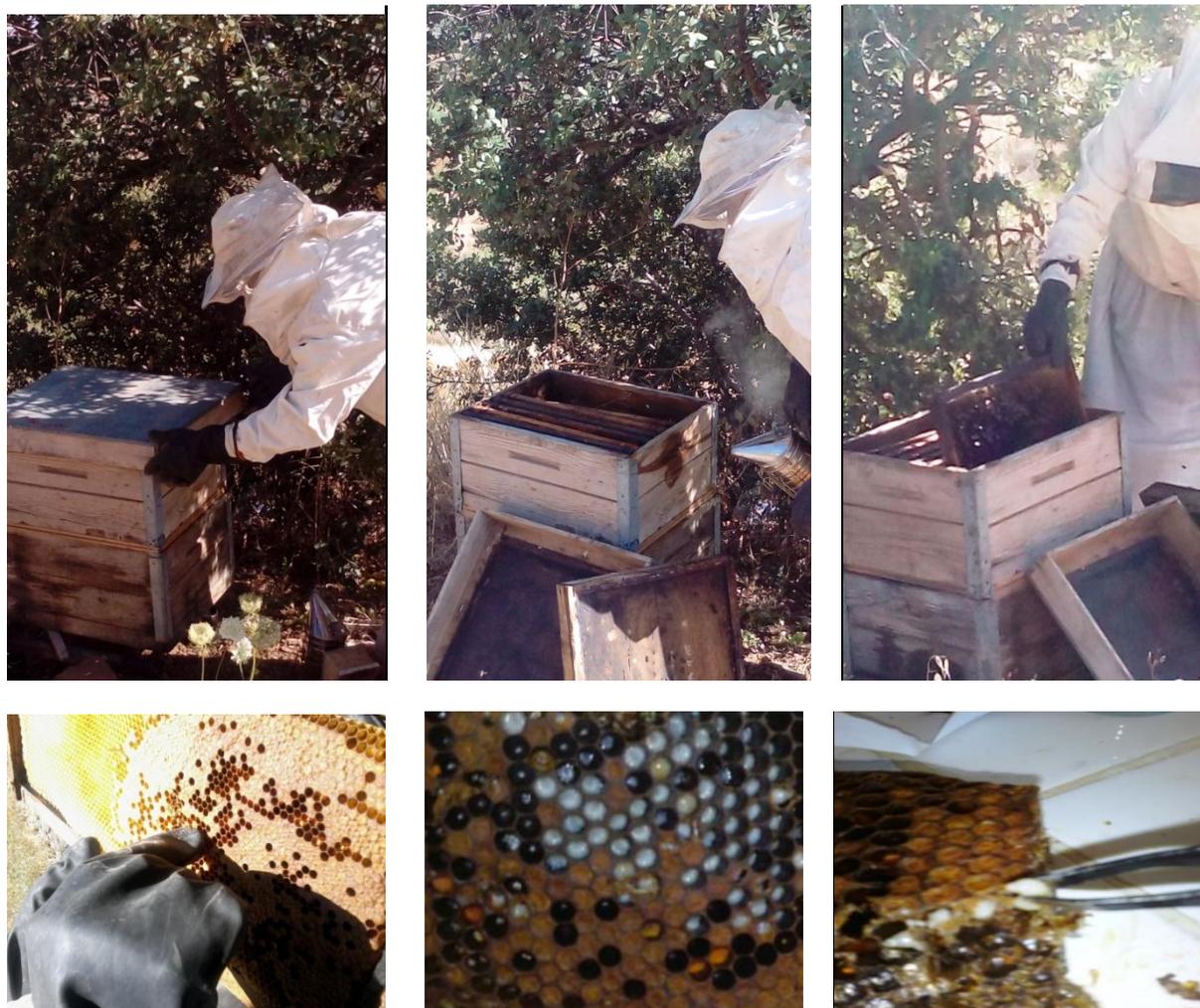


Figure 08 : Prélèvement des cadres de couvain.

Les larves sont divisées en deux lots :

- ✓ Un lot témoin récupéré immédiatement après que le couvain soit retiré de la ruche (t_0) ou ($N > 100$). Ce lot est considéré comme un lot de larves non affamées.
- ✓ Un lot expérimenté, après des périodes successives de privation de nourriture allant jusqu'à (t_{4j}) ou ($N < 100$) pour chaque période.

Le pesage des larves affamées (500 larves) se fait délicatement grâce à une pince souple et sur une balance de précision (fig. 09).

Des photographies sont tout de suite prises sous loupes binoculaires tout en respectant les mesures de calibration (fig. 09).



Figure 09 : Pesée des larves et prise de photographies sous la loupe binoculaire.

II. Méthodes :

II. 1. Technique histologique :

Elle représente une des techniques les plus classiques qui permet d'obtenir des coupes histologiques minces (Martoja *et al.*, 1967 ; Gabe., 1968). Elle comporte les étapes suivantes :

II. 1.1. Fixation histologique :

La fixation est une opération qui a pour but de stabiliser et de conserver l'échantillon dans un état le plus proche possible de l'état *in vivo*. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion dans un volume au moins dix fois plus importante que le volume de tissu à fixer. Le fixateur utilisé est le Bouin aqueux pendant 3 jours, il permet la préservation de toutes les structures cellulaires. Les larves sont ensuite lavées pendant 24 heures à l'eau courante afin d'éliminer l'excès de liquide fixateur (fig. 10a).

II. 1.2. Déshydratation :

Les larves sont plongées dans des bains d'alcools de degré croissant (50°, 70°, 90°, 100°) de 90 minutes chacun. Le but de cette étape est l'élimination de l'eau des tissus et la remplacer par l'éthanol (fig. 10b).

II. 1.3. Eclaircissement :

L'éclaircissement a pour but d'éliminer complètement les traces d'alcool, pour cela la larve est plongé dans deux bains de butanol de 90 minutes chacun (fig. 10b).

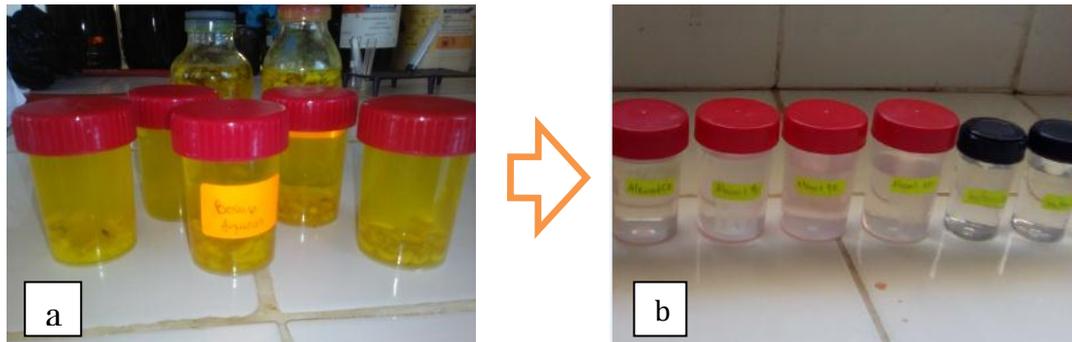


Figure 10: Fixation, déshydratation et éclaircissement des larves d'abeilles

II. 1.4. Inclusion :

Dans cette étape le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine. La larve est plongée dans la paraffine fondue en étuve réglée à la température de fusion (60°). Elle consiste à mettre les larves dans trois bains, un premier bain dans du butanol à part égale et qui est miscible à la paraffine, ensuite deux bains de paraffine pure pendant 6 heures chacun (fig. 11a).

II. 1.5. Mise en bloc :

Après la préparation des matériels utilisés pour la mise en bloc, la larve est prélevé du milieu d'inclusion à l'aide d'une pince chauffée puis immergée dans la paraffine liquide contenue dans des moules spéciaux (barres de Leuckart) placée sur une plaque en verre. Avant le durcissement de la paraffine, on place une étiquette du côté opposé à celui où s'effectuera la coupe, en indiquant le stade de la larve et son numéro (fig. 11b).

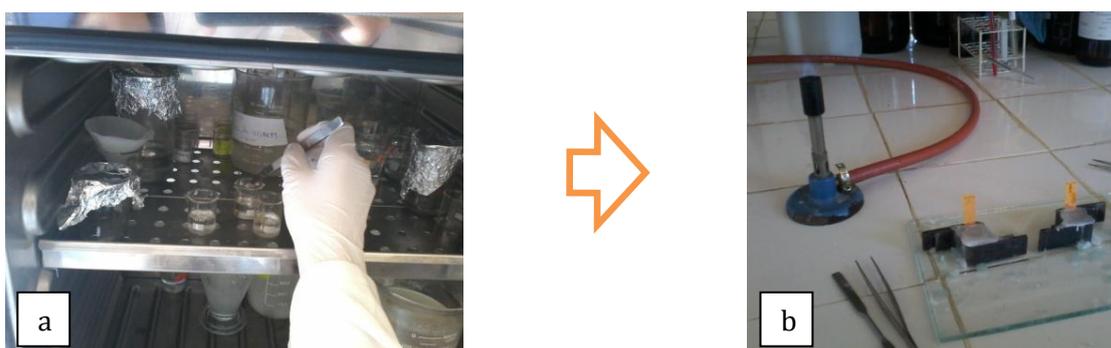


Figure 11 : Inclusion et la mise en bloc.

II. 1.6. Confection des coupes et étalement :

Les blocs solides de paraffine contenant les larves sont coupés grâce à un microtome de type *LAB-KITS*. Des coupes de $5\mu\text{m}$ d'épaisseur sont étalées, sur des lames en verre en

utilisant l'eau gélifiée à 0,4%. Elles sont ensuite séchées pour que le ruban adhère sur la surface des lames. Chaque lame porte le numéro et le niveau de la coupe (figure 12).



Figure 12: la microtomie et l'étalement des coupes histologiques.

II. 1.7. Coloration :

Les colorations entreprises dans le cadre de notre travail sont :

- ✓ Trichrome de Masson (coloration topographique).
- ✓ Hématoxyline éosine (coloration topographique).
- ✓ Acide Périodique de Schiff ou APS (coloration histochimique).

Avant la coloration, les larves sont débarrassées de leur milieu d'inclusion sur une plaque chauffante puis traité avec un solvant de la paraffine (cyclohexane). Les lames sont ensuite transférées dans l'alcool (Ethanol) de degrés décroissants: (100°, 90°, 70°, 50°) et enfin dans un bain d'eau distillée.

A. Coloration topographique

Les coupes ont été colorées par le trichrome de Masson dont le but est de visualiser les différents structures tissulaires. Les noyaux apparaissent colorés en noir, les cytoplasmes en rose et les fibres de collagènes en vert ou bien en bleu.

La deuxième coloration concerne l'hématoxyline-éosine. C'est une coloration topographique composée d'un colorant nucléaire et cytoplasmique (hématoxyline et l'éosine). L'hématoxyline est un colorant cationique, dit également basique, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés négativement dits basophiles. Il colore notamment les noyaux en bleu/violet, en se fixant sur les acides nucléiques. L'éosine est un colorant anionique, dit également acide, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés positivement dits

éosinophiles. Il colore le cytoplasme en rose et les autres éléments cellulaires basiques en rose/rouge plus ou moins vifs selon leur acidophilie.

B. Coloration histochimique

Cette coloration permet la mise en évidence des polysaccharides, des glycoprotéines et glycolipides qui se colorent en rose par l'acide périodique de Schiff (APS). La réaction APS se réalise en deux phases :

- ✓ La libération des différents groupements à fonction aldéhyde par l'acide périodique à 1%.
- ✓ La révélation de ces groupements par le réactif de Schiff à base de fuchsine basique.

II. 1.8. Déshydratation et montage :

La déshydratation s'effectue par le passage successif des lames dans des bains d'alcools croissants (50°, 70°, 90°, 100°) puis dans un bain de cyclohexane.

Le montage se fait classiquement entre lame et lamelle tout en utilisant l'histo-kit.

II. 1.9. Iconographie :

Les coupes sont observées au microscope photonique à différents grossissements puis analysées afin mettre en évidence des éventuelles altérations histologiques et/ou histochimiques.

II. 2. Etude morphométrique :

L'étude biométrique des larves d'abeille témoins et traitées est complétée par une étude morphométrique pour mieux exploiter nos résultats. Cette étude est réalisée à l'aide d'un outil informatique, ImageJ 1.47u de *National institutes of health. USA*

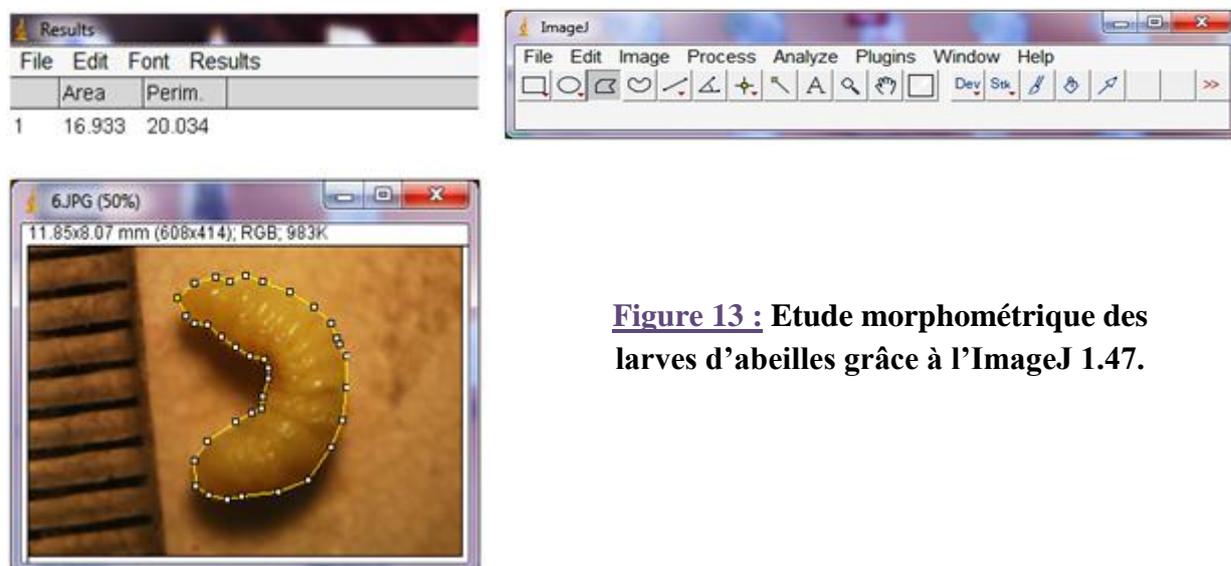


Figure 13 : Etude morphométrique des larves d'abeilles grâce à l'ImageJ 1.47.

En plus du paramètre poids, deux autres mesures ont pu être effectuées directement sur les iconographies récupérées, à savoir la taille et la surface (fig. 13)

Les coupes histologiques des larves d'abeille témoins et traitées ont aussi subi une étude morphométrique. Cette étude est réalisée à l'aide d'Axio Vision 4.8 de CARL ZEISS (fig. 14). Ces mesures ont été effectuées sur la base de quelques paramètres cellulaires des structures du tissu adipeux et des glandes salivaires :

- ✓ Les surfaces cellulaire et nucléaire des cellules adipeuses (trophocytes et oenocytes), leur ratio nucléo-cytoplasmique et leur nombre ont été effectués: 30 mesures chacune,
- ✓ Les surfaces cellulaire et nucléaire des cellules épithéliales des glandes salivaires, leur ratio nucléo-cytoplasmique ont été effectués: 30 mesures chacun,

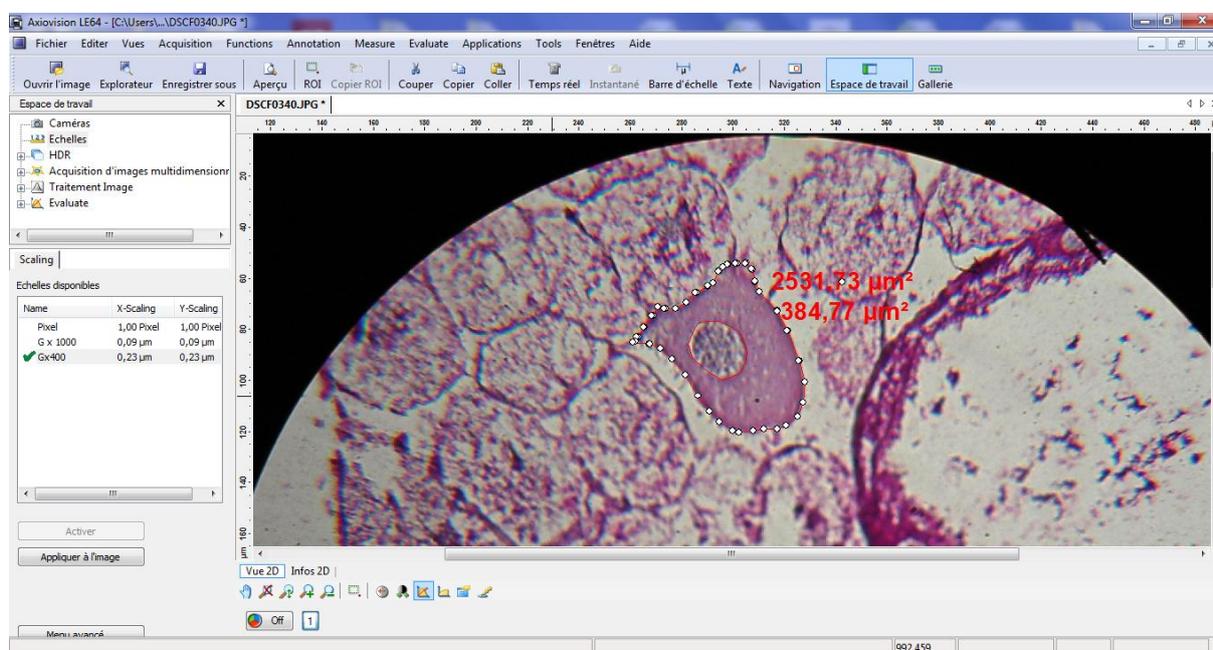


Figure 14: Etude morphométrique des cellules oenocytaires à l'aide d'un outil informatique, Axio Vision 4.8 de CARL ZEISS.

II.3. 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 témoin (larves non affamées $t=0$) et traité (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 chaque série d'analyse, la moyenne et l'écart type sont calculés. Les paramètres statistiques sont donnés par les relations suivantes :

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

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

- ✓ ni : désigne la fréquence.
- ✓ xi : 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

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

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

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

II. Résultats :

II.1. Morphométrie des larves :

Les larves récupérées sont pesées et mesurées sous loupe binoculaire. Les mesures sont faites grâce au logiciel ImageJ. 200 mesures sont faites sur des larves non affamées (témoins) et des larves affamées pendant 4 jours (traitées), respectivement (t_0 et t_{4j}).

Nous avons pris comme paramètres morphométriques, 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, la larve est positionnée sur le flan 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 est faite sur l'image de la larve (2D), elle exprime le volume de la larve réelle.

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

		Poids (mg)	Taille (mm)	Surface larvaire (mm ²)
Témoins (t_0)	Moyenne	0,044	9,763	18,731
	Ecart type	0,028	2,358	8,581
	Min	0,002	3,483	2,507
	Max	0,123	14,886	39,378
Traitées (t_{4j})	Moyenne	0,039	11,439	24,569
	Ecart type	0,025	2,511	11,217
	Min	0,008	4,581	3,055
	Max	0,103	15,592	51,245

Nous tentons de comparer en premier lieu la distribution de nos deux échantillons par le Test de Kolmogorov-Smirnov. Les résultats (annexe 1) montrent que :

N'ayant pas de différence significative entre le poids et la surface des larves témoins et expérimentées, nous considérons que nos deux échantillons sont distribués de la même manière, ce qui rendra la comparaison des différents paramètres plus crédible.

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

**Matrice de corrélation (Pearson) :
Témoins (t_0)**

Variabes	Poids	Taille	Surface
Poids	1	0,690	0,794
Taille		1	0,935
Surface			1

**Matrice de corrélation (Spearman) :
Témoins (t_{4j})**

Variabes	Poids	Taille	Surface
Poids	1	0,788	0,878
Taille		1	0,905
Surface			1

Il paraît que tous les paramètres morphométriques présentent un rapport positif entre eux-mêmes. Effectivement, chez les témoins, 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, 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 non traitées et expérimentées a son influence sur la croissance de la surface et de la taille à des proportions différentes.

Pour les larves non traitées le poids du dernier stade larvaire L5 ($P_{max}/P_{min} = 69$ fois) évolue d'une manière rapide par rapport aux larves affamées (13 fois). Cette évolution est peut être due à l'abondance de l'alimentation chez ces larves par contre les larves expérimentées utilisent leurs réserves nutritives pour leurs besoins énergétiques.

(X)	Cinétique de l'évolution de stades larvaires ($L5 = X.L1$)	
	Témoins (t_0)	Traitées (t_{4j})
Poids (gr)	69	13
Taille (mm)	4	3
Surface (mm^2)	16	17

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 22.

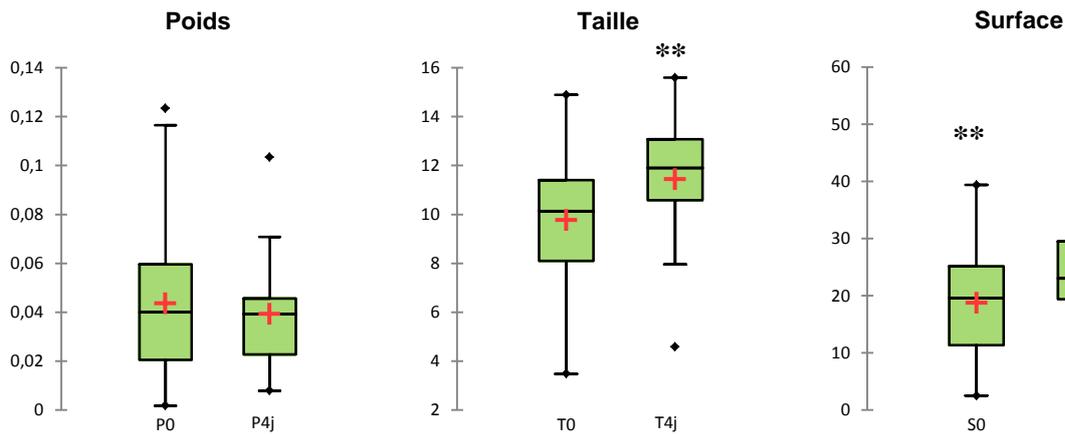


Figure 15 : Comparaison des différents paramètres morphométriques entre larves non affamées et affamées de 4jours.

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 ($P=0,564$) entre le poids des larves affamées et non affamées.
- ✓ Une augmentation significative ($p=0,002$) de 17,17 % de taille au profit des larves affamées.
- ✓ Une augmentation statistiquement significative ($p= 0,021$) de 31,17 % de la surface larvaire toujours au profit des larves traitées.

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 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).

II.2. Résultats histologiques :

La partie histologique s'intéresse à la comparaison entre la structure topographique et histochimique du tissu adipeux pariétal et péri-viscéral qui entoure les glandes salivaires et le

tractus digestif chez les larves d'abeille *Apis mellifera intermissa* non affamées et celles qui ont subi une période de faim allant jusqu'à 4 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).

II.2.1. Histologie des larves témoins :

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 toute 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

✓ Tissu adipeux

Il est formé pour sa majorité en adipocytes ou cellules dites trophocytaires. Ces cellules ont un aspect globulaire 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).

✓ Glandes salivaires

Il s'agit d'un épithélium glandulaire unistratifié, les cellules sont cubique reposant sur une lame basale. Leurs noyaux sont sphériques à chromatine condensée, le tout baigne dans un cytoplasme basophile. La lumière des glandes est visible avec des granulations dedans.

II.2.2. Histologie des larves expérimentées :

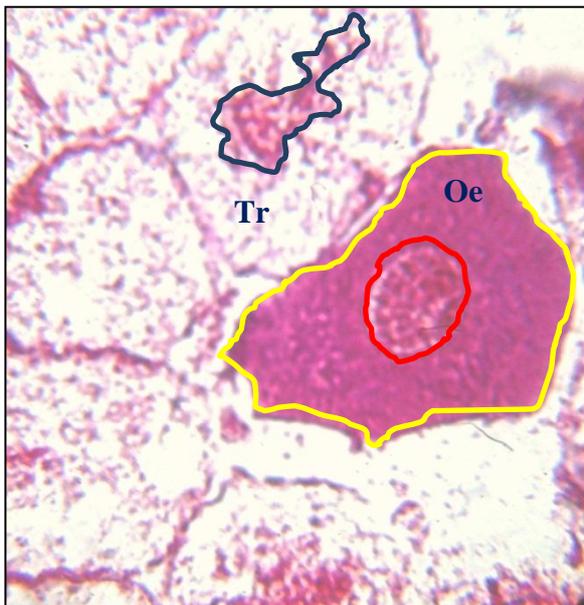
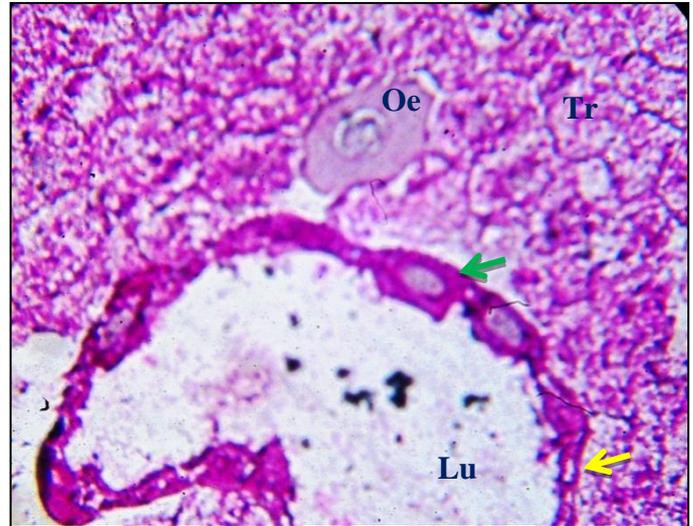
Au niveau tissulaire, la structure adipeuse est responsable du stockage et de la synthèse de la majorité de protéines et métabolites sécrété dans l'hémolymphe. Après la période de privation de nourriture de 4 jours, nous avons pu observer avec l'analyse histologique et histochimique les points suivant :

- ✓ Absence presque totale de la coloration verte, signe de présence des fibres de collagènes et cela dans tout le tissu adipeux,
- ✓ Réduction de la surface cytoplasmique chez les différents types de cellules (oenocytes et trophocytes).
- ✓ Dégranulation graduelle des trophocytes.
- ✓ Diminution de la taille des glandes salivaires avec réduction de la lumière et aplatissement de l'épithélium glandulaire.

Planche I : Coupes histologiques du Tissue adipeux de larves d'abeille domestique témoins**Figure 1 :** Coupe histologique de larve d'*Apis mellifera intermissa* non affamée.

Coloration à l'APS. G. 400.

Dans cette figure, on peut observer que le tissu adipeux est constitué d'un nombre important de trophocytes (Tr) entourant une cellule oenocyttaire (Oe). L'aspect unistratifié des cellules épithéliales (flèches vertes) de la glande salivaire, ainsi que la lame basale (flèches jaunes) avec des sécrétions dans le lumen (Lu).

**Figure 2 :** Coupe histologique de larve d'*Apis mellifera intermissa* non affamée.

Coloration au TM G. 1000.

Au Fort grossissement, nous pouvons observer les oenocytes 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)

N.B. :

Pour les mesures morphométriques, nous avons pris dans le cas des oenocytes la surface cellulaire (SC, contour jaune), la surface nucléaire (SN, contour rouge) et le rapport nucléocytoplasmique ($RNC = SN/SC - SN$)

Planche II : Coupes histologiques des glandes salivaires de larve d'abeille domestique témoins

Figure 1 : Coupe histologique de larve d'*Apis mellifera intermissa* non affamée.
Coloration au TM. G. 400.

Les glandes salivaires apparaissent en une seule couche de cellules épithéliales (flèche bleue), avec une lame basale (flèche jaune). Ces cellules tapissent une lumière optiquement vide (Lu). Il est cité que le tissu adipeux (TA) soit séparé de l'hémolymphe (He) par une lame basale (Wiviane *et al.*, 2014) qui n'apparaît pas vraiment dans cette photo.

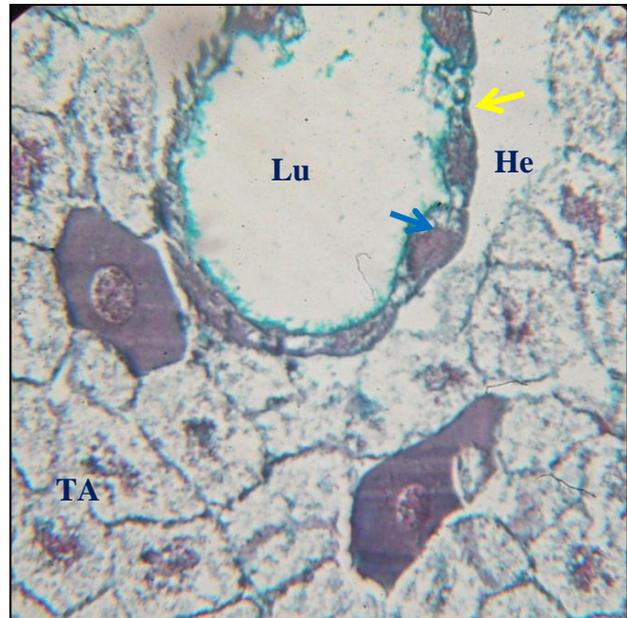


Figure 2 : Coupe histologique de larve d'*Apis mellifera intermissa* non affamée.
Coloration à l'APS. G. 1000.

Les cellules de la glande salivaire au fort grossissement ont une forme plus ou moins cubique avec un noyau central. Ces cellules ne sont pas vraiment jointives mais il existe beaucoup de jonctions entre-elles (flèches bleues). Le cytoplasme est acidophile sécrétant des acides gras libres tels que les phéromones dans le lumen qui apparaît granulé.



Planche III : Coupes histologiques du Tissu adipeux de larve d'abeille domestique affamée de 4 jours

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

A faible grossissement, nous pouvons remarquer le tégument (cuticule (flèches jaunes)), 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)

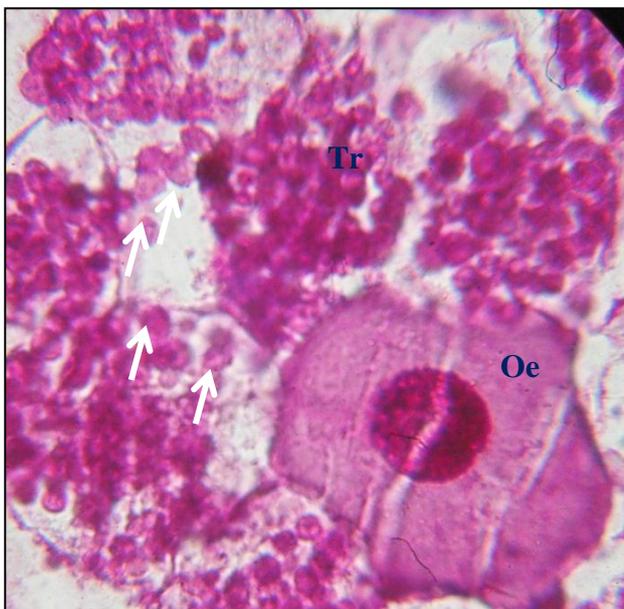
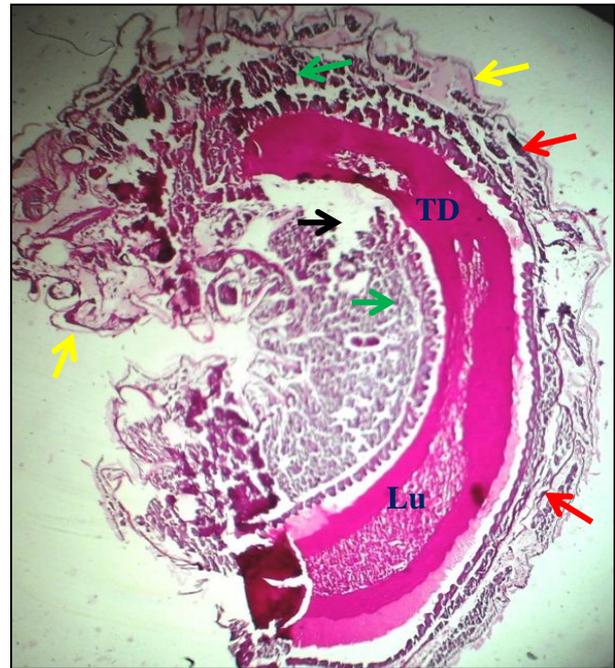


Figure 2 : Coupe histologique de larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4 jours. Coloration à l'APS. G. 1000.

Au fort grossissement, on peut voir le nombre réduit des oenocytes (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)

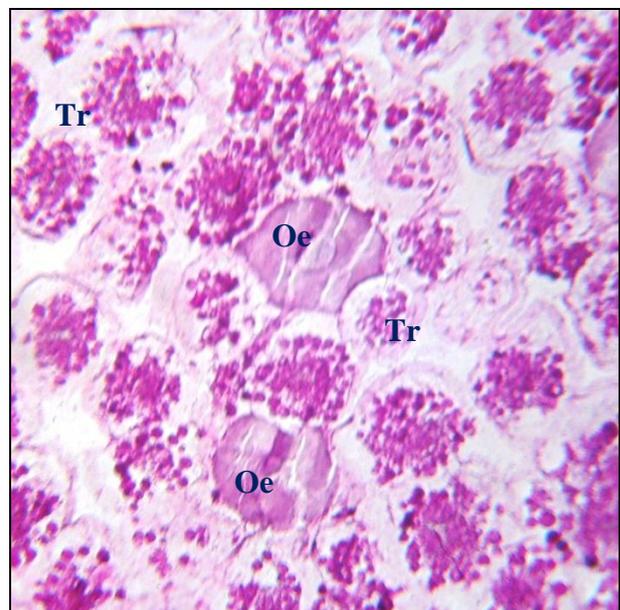


Figure 3 : Coupe histologique de larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4 jours. Coloration à l'HE. G. 400.

Planche IV : Coupes histologiques des glandes salivaires de larves d'abeille domestique affamée de 4 jours

Figure 1 : Coupe histologique de larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 4 jours. Coloration à l'HE. G. 400.

Dans cette figure nous pouvons bien distinguer les cellules épithéliales de la glande salivaire où les noyaux (flèches bleues) prennent une position basale, avec réduction de la taille de ces cellules

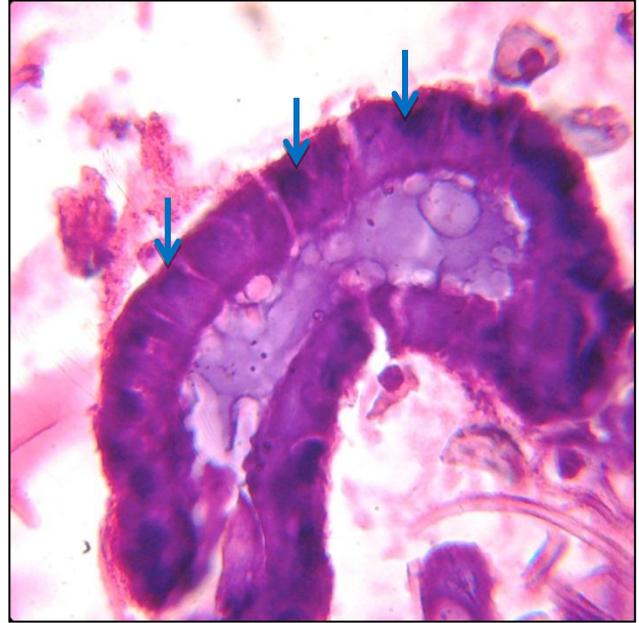
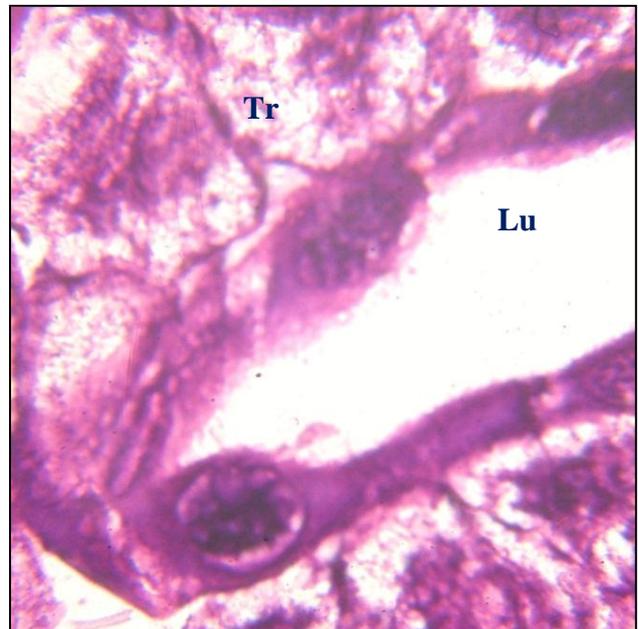


Figure 2 : Coupe histologique de larve d'*Apis mellifera intermissa* affamée de 54 jours. Coloration à l'HE. G. 1000.

Au plus fort grossissement les cellules glandulaires s'aplatissent avec réduction de la surface cytoplasmique. Il y'a aussi dégranulation des trophocytes (Tr) et épuisement des réserves énergétiques. La lumière (Lu) glandulaire apparait optiquement vide.



II.3. Morphométrie des coupes histologiques :

Les coupes histologiques nous ont permis de faire des mesures sur deux structures (le tissu adipeux et les cellules épithéliales des glandes salivaires).

II.3.1. Morphométrie du tissu adipeux :

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

a) Morphométrie des Oenocytes :

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

Tableau V : La morphométrie de certains paramètres nucléaires des cellules oenocytaires des larves témoins (t_0) et expérimentées (t_{4j})

		La surface de la cellule (μm^2)	Surface nucléaire (μm^2)	Le rapport nucléo-cytoplasmique
Témoins	Moyenne	2448,031	452,568	0.185
	Ecart type	604,803	403,451	0.052
	Min	1531,400	129,280	0.08
	Max	3767,070	2483,000	0.286
Traités	Moyenne	1595,599	342,496	0.283
	Ecart type	377,860	103,102	0.092
	Min	1096,570	130,630	0.104
	Max	2669,430	548,300	0.459

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 par rapport aux larves contrôles :

- ✓ Une diminution hautement significative ($P < 0,0001$) de 53,42 % de la surface des cellules ($2448,03 \pm 604,8 \mu\text{m}^2$ vs $1595,6 \pm 377,86 \mu\text{m}^2$),
- ✓ Une diminution non significative ($P > 0,05$) de 10,38 % de la surface nucléaire ($378,078 \pm 127,713 \mu\text{m}^2$ vs $342,496 \pm 103,102 \mu\text{m}^2$).

- ✓ Une augmentation très significative ($p < 0,05$) de 52,9 % du ratio nucléo-cytoplasmique ($0,185 \pm 0,052$ vs $0,283 \pm 0,092$)

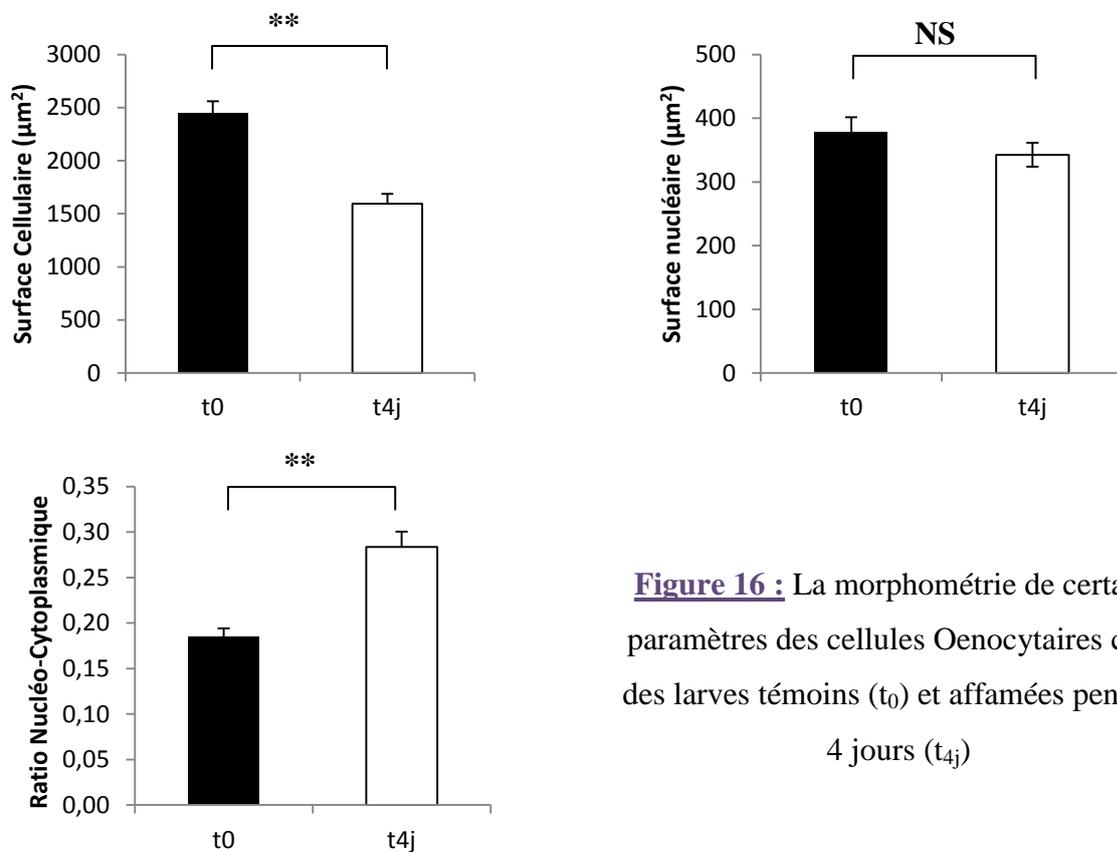


Figure 16 : La morphométrie de certains paramètres des cellules Oenocytaires chez des larves témoins (t_0) et affamées pendant 4 jours (t_{4j})

Notons qu'après les périodes de faim, les cellules oenocytaires ont subi une diminution dans leur taille sans que leurs noyaux ne changent. Et si le rapport nucléo-cytoplasmique augmente cela veut dire que la surface cytoplasmique a diminué. Il est connu que les oenocytes sont impliqués dans la production et le stockage des lipides et les lipoprotéines (abondance des REL et des vacuoles de stockage). 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).

b) Morphométrie des Trophocytes

La mesure d'une trentaine de cellules est faite à partir des lots témoin et traité. 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 (inter-groupes).

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

Tableau VI : La morphométrie de certains paramètres nucléaires des cellules trophocytaires des larves témoins (t_0) et expérimentées (t_{4j})

		La surface de la cellule (μm^2)	Surface nucléaire (μm^2)	Le rapport nucléo-cytoplasmique
Témoins	Moyenne	2151,399	371,665	0.18
	Ecart type	581,043	106,530	0.04
	Min	1347,600	153,250	0.11
	Max	3581,370	562,590	0.30
Traitées	Moyenne	1285,217	355,408	0.27
	Ecart type	423,216	162,186	0.16
	Min	743,810	146,910	0.37
	Max	2682,970	953,960	0.06

- ✓ Une diminution très significative ($P < 0,0001$) de 67,39 % de la surface des cellules ($2151,399 \pm 581,043 \mu\text{m}^2$ vs $1285,22 \pm 423,216 \mu\text{m}^2$)
- ✓ Une diminution non significative ($P > 0,05$) de 4,57 % de la surface nucléaire ($371,665 \pm 106,530 \mu\text{m}^2$ vs $355,408 \pm 162,186 \mu\text{m}^2$).
- ✓ Une augmentation hautement significative ($p < 0,05$) de 76,32 % du ratio nucléo-cytoplasmique ($0,216 \pm 0,068$ vs $0,382 \pm 0,109$).

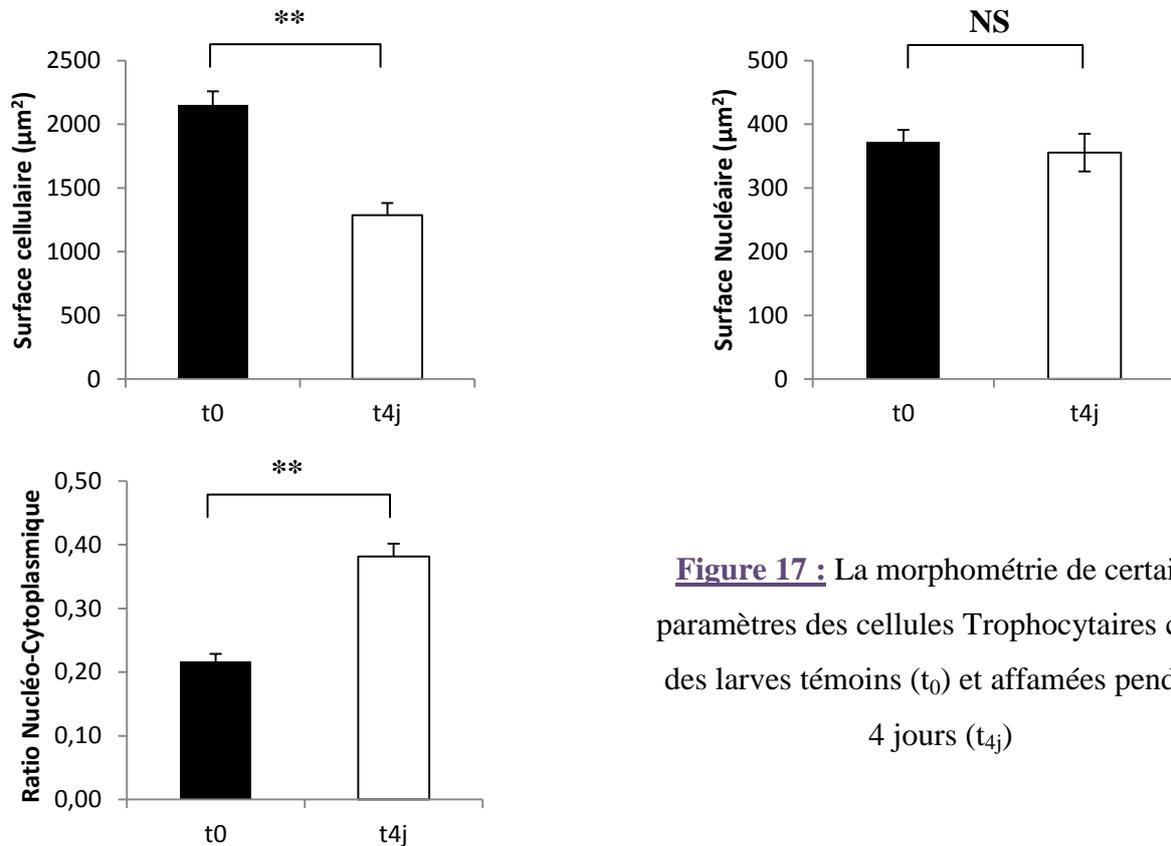


Figure 17 : La morphométrie de certains paramètres des cellules Trophocytaires chez des larves témoins (t_0) et affamées pendant 4 jours (t_{4j})

Mêmes observations sont faites sur les trophocytes, avec diminution dans la taille cellulaire et augmentation du ratio nucléo-cytoplasmique sans qu'il y ait de changement dans la taille des noyaux. Parmi le rôle des trophocytes, nous pouvons citer l'entreposage des gouttelettes lipidiques dans le cytoplasme, 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 interrompue (ralentissement).

c) Rapport trophocytes-oenocytes

Les cellules oenocytaires sont considérées comme des cellules associées au tissu adipeux, 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 tissu adipeux (Tableau VII).

Tableau VII : Le rapport entre les cellules oenocytaires et les cellules trophocytaires chez les larves témoins et les larves affamées de 4 jours

Type de cellule	Nombre de cellules	
	Témoins (t ₀)	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 témoins et les larves affamées a bien **doublé**.

II.4.2. Morphométrie des cellules épithéliales des glandes salivaires :

Pour cette partie, nous espérons faire le lien entre l'activité des glandes salivaires et le comportement des larves durant les différentes étapes de l'expérience témoins (t₀, t_{24h}, t_{36h}, t_{48h}, t_{4j}). La mesure d'une trentaine de cellules est faite à partir des lots témoin et traité. Les paramètres surface cellulaire, surface nucléaire et le ratio nucléo-cytoplasmique (Tableau VIII) sont traités statistiquement afin d'établir la relation entre eux.

Tableau VIII : La morphométrie de certains paramètres des cellules épithéliales des glandes salivaires des larves témoins (t₀) et expérimentées (t_{24h}, t_{36h}, t_{48h}, t_{4j})

La surface de la cellule (µm ²)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Témoins t ₀	1220,890	2749,170	1776,422	351,716
Traitées t _{24h}	1218,460	5402,360	1986,395	964,433
Traitées t _{36h}	420,780	2033,090	1287,682	400,579
Traitées t _{48h}	689,030	4886,930	1653,386	978,667
Traitées t _{4j}	362,110	1199,890	736,271	213,978
Surface nucléaire (µm ²)				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Témoins t ₀	202,780	455,890	318,878	59,259
Traitées t _{24h}	170,930	1169,750	393,332	229,822
Traitées t _{36h}	85,760	1044,640	250,866	176,381
Traitées t _{48h}	96,920	1628,460	393,552	318,690
Traitées t _{4j}	67,780	292,490	173,886	61,999
Le rapport nucléo-cytoplasmique				
Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Témoins t ₀	0,080	0,358	0,232	0,069
Traitées t _{24h}	0,128	0,446	0,247	0,075
Traitées t _{36h}	0,061	3,320	0,338	0,577
Traitées t _{48h}	0,139	0,880	0,328	0,181
Traitées t _{4j}	0,170	0,484	0,312	0,082

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

- ✓ Une diminution hautement significative ($P < 0,0001$) de 67,39 % de la surface des cellules ($2151,399 \pm 581,043 \mu\text{m}^2$ vs $1285,22 \pm 423,216 \mu\text{m}^2$)
- ✓ Une diminution hautement significative ($P > 0,05$) de 4,57 % de la surface nucléaire ($371,665 \pm 106,530 \mu\text{m}^2$ vs $355,408 \pm 162,186 \mu\text{m}^2$).
- ✓ Une augmentation très significative ($p < 0,05$) de 76,32 % du ratio nucléocytoplasmique ($0,216 \pm 0,068$ vs $0,382 \pm 0,109$).

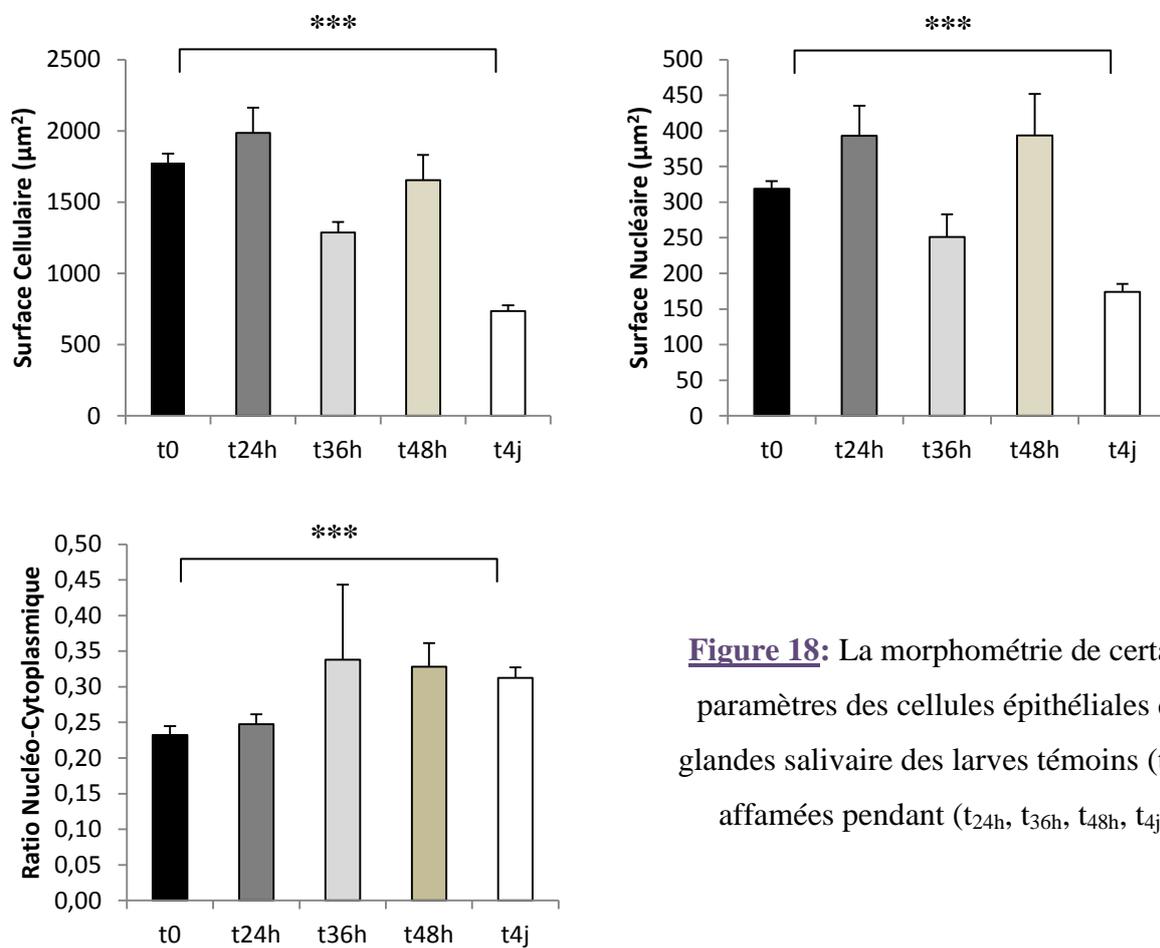


Figure 18: La morphométrie de certains paramètres des cellules épithéliales des glandes salivaires des larves témoins (t_0) et affamées pendant (t_{24h} , t_{36h} , t_{48h} , t_{4j}).

Nos observations montrent que la taille des cellules épithéliales au niveau des glandes salivaires diminue au fur et à mesure que la période de faim s'allonge. Cette diminution concerne aussi bien la surface cellulaire que la surface nucléaire, par contre le rapport nucléocytoplasmique augmente. Et si le RNC augmente avec réduction du noyau, cela entraîne automatiquement la diminution accrue de la surface cytoplasmique. Pour ce qui est du rôle des glandes salivaires chez les larves d'abeilles, il est cité qu'elles interviennent dans la sécrétion de

certaines phéromones qui inciteraient les ouvrières à adopter le comportement adéquat selon la situation et la quantité émise par la larve. Cette diminution dans la taille des différents compartiments cellulaires est le signe d'un arrêt ou réduction de la sécrétion de ces phéromones.

La production phéromonale diminue d'une façon accrue chez les larves d'abeille affamées pendant quatre jours.



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 jours. Des coupes histologiques ont été faites avec prise de mesures morpho-métriques qui ciblent essentiellement les trophocytes et les oenocytes.

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 (témoins et traitées). Il se trouve que l'évolution pondérale des larves affamées n'est pas la même que les larves non affamées, le poids du dernier stade larvaire (L5) est 69 fois plus grand que le premier stade (L1). Chez les larves affamées le poids 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. Mues et 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 J., 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 et Bruce., 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 thermophotoseason, 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 extra-cellulaire pendant la période larvaire :

- ✓ L'absence de la coloration topographique propre au collagène est due 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. L., 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 oenocytes) au niveau du tissu adipeux. Les coupes histologiques montrent clairement l'existence des autres structures vitales telles que le tractus intestinal, les glandes salivaires et le tégument.

Selon divers auteurs, le tissu adipeux des insectes a une origine mésodermique, 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 peri-visceral, qui est formée par des lobes dans l'hémocoèle. 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 oenocytes dispersées dans le FB (**Martins et Ramalho-Ortigao., 2012**).

La cellule oenocytaire 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 morpho-métriques effectuées sur ces cellules, à partir de deux lots de larves (témoins et affamées pendant 4 jours) ont révélé qu'après les périodes de faim, les cellules oenocytaires et trophocytaires ont subi une diminution dans leur taille sans que leurs noyaux ne changent. Le rapport nucléo-cytoplasmique 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 témoins et les larves affamées 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 oxydatif, 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.*, 2006**).

La morphométrie des glandes salivaires a dénoté les mêmes caractéristiques de la littérature, à savoir, que ces glandes vont en paires, et que leur structure est légèrement courbée, elles longent la paroi dorsale du corps larvaire. En outre, l'épithélium glandulaire est unistratifié avec des cellules cubiques à gros noyaux sphériques et à chromatine condensée dans un cytoplasme basophile (**Richardi *et al.*, 2015**).

Nos observations montrent que la taille des cellules épithéliales des glandes salivaires diminue au fur et à mesure que la période de faim s'allonge. La diminution de la taille des différents compartiments cellulaires est le signe **d'un arrêt ou réduction** de la sécrétion phéromonale attribuée à ces glandes (**Le Conte *et al.*, 2006**).

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 4 jours, afin d'observer le comportement de certaines cellules adipeuses. Des coupes histologiques ont été faites avec prise de mesures morpho-métriques qui ciblent essentiellement les trophocytes et les oenocytes.

Pour ce faire, nous avons utilisés des approches histologique, histochimique voire morpho-métrique. Nos résultats montrent, donc, que :

- ✓ Tous les paramètres externes (Poids, taille, surface) présentent un rapport positif entre eux, avec une évolution pondérale des larves affamées plus lente ($L_5=13 \times L_1$) que celle des larves non affamées ($L_5=69 \times L_1$). **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 oenocytes) au niveau du tissu adipeux avec négativité des colorations topographiques (Trichrome de Masson) sans doute due à la période de fixation non encore bien établie. Chez le lot traité, 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 diminution de l'activité cellulaire** est aussi observée au niveau des **glandes salivaires**, qui s'accroît au fur et à mesure que la période de faim s'allonge, synonyme **d'une réduction ou d'un arrêt** de la sécrétion phéromonale.

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

- Confection de nouvelles coupes histologiques avec les autres périodes de développement de l'abeille, à savoir ; la nymphe et l'imago ;
- Mesure des mêmes paramètres morpho-métriques dans des conditions à générer un stress oxydatif.
- Utilisation d'autres colorations à révélation lipidique.



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

Adjimi S. 2011. Annahla el-aya elmodjiza les secrets de l'apiculture et des produits de la ruche .1^{er} edition Elaourassia .Alger .p128.

Alaux C; Maisonnasse A; Le Conte Y., 2010b. Pheromones in a Superorganism: From Gene to Social Regulation. *Vitamins & Hormones* 83, 401-423.

Albouy V ; Le Conte Y., 2014. Nos abeilles en péril. Ed Quae. Paris. p192.

Albouy V. 2012. Des abeilles au jardin : petit traité d'apiculture atypique a l'usage des amis des abeilles .Ed édisud .paris .p147.

Amdam GV, Rueppell O, Fondrk MK, Page RE, Nelson CM .2009. The nurse's load: Early-life exposure to brood-rearing affects behavior and lifespan in honey bees (*Apis mellifera*). *Exp Gerontol* .44: 467–471.

Amdam GV., 2011. Social context, stress, and plasticity of aging. *Aging Cell* 10, 18–27.

Amdam GV; Norberg K; Hagen A; Omholt SW., 2003. Social exploitation of vitellogenin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 1799-1802.

Ament SA; Wang Y; Robinson GE., 2010. Nutritional regulation of division of labor in honey bees: toward a systems biology perspective. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine* 5,556-576.

Arias MC et shepard WS., 2006. corrigendum to : phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera: Apina: Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data (*Molec . phylogenet .Evol.*, 2005, 37 (1) 25-35.*Molec . phylogenet . Evol .* 40 (1) 315-315 .

Arrese EL, Soulages JL.2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu Rev. Entomol.* 55:207-225.

B

Baer B., 2005. Sexual selection in *Apis*bees. *Apidologie.* 36. pp187-200.

Barbier J et Lederer E., 1960. Structure chimique de la substance royale de la reine d'abeille (*Apis mellifera* L.). *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Serie III Sciences de la Vie* 251, 1131-1135.

Barchuk AR ; Cristino AS ; Kucharski R ; Costa LF ; Simões Z LP ; Maleszka R., 2007.

"molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honeybee *Apis mellifera*." *bmc developmental biology* 7(1): 70.

Bienenforsch Z., 1966. Determination de la reine et ouvrière de l'abeille. 8. pp 296-322.

Biri M., 1989. Le grand livre des abeilles. Cours d'apiculture moderne. Ed vecchi. Paris. P20.

Biri M., 2002. Le grand livre des abeilles - court d'apiculture moderne. Ed de vecchi. paris .p260.

Biri M., 2011. Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture (7ème édition). Paris: DE VECCHI. P298.

Boch R; Shearer DA; Stone BC., 1962. Identification of Iso-Amyl Acetate as an Active Component in the Sting Pheromone of the Honey Bee. *Nature* 195, 1018-1020.

Brillet C; Robinson GE; Bues R; Le Conte Y., 2002. Racial differences in division of labor in colonies of the honey bee (*Apis mellifera*). *Ethology* 108, 115-126.

Bruneau.E ; Barbancon J ; Bonnafe P ; Domerego R ; Fert G ; Le Conte Y ; Ratia G ;Reeb C ; Vaissiere B., 2006. Le traité Rustica de l'apiculture. ED Rustica. P40-48.

Brutscher LM ; Baer B ; Niño EL., 2019. Facteurs de copulation putatifs de drone régulant l'abeille domestique (*Apismellifera*) Reproduction et santé de la reine. *J Insectes*: 10. pp1-18 Bucharest, Apimondia. pp325–362.

Butler CG; Callow RK; Johnston NC., 1962. The Isolation and Synthesis of Queen Substance, 9-oxodec-trans-2-enoic Acid, a Honeybee Pheromone. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences* 155, 417-432.

C

Canavoso LE; Jouni ZE; Karnas KJ; Pennington JE; Wells MA., 2001. Fat metabolism in insects. *Annu Rev. Nutr.* 21: 23-46.

Cardoso AF; Cres RL; Moura AS; de Almeida F; Bijovsky AT., 2010. *Culex quinquefasciatus* vitellogenesis: morphological and biochemical aspects. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* .105:254-262.

Charpentier G., 2013. Thèse de doctorat : Étude des effets létaux et sublétaux d'une intoxication au thymol sur ledéveloppement et l'immunité des larves d'*Apis mellifera* élevéin vitro .Université Toulouse III Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).

Collins A M et Pettis, J S., 2013. Correlation of queen size and spermathecal contents and

effects of miticide exposure during development. *Apidologie*. Vol. 44, n° 3, pp. 351–356.colonies. *Am. Nat.* 160, S160–S172. doi:10.1086/342901.

Cruz-Landim C., 1983. O corpo gorduroso da larva de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Apidae: Meliponinae). *Naturalia* .8 : 7–23.

D

Da Cruz Landim C., 2008. *Abelhas: Morfologia e Funcao de Sistemas*. SciELO Editora UNESP., Sao Paulo.

Dalal M Aljedani., 2018. Comparing the histological structure of the fat body and mapighien tubules in different phases of honeybees, *Apis mellifera jemenatica* (Hymenoptera: Apidae).*J.Entomol.*, 15: 114-124.

Darrouzet E ; Corbara B., 2016 . *Les insectes sociaux*. Ed Quae .paris .p168.

Diego EV et Walter MF., 2020. Differences in pre-imaginal development of the honey bee *Apis mellifera* between in vitro and in-hive contexts. *J Apidology*.

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. Université de Neuchâtel. P152.

Dornhaus A; Klügl F; Oechslein C et al., 2006. Benefits of recruitment in honey bees effects of ecology and colony size in an individual-based model. *Behavioral Ecology*, 17(3) :336–344.

E

Ellis J ;Lawrence JC ; Koeniger N ; Koeniger G., 2015. *Mating Biology of Honey Bees (Apis mellifera)*; Wicwas Press: Kalamazoo, MI, USA; ISBN 978-1878075383. *Entomologist*96. p784–792.

F

Farris SM ; Robinson GE ;Davis RL ; Fahrbach SE., 1999. Larval and pupal development of the mushroom bodies in the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Comp. Neurol.* 414 (1). pp97-113.

Fayet A., 2013. Le genre *Apis*. Fich-tech. p17-18.

Ferrandon D; Imler JL; Hetru C; Hoffmann JA., 2007. The *Drosophila* systemic immune response: sensing and signalling during bacterial and fungal infections. *Nat. Rev. Immunol.* 7:862–74.

Fischer P et Grozinger CM., 2008. Pheromonal regulation of starvation resistance in honey bee workers (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften* 95, 723-729.

Free JB., 1987. Pheromones of social bees Chapman and Hall, London UK.

geschichtlichen und geographischen Verbreitung der Honigbiene (*Apis mellifica* L.). Ihrer Varietäten und der übrigen *Apis*-Arten. *Veroff. Zool. Museum Berlin.* p117-201.

G

Gallai N; Salles JM; Settele J; Vaissiere BE., 2008. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econom.* 68: 810-821.

Girdwoyn M., 1876. Anatomie et physiologie de l'abeille. ED ROTHSCILD. PARIS. P9.

Groh.C; Tautz.J; Rossler.W., 2004. synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood temperature control during pupal development *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 101(12), 4268-4273.

H

Hamet M., 1859. Cours pratique d'apiculture. Paris. P21.

Harvell CD., 1994. The evolution of polymorphism in colonial invertebrates and social insects. *Q. Rev. Biol.* 69, 155–185.

Hauerland NH et Shirk PD., 1995. Regional and functional differentiation in the insect fat body. *Annu. Rev. Entomol.* 40:121-145.

Hoover SER; Keeling CI; Winston ML; Slessor KN.; 2003. The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. *Naturwissenschaften* 90, 477-480.

Hoshizaki DK., 2005. Fat-cell development. In *Complete Molecular Insect Science*, ed. LI Gilbert, K Iatrou, S Gill, 2:315–45. Berlin: Elsevier.

Hunt GJ; Wood KV; Guzman-Novoa E et al., 2003. Discovery of 3-Methyl-2-Buten-1-Yl Acetate, a New Alarm Component in the Sting Apparatus of Africanized Honeybees. *Journal of Chemical Ecology* 29, 453-463.

Huryn Alexander D et Bruce Wallace J., 2000. Life history and production of stream insects. *Annu. Rev. Entomol.* 45:83-110 .

J

Jay SC., 1964. The Cocoon of the Honey Bee, *Apis mellifera* L. *The Canadian Entomologist* 96. pp784–792.

Johnson BR ., 2008a. Global information sampling in the honey bee. *Naturwissenschaften* 95,523-530.

Johnson BR., 2008b. Within-nest temporal polyethism in the honey bee. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62, 777-784.

K

Kaatz HH; Hildebrandt H; Engels W., 1992. Primer effect of queen pheromone on juvenile hormone biosynthesis in adult worker honey bees. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 162, 588-592.

Kamakura M., 2011. Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature* 473. pp478–483.

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

Keeley LL., 1985. Biochemistry and physiology of the insect fat body. In *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, ed. GA Kerkut, LI Gilbert, 3:211–28. New York: Pergamon.

Keeling CI et Slessor KN., 2005. A scientific note on the aliphatic esters in queen honey bees. *Apidologie* 36, 559–560.

Keeling CI; Slessor KN; Higo HA; Winston ML., 2003. New components of the honey bee (*Apis mellifera* L.) queen retinue pheromone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 4486-4491.

Killani M., 1999. Biology of the honeybee. *Bee Disease Diagnosis*. Vol.24.n°25.P 9-24.

Koeniger N et Veith HJ., 1983a. Glyceryl-1,2-dioleate-3-palmitate, a brood pheromone of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Experientia* 39, 1051-1052.

Koeniger N et Veith HJ., 1983b. Identification of triglyceride (glyceryl-1,2-dioleate-3-palmitate) as a brood pheromone of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 14, 204-210.

L

- Law JH et Wells MA., 1989.** Insects as biochemical models. *J. Biol. Chem.* 264:16335–38
- 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.*93:237–41.
- Le Conte Y ; Arnold G ; Trouiller, J ; Masson C., 1990.** Identification of a brood pheromone in honeybees. *Naturwissenschaften* 77, 334–336.
- Le Conte Y; Sreng L; Poitout SH., 1995a.** Brood pheromone can modulate the feeding behavior of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 88, 798-804.
- Le Conte Y; Sreng L; Trouiller J., 1994.** The recognition of larvae by worker honeybees. *Naturwissenschaften* 81, 462-465.
- Ledoux MN; Winston ML; Higo H et al., 2001.** Queen and pheromonal factors influencing comb construction by simulated honey bee (*Apis mellifera* L.) swarms. *Insectes Sociaux* 48, 14-20.
- Leimar O ;Hartfelder K ; Laubichler MD ; Page JR., 2012.** Development and evolution of caste dimorphism in honeybees – a modeling approach. *J Ecology and Evolution* 2012; 2(12): 3098–3109.
- Leoncini I; Le Conte Y; Costagliola G; Plettner E; Toth AL; Wang M; Huang Z; Bécard J; Crauser D; Slessor KN; Robinson GE., 2004.** Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 17559–17564.
- Linksvayer TA ; Kaftanoglu O ; Akyol E . Blatch S ; Amdam GV ; Page RE., 2011.** Larval and nurse worker control of developmental plasticity and the evolution of honey bee queen-worker dimorphism. *J. Evol. Biol.* 24:1939–1948.
- Lowe T; Garwood RJ; Simonsen TG; Bradley RS; Withers PJ., 2013.** Métamorphose révélée: imagerie tridimensionnelle Time-lapse à l'intérieur d'une chrysalide vivante. *J. Royal Soc. Interface*, vol. 10, n ° 84. 10.1098 / rsif.2013.0304.
- 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.* 15: 321-32.

M

Maisonnasse A ; Lenoir JC ; Beslay D ; Crauser D ; Le Conte Y., 2010. E-beta-ocimene, a volatile brood pheromone involved in social regulation in the honey bee colony (*Apis mellifera*). E-b-Ocimene and Bee Regulation. 5 :1-7.

Maisonnasse A ; Lenoir JC ; Costagliola G ; Beslay D ; Choteau F., 2009. A scientific note on E-b-ocimene, a new volatile primer pheromone that inhibits worker ovary development in honey bees. *Apidologie* .40: 562–564.

Martins GF ; JM Ramalho-Ortigao ; NF Lobo ; DW Severson ; MA McDowell ; PFP Pimenta., 2011. Aperçu du transcriptome des ovocytes des pupes d'*Aedes aegypti* . *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 106: 308-315.

Martins GF; Serrão JE; Ramalho-Ortigão M; Pimenta PFP., 2011a. A comparative study of fat body morphology in five mosquito species. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 106: 742-747.

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.* 74:1032-1039.

Martins GF; Ramalho-Ortigão JM., 2012. Oenocytes in insects. *Invertebr. Surv. J.* 9: 139-152.

Martoja R et Martoja P., 1967. Initiation aux techniques de l'histologie animal. 2^{ème} Ed Masson. pp. 296-300.

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 München, Berlin pp:86–87.

Materlinck., 1901. LA VIE DES ABEILLES. Ed Eugène Fasquelle. Paris. P74.

Michel L., 2010. Les Insectes et les hommes.ebook.3eme édition.p420.

Mohammedi A; Crauser D; Paris A; Le Conte Y., 1996. Effect of a brood pheromone on honeybee hypopharyngeal glands. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Serie III Sciences de la Vie* 319, 769-772.

Morse RA et Boch R., 1971. Pheromone Concert in Swarming Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America* 64, 1414-1417.

Myser WC., 1954.The larval and pupal development of the honeybee *Apis mellifera* Linnaeus. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 47 (4), 683-711.

N

Nelson CM; Ihle KE; Fondrk MK; Page RE, Jr; Amdam GV., 2007. The gene vitellogenin has multiple coordinating effects on social organization. *PLoS Biology* 5, 673-677.

Nicholas L., Calderone W., 1998. Proximate mechanisms of age polyethism in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 29, 127–158.

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

Nilsen KA; Ihle KE; Frederick K; Fondrk MK; Smedal B; Hartfelder K; GV Amdam., 2011. Les gènes peptidiques de type insuline dans le corps gras des abeilles mellifères répondent différemment à la manipulation de la physiologie comportementale sociale. *J. Exp. Biol.*, 214: 1488-1497.

P

Page RE et Amdam GV., 2007. The making of a social insect: developmental architectures of social design. *BioEssays* 29, 334-343.

Pain J., 1961. Sur la phéromone des reines d'abeilles et ses effets physiologiques. *Annales de l'Abeille* 4, 73-152.

Pankiw T; Huang ZY; Winston ML; Robinson GE., 1998a. Queen mandibular gland pheromone influences worker honey bee (*Apis mellifera* L.) foraging ontogeny and juvenile hormone titers. *Journal of Insect Physiology* 44, 685-692.

Peters L; Zhu-Salzman K; Pankiw T., 2010. Effect of primer pheromones and pollen diet on the food producing glands of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology* 56, 132-137.

Pickett JA; Williams IH; Martin AP., 1982. (Z)-11-eicosen-1-ol, an important new pheromonal component from the sting of the honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae.). *Journal of Chemical Ecology* 8, 163-175.

Prost J P et le conte Y., 2005. Apiculture Connaitre l'abeille conduire le rucher. avoisiertec&doc Paris. 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 immunocytochemical study. *Tissue Cell* .15:281-300

Rangel J ; Strauss k ; Seedorf k ; Hjelmén CE ; Johnston JS., 2015. L'endopolyploidie change avec le polyéthisme lié à l'âge chez l'abeille domestique, *Apis mellifera* . PloS One, Vol. 10, n ° 4. 10.1371 / journal.pone.0122208.

Ravazzi G., 2007. Abeilles et apiculture. Éd de Vecchi. Paris .p159.

Rembold H ; Kremer JP ; Ulrich GM., 1980. Characterization of postembryonic developmental stages of the female castes of the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie* 11, 29–38.

Riondet J., 2013. Le rucher durable. Ed Ulmer .Paris .p271.

Robinson GE., 2002. Genomics and integrative analyses of division of labor in honeybee

Roma GC; Bueno OC; Camargo-Mathias ML., 2010. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: a review. *Micron*. 41: 395-401.

Ruttner F., 1975. African races of honeybees. Proc.25th Int. Beekeep. Congr.

Ruttner F., 1988. Biogeography and taxonomy of honeybees. Springer Verlag. p284.

S

Schooley DA; Horodyski FM; Coast GM., 2005. Hormones controlling homeostasis in insects: endocrinology. In *Comprehensive Molecular Insect Science*, ed. LI Gilbert, K Iatrou, S Gill, 3:493–550. Amsterdam: Elsevier.

Schulz DJ et Robinson GE., 2001. Octopamine influences division of labor in honey bee colonies. *Journal of Comparative Physiology. A, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 187, 53-61.

Seeley TD et Visscher PK., 1988. Assessing the benefits of cooperation in honeybee foraging : search costs, forage quality and competitive ability. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 22(4) :229–237.

Seeley TD., 1982. Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 11, 287-293.

Seeley TD., 1995. The Wisdom of the Hive. Harvard University Press.

Shearer DA et Boch R., 1965. 2-Heptanone in the Mandibular Gland Secretion of the Honey-bee. nature 206, 530.

Silva-Zacarin ECM ; Silva de Moares RL ; Taboga SR., 2003. formation de la soie dans les glandes salivaires des larves de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). J Biosci 28: 753-764

Slessor KN; Winston ML; Le Conte Y., 2005a. Pheromone communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.). Journal of Chemical Ecology 31, 2731-2745.

Sullivan JP; Jassim O; Fahrbach SE; Robinson GE., 2000. Juvenile Hormone Paces Behavioral Development in the Adult Worker Honey Bee. Hormones and Behavior 37, 1-14.

Sumpter DJ et Broomhead DS., 2000. Shape and dynamics of thermoregulating honey bee clusters. Journal of Theoretical Biology, 204(1) :1-14.

SuzhenQi ; Lizhen Zhu ; Donghui Wang ; Chen Wang ; Xiaofeng Chen ; Xiaofeng Xue ;Liming Wu., 2020. Flumethrin at honey-relevant levels induces physiological stresses to honey bee larvae (*Apis mellifera* L.) in vitro. J Ecotoxicology and Environmental Safety. p190

Sylvie C., 2016. Abeilles, accueillir une ruche chez soi. Futura-Sciences théorie.

T

Tavares DA ; Dussaubat C ; Kretzschmar A ; Carvalho SM ; Silva-Zacarin ECM ;Malaspina O ; Berail G ; Brunet JL ; Belzunces LP., 2017. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. Environ. Pollut. 229, 386-393.

V

Van Engelsdorp D; Hayes J; Caron D; Pettis J.,2010. Preliminary results: honey bee colonies losses in the U.S., winter 2009-2010. University Park (Pennsylvania, USA): Penn State University, Center for Pollinator Research. -10.

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 1. p126 .

W

Wagener-Hulme C; Kuehn JC; Schulz DJ; Robinson GE., 1999. Biogenic amines and division of labor in honey bee colonies. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 184, 471-479.

Whitfield CW; Behura SK; Berlocher SH *et al.*, 2006a. Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science* 314.

Wilson EO et Bossert WH., 1963. Chemical communication amongs animals. *Recent Progress In Hormone Resarch* 19, 673-716.

Wilson EO., 1971. *The Insect Societies* Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, MA.

Wilson- Rich N; Dres ST; Starks PT., 2008. The ontogeny of immunity: Development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*). *J. Insect Physiol.* 54, 1392–1399.

Winston M., 1987. *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press: Cambridge, MA, USA, 1987; ISBN 0-674-07409-2.

Winston ML et Punnet EN., 1982. Factors determining temporal division of labor in honeybees. *Can. J. Zool.*, 60: 2947 - 2952.

Winston ML., 1993 . *La biologie de l'abeille*. Paris : Editions Frison-Roche. p276.

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*). *Entomological society of America* 83(2), 234-238.

Winston ML; Slessor KN; Willis LG *et al.*, 1989. The influence of queen mandibular pheromones on worker attraction to swarm clusters and inhibition of queen rearing in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Insectes Sociaux* 36, 15-27.

Y

Yao Yi ; Yi Bo Liu; Andrew B B ; Zhi Jiang Zeng., 2020. *Piculture& Social Insects Transcriptomic, Morphological, and Developmental Comparison of Adult Honey Bee Queens (Apis mellifera) Reared From Eggs or Worker Larvae of Differing Ages.* *J f Economic Entomology* . 1-7.

Yoshiko O et 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 .71: 265-269.

Z

Zara FJ et Caetano FH., 2004. Ultramorphology and histochemistry of fat body cells from last instar larval of the *pachycondyla* (= *Neoponera*) *villosa* (Fabricius) (Formicidae: Ponerinae). Braz.J.Biol., 64: 725-735.