

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 des Sciences Biologiques



Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie

Effet de l'écotype sur la qualité de la gelée royale chez les abeilles autochtones (A.m. intermissa et A.m. sahariensis)

Melle BATTACHE Ahlam

Melle BENCHABANE Khaoula

Mr CHEKALIL Abdelhak

Soutenu le : 29 / 06 / 2022

Devant le jury:

Président : Mr CHAOUAD B (MCB) U DB_KM

Promoteur: Mr BOUSSOUBEL AEK (MAA) U DB_KM

Examineur: Mr SAHRAOUI A/H (MCA) U DB_KM

Promotion : 2021/2022

Dédicace

*Avant tout, nous remercions Dieu de nous avoir donné le courage
pour mener à bien ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail
A celui qui m'a appris les vraies valeurs de la vie, mon père que
j'aime.
A la femme la plus courageuse et la plus belle à mes yeux, ma très
chère mère.
Qu' Allah vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé
et de bonheur.
A ceux qui m'ont soutenu nuit et jour
Mes chères soeurs Hanan et Fatima
Mes chers frères chemseddine, sohaïbe, et zinou
Mes neveux et nièces
À mes amis les plus fidèles Asma, Soumia, Houda, Nada, Fadwa et
Fayza*

« Ahlam »

Dédicace

A mes chers parents symbole de sacrifice, de tendresse et d'amour.

A mes chères sœurs pour leurs soutien et leurs encouragements

Khadija Zeyneb et Meriem

A ma petite nièce Belkis

A mon groupe de théâtre que j'ai grandi avec

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

Je dédie ce modeste travail

« Khaoula »

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à
Ma charmante Mère **allah yerhameha** et mon Père,
Vous méritez tous les deux beaucoup de m'avoir élevé comme
l'homme que je suis aujourd'hui.*

A ma sœur et mes frères

A mes meilleurs amis,

Pnïpn, Malaga, kolibali, Diïb, Ababba, Icardi,

A tous mes amis universitaires, en particulier à

Yacine, Walid, Hamza, mriza9, Amine et Mostaz

A toutes les personnes qui étaient là pour moi.

« Abdelheq »

Remerciements

*Nous remercions **DIEU** le Tout Puissant, de nous avoir donné le courage, la force et la patience afin de mener ce travail à terme.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et grand respect à notre promoteur **Mr BOUSSOUBEL** pour son aide, sa disponibilité, ses conseils avisés, et ses remarques qui nous ont permis de présenter notre travail.*

*Nos sincère remerciements s'adressent aussi aux membres de jury travail **Mr SAHRAOUI** et **Mr CHAOUAD** d'avoir bien voulu prendre le temps d'évaluer notre travail.*

*On voudrait aussi exprimer notre reconnaissance aux personnes qui ont grandement contribué à ce que ce travail aboutisse on cite : **Wahiba et Saïda***

Nous remercions également tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail surtout aux apiculteurs

INDEX

Intitulé de tableau	Page
Tableau 01 : Les différents rôles des ouvriers (Kasouri C., 2019)	08
Tableau 02 : Principales glandes chez l'abeille et leurs fonctions (Spürgin., 2010)	15
Tableau 03 : Composition chimique de la gelée royale (variable selon la flore visitée)	19
Tableau 04 : Produits chimiques utilisés	23
Tableau 05 : Mesure des paramètres morphométriques chez les larves d'abeille après greffage.	34
Tableau 06 : Mesure des paramètres pondéraux chez les larves d'abeille après greffage.	36
Tableau 07 : Mesure des paramètres morphométriques des acini des glandes hypopharyngiennes chez les nourrices telliennes.	41
Tableau 08 : Morphométrie de certains paramètres des cellules oenocytaires des larves au niveau du greffage tellien (TT) et saharien (TS).	43
Tableau 09 : Morphométrie de certains paramètres des cellules trophocytaires des larves au niveau du greffage tellien (TT) et saharien (TS).	44
Tableau 10 : Rapport entre les cellules oenocytaires et trophocytaires chez les larves apparentées et intruses (TT et TS).	46

Intitulé de la figure	Page
Figure 01 : Classification d' <i>Apis mellifera</i> (d'après Melo, 2005 et Michener, 2007)	02
Figure 02 : carte géographique représentant les grandes lignées de l'histoire évolutive d' <i>Apis mellifera</i> (Rustica 2012)	03
Figure 03 : Schéma de la localisation d' <i>Apis mellifera</i> en Algérie (Lobreau-Callen et Damblon., 1994).	04
Figure 04 : Reine entourée d'ouvrières (photo Lega, Faenza, Italie)	06
Figure 05 : Stades de développement de l'abeille de l'œuf à la reine (Leconte., 2011)	07
Figure 06 : Stades de développement d' <i>Apis mellifera</i> à partir de l'œuf à l'ouvrière (Leconte., 2011)	07
Figure 07 : Deux faux-bourdons au milieu des ouvrières (Catays, s. d.)	09
Figure 08 : La reine pose un œuf par cellule (Le Conte. Y., 2011).	10
Figure 09 : Anatomie interne de larve d'abeille <i>Apis mellifera</i> (Boucher. S., 2016).	11
Figure 10 : Photo de nymphe (Spürgin., 2010).	12
Figure 11 : Jeune Abeille sortant de l'alvéole (Alphandery., 1992).	12
Figure 12 : Morphologie externe de l'abeille femelle adulte (Hannebelle., 2010)	13
Figure 13 : Schéma de l'anatomie interne de l'abeille adulte (Paillot et al, 1949).	14
Figure 14 : coupe transversale du corps gras de la larve d'abeille mellifère (Dalal MA., 2018).	17
Figure 15 : Différentes étapes de la technique adoptée pour l'élevage des reines (greffage).	24
Figure 16 : Acceptation des larves royales et pesée de larves et de gelée royale	25
Figure 17 : Pesée des larves et prise de photographies sous la loupe binoculaire.	26
Figure 18 : Fixation, déshydratation et éclaircissement des larves d'abeilles	28
Figure 19 : Inclusion et la mise en bloc.	28
Figure 20 : la microtomie et l'étalement des coupes histologiques.	29
Figure 21 : Etude morphométrique des larves d'abeilles grâce à l'ImageJ 1.47.	30
Figure 22 : Etude morphométrique des cellules oenocytaires à l'aide d'un outil informatique, Axio Vision 4.8 de CARL ZEISS.	31
Figure 23 : Comparaison des taux d'acceptation de greffage pour des larves telliennes	

greffées sur une tellienne (TT), et des larves sahariennes greffées sur une tellienne	33
Figure 24 : Comparaison des paramètres morphométriques chez des larves telliennes greffées sur une tellienne (TT), et des larves sahariennes greffées sur une tellienne.	34
Figure 25 : Comparaison du poids des stades de l'évolution de l'abeille dans les deux situations de greffage (telliennes greffées sur une tellienne (TT), sahariennes greffées sur une tellienne (TS))	35
Figure 26 : Comparaison des gelées royales fournies par les nourrices telliennes aux deux races de larves tellienne (TT) et saharienne (TS) et leur poids.	36

Index des Planches

	Intitulé de la Planche	Page
Planche I	<p>Observation et coupes histologiques des glandes hypopharyngiennes des abeilles nourrices telliennes lors d'un élevage mixte.</p> <p>Figure 1 : Morphologie des glandes hypopharyngiennes d'une abeille nourrice. G. 20.</p> <p>Figure 2 : Coupe frontale de la tête d'une abeille nourrice <i>Apis mellifera intermissa</i> dans un élevage mixte. Coloration à l'HE. G. 40.</p> <p>Figure 3 : Coupe frontale de la tête d'une abeille nourrice <i>Apis mellifera intermissa</i> dans un élevage mixte. Coloration à l'HE. G. 100.</p> <p>Figure 4 : Coupe frontale de la tête d'une abeille nourrice <i>Apis mellifera intermissa</i> dans un élevage mixte. Coloration à l'HE. G. 400.</p>	39
Planche II	<p>Coupes histologiques du Tissu adipeux de larve d'abeille domestique d'<i>Apis mellifera sahariensis</i> greffée sur une tellienne</p> <p>Figure 1 : Coupe longitudinale para-sagittale de larve d'<i>Apis mellifera sahariensis</i> greffée sur une tellienne. Coloration à l'HE. G. 40.</p> <p>Figure 2 : Coupe longitudinale para-sagittale de larve d'<i>Apis mellifera sahariensis</i> greffée sur une tellienne. Coloration à l'HE. G. 100.</p> <p>Figure 3 : Coupe longitudinale para-sagittale de larve d'<i>Apis mellifera sahariensis</i> greffée sur une tellienne. Coloration à l'HE. G. 400.</p>	40

ABBREVIATIONS

Abréviations

ADN	Acide DésoxyriboNucléique.
BHT	Dibutyl hydroxytoluene.
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.
EAG	Equivalent Acide Gallique.
EQ	Equivalent Quercétine.
ERO	Espècs reactives oxygénées
GPx	Glutathione peroxidase;
GR	Glutathione reductase;
10HDA	10-hydroxy-2-decenoic acid (HDA),.
M	Molarité.
MDA	Malondialdehyde;
Meq	Milliequivalent.
MRJP	Major Royal JellyProteins.
MRJPs	Major royal jelly proteins
nm	Nanomètre.
pH	Potentiel Hydrogène.
SOD	Superoxide dismutase
TT	Tellienne/Tellienne
TS	Tellienne/Saharienne
VEGF	Vascular endothelial growth factor
%	Pour cent

RESUME

RESUME

Ce travail s'est intéressé à l'étude du développement comportemental et physiologique chez les abeilles nourrices de la sous espèce (*Apis mellifera intermissa*) vis-à-vis son intervention dans le l'allaitement de ses larves royales, et de larves d'une sous-espèce différente, à savoir *Apis mellifera sahariensis*.

Les mesures pondérales, morpho-métriques et histologiques prises ont révélées qu'il existe un détachement morphométrique des larves telliennes et sahariennes sans aucune différence significative, où le taux d'acceptation était respectivement de 90 % et 93,75 %. Les nourrices telliennes acceptent de nourrir les larves intruses, sauf que cette acceptation s'est reflétée négativement sur leur poids et leur volume. La gelée royale déposée chez les larves sahariennes diffère en quantité par rapport aux larves telliennes. Cette différence affecte relativement le poids des larves, où la saharienne reçoit plus de gelée (27,27%) mais leur poids est en diminution (45,45%). Le volume des acini des glandes hypopharyngiennes des nourrices telliennes prennent du volume quand il s'agit de nourrir les larves apparentés, d'où l'impact remarqué sur les mesures pondérales par ingestion directe et aussitôt que la gelée royale. Les larves sahariennes présentent un tissu adipeux caractérisé par un ratio cellulaire (Oenocyte/trophocyte) élevé de 28,21%, avec augmentation de leur volume cytoplasmique. L'hypothèse d'une manifestation défensive de ces cellules vis-à-vis à une situation stressante (nourrices non apparentés) est à retenir.

Mots-clés : *Apis mellifera intermissa*, *Apis mellifera sahariensis*, larve, gelée royale, oenocyte.

Summary

This work focused on the study of behavioral and physiological development in nurse bees of the subspecies (*Apis mellifera intermissa*) and its intervention in the suckling of its royal larvae, and larvae of a different subspecies, namely *Apis mellifera sahariensis*.

The weight, morphometric and histological measurements taken revealed that there is a morphometric detachment of the Tellian and Saharan larvae without any significant difference, where the acceptance rate was respectively 90% and 93.75%. Tellian nurses agree to feed the intruding larvae, except that this acceptance had a negative impact on their weight and volume. The royal jelly deposited in Saharan larvae differs in quantity from Tellian larvae. This difference relatively affects the weight of the larvae, where the saharan receives more jelly (27.27%) but their weight is decreasing (45.45%). The volume of the acini of the Tellian nurse bees hypopharyngeal glands increase in volume when it comes to feeding the apparent larvae, hence the impact noted on weight measurements by direct ingestion and as soon as royal jelly. The Saharan larvae have a fat body characterized by a high cell ratio (Oenocyte/trophocyte) of 28.21%, with an increase in their cytoplasmic volume. The hypothesis of a defensive manifestation of these cells compared a stressful situation (unapparent nurses) have be retained.

Keywords: *Apis mellifera intermissa*, *Apis mellifera sahariensis*, Larva, Royal Jelly, oenocyte.

ملخص

ركز هذا العمل على دراسة التطور السلوكي والفسيوولوجي لمربيات النحل من السلالات الفرعية (*Apis mellifera intermissa*) مقابل تدخلها في إرضاع يرقاتها الملكية ، و يرقات سلالات مختلفة ، ألا وهي *Apis mellifera sahariensis*. أظهرت قياسات الوزن والمورفومترية وحتى النسيجية أن هناك انفصال شكلي لليرقات التليات والصحراويات دون أي فرق معنوي ، حيث كان معدل القبول 90% و 93.75% على التوالي. قبول الممرضات التليليات على إطعام اليرقات الدخيلة، باستثناء أن هذا القبول كان له تأثير سلبي على وزنها وحجمها. يختلف غذاء ملكات النحل الذي يتربسب عند يرقات الصحراء في الكمية عن يرقات التل. يؤثر هذا الاختلاف نسبيا على وزن اليرقات ، حيث تتلقى الصحراوي كمية أكبر من الهلام (27.27%) لكن وزنها يتناقص (45.45%). يزداد حجم أسنني الغدد البلعومية لممرضات نحل التل في الحجم عندما يتعلق الأمر بتغذية يرقاتها ، ومن ثم لوحظ التأثير على قياسات الوزن عن طريق الابتلاع المباشر وبمجرد غذاء ملكات النحل. تحتوي اليرقات الصحراوية على نسيج دهني يتميز بنسبة خلوية عالية (Oenocyte / trophocyte) تبلغ 28.21% ، مع زيادة في حجمها السيتوبلازمي. و من هنا إحتفظنا بفرضية المظهر الدفاعي لهذه الخلايا في مواجهة الموقف المجهد (ممرضات ليست ذا قرابة).

الكلمات المفتاحية: *Apis mellifera intermissa*, *Apis mellifera sahariensis* اليرقة ، هلام الملكات. oenocyte.

Sommaire

Sommaire

Résumé

Index

Introduction 01

Partie 01 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralité sur l'abeille 02

I.1. Description d'abeille 02

I. 2. Répartition géographique des abeilles autochtones 02

I. 2. 1. Les abeilles dans le monde 03

I. 2. 2. Les abeilles en Algérie 03

I. 3. Préambule sur la diversité biologique 04

I. 3. 1. Les sous-espèces 04

I. 3. 2. Les écotypes 05

I. 4. Biologie de l'abeille 05

I. 4. 1. Les différentes castes d'abeilles 05

I. 4. 1. 1. La reine 05

I. 4. 1. 2. Les femelles ouvrières 07

I. 4. 1. 3. Le mâle (Le faux bourdon) 09

I. 4. 1. 4. Le couvain 09

I.4. 2. Anatomie des abeilles 12

I.4. 2. 1. Morphologie externe 13

I.4. 2. 2. Anatomie interne 14

I.4. 3. Physiologie de la larve 16

I.4. 3.1. Le corps gras 16

Chapitre II : Gelée royale 18

II. 1. Composition de la gelée royale 18

II. 2. Processus de production de la gelée royal 19

II. 3. Normes de qualité de la gelée royale 20

II. 3. 1. Définition de la qualité 20

II. 3. 2. Définition d'une norme 20

II. 3. 3. Enjeux qualité de la gelée royale 20

II. 3. 4. Les critères physico-chimiques de la gelée royale 21

II. 3. 5. Les vertus de la gelée royale	21
Partie 02 : Matériel et méthodes	
	I. Matériels
I. 1. Matériel Biologique	22
I. 2. Matériel non Biologique	22
I. 2.1. Equipement et instruments	22
I. 2.2. Produits et solutions	23
I. 3. Programmes informatiques	23
	II. Méthodes
II. 1. Dans des conditions naturelles	23
II. 1. 1. Etude biométrique	26
II. 2. Dans des conditions expérimentales	27
II. 2. 1. Dissection et coloration des glandes hypopharyngiennes des nourrices	27
II. 1. Technique histologique	27
II. 1.1. Fixation histologique	27
II. 1.2. Déshydratation	27
II. 1.3. Eclaircissement	28
II. 1.4. Inclusion	28
II. 1.5. Mise en bloc	28
II. 1.6. Confection des coupes et étalement	29
II. 1.7. Coloration	29
II. 1.8. Déshydratation et montage	30
II. 1.9. Iconographie	30
II. 2. Etude morphométrique	30
II.3. Etude statistique	31
Partie 03 : Résultats et interprétations	
	I. Résultats
I. 1. Etude en conditions naturelles	33
I. 1. 1. Taux d'acceptation	32
I. 1. 2. Morphométrie des larves	34
I. 1. 3. Evolution du facteur pondéral	35
I.2. Résultats histologiques	36
I.2.1. Histologie des glandes hypopharyngiennes des nourrices telliennes	38

a) Au faible grossissement	38
b) Au fort Grossissement	38
I.2.2. Histologie des larves greffées	38
I. 3. Morphométrie des coupes histologiques	41
I. 3. 1. Morphométrie des Glandes Hypopharyngiennes	41
I. 3. 2. Morphométrie du tissu adipeux chez les larves royales	42
a) Morphométrie des Oenocytes	43
b) Morphométrie des Trophocytes	44
c) Rapport Oenocytes-Trophocytes	45
<i>Partie 03 : Discussion et conclusion</i>	46
I. Discussion	46
II. Conclusion et perspectives	56 51
Références Bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION

Introduction

L'abeille est l'exemple phare des sociétés d'insectes très organisées appelées encore super-organismes. Elle présente une combinaison de caractères personnels et une coopération sociale sans égal dans le règne animal. En plus, du fait qu'elle améliore la fécondation des plantes, elle revêt d'autres intérêts dans la production de miel, de propolis et de gelée royale. Elle constitue donc un modèle biologique d'intérêt majeur (**Von Frisch., 1967**).

Le nombre de publications scientifiques a augmenté à mesure où la production et l'utilisation de gelée royale et d'autres produits de la ruche comme complément alimentaire ou remède médical a augmenté. Par conséquent, la gelée royale est devenue un produit bien connu et un produit apicole populaire dans de nombreux pays.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la production de la gelée royale. Parmi les plus importants on trouve, l'âge des larves transférées (**Sahinler et Kaftanoglu., 1997**), l'alimentation (**Fuhai et al., 1993**), les intervalles entre la récolte (**Sahinler & Sahinler., 2002**), les cellules royales transférées (**Van-Toor & Littlejohn., 1993 ; Kutluca et al., 1993**), l'orphelinage de la colonie (**Van-Toor & Littlejohn., 1993**) et la cour de la reine (**Shibi et al., 1993**).

C'est dans ce contexte, et afin de mieux comprendre l'origine de la qualité de la gelée royale secrétée par les abeilles nourrices, nous nous proposons de faire un élevage royal croisé où des larves de la sous espèce (*Apis mellifera sahariensis*) sont proposées pour un greffage sur une race différente à savoir *Apis mellifera intermissa*. Une comparaison comportementale et physiologique est alors faite sur une assise morphométrique et histologique.

Par conséquent, ce manuscrit comportera deux parties, la première présente des rappels bibliographiques concernant l'abeille et la gelée royale et la deuxième sera une partie pratique qui compare essentiellement des mesures pondérales, morphométriques et histologique relevées sur les abeilles nourrices telliennes, leur gelées royales et les larves d'élevage royal des deux races.

Avant de conclure, les résultats seront discutés puis parachevés par une brève conclusion.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralité sur l'abeille :

I.1. Description d'abeille :

L'espèce la plus connue est *Apis mellifera* qui a des grandes potentialités pour la récolte du miel. Les abeilles sont divisées en deux grandes catégories : Les espèces sociales qui vivent en groupe au sein des colonies ; *Apis mellifera*, et les espèces solitaires (Paterson, 2008).

Le corps de l'abeille se divise en trois parties : la tête, thorax et abdomen. La tête et le thorax sont reliés par le cou qui est constitué d'une membrane externe et un muscle associé, le thorax et l'abdomen sont reliés par un pétiote. Elle possède trois paires de pattes, généralement deux paires d'ailes deux yeux et trois ocelles (Le Conte, Y.,).

Les abeilles sont des insectes hyménoptères de la super famille des apoïdes. La classification complète de l'espèce *Apis mellifera* est résumée da la **Fig. 01** ci-dessous.

Embranchement	<i>Arthropoda</i> (Latreille, 1829)
Sous-embranchement	<i>Antennata</i>
Classe	<i>Insecta</i> (Linnaeus, 1758)
Sous-classe	<i>Pterygota</i> (Lang, 1888)
Ordre	<i>Hymenoptera</i> (Linnaeus, 1758)
Sous-ordre	<i>Aculeata</i> (Latreille, 1802)
Superfamille	<i>Apoidea</i> (Latreille, 1802)
Famille	<i>Apidae</i> (Latreille, 1802)
Sous-famille	<i>Apinae</i> (Latreille, 1802)
Tribu	<i>Apini</i> (Latreille, 1802)
Sous-tribu	<i>Apina</i> (Latreille, 1802)
Genre	<i>Apis</i> (Linnaeus, 1758)
Espèce	<i>A. mellifera</i> (Linnaeus, 1758)

Figure 01 : Classification d'*Apis mellifera* (d'après Melo, 2005 et Michener, 2007)

I. 2. Répartition géographique des abeilles autochtones :

Selon Yves Le Conte 2012, aujourd'hui nous recensons neuf espèces d'abeilles dans le genre *Apis*. Les abeilles mellifères sont les espèces d'abeilles les plus répandues dans le monde. Son évolution lui a permis de coloniser l'Europe et l'Afrique.

I. 2. 1. Les abeilles dans le monde :

Le groupe représenté par *Apis mellifera* a évolué de l'abeille du Moyen-Orient, à partir d'*Apis cerana* et cela en trois clades. La population de ces trois branches passera respectivement à vingt-trois (**Fig. 02**). La présence de barrières géographiques (mer Noire, mer Caspienne, Alpes, Caucase) constitue l'explication la plus probable de ce sens de migration.



Figure 02 : carte géographique représentant les grandes lignes de l'histoire évolutive d'*Apis mellifera* (**Rustica 2012**)

La branche M, *A. mellifera mellifera* et *A. mellifera iberica*, est issue de la progression des populations au nord de ces barrières puis jusqu'à la péninsule ibérique. Ensuite, elle migrera vers la Méditerranée.

La branche C représente les races du nord-est de la Méditerranée à l'Italie (*A. m. anatoliaca*, *cecroopia*, *caucasica*, *macedonica*, *carnica* et *ligustica*).

La branche A s'est développée vers le sud et envahit l'Afrique. La partie Nord de la branche A a donné au *A. m. major* et *A. m. sahariensis* qui s'est au Maghreb. Cette dernière race, combinée et hybridée avec des abeilles du clade M dans le sud de l'Espagne, est génétiquement très différente du clade M. Les *mellifera* françaises sont bien issues des migrations du nord, pas de M. A. Interrompu par le sud.

La partie sud de la branche A a progressé jusqu'au bout du continent africain, donnant *A.m. adansonii*, *monticola*, *littorea*, *scutellata* et *capensis*.

I. 2. 2. Les abeilles en Algérie :

L'apiculture est présente dans toutes les zones agro-écologiques de l'Algérie et s'intègre harmonieusement aux systèmes de production arboricole des montagnes. La colonie apicole algérienne est constituée de deux espèces : *Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica Sahariensis*.

Apis mellifera intermissa est la plus répandue et son aire de répartition s'étend sur toute l'Afrique du Nord (**Fig. 03**) : Maroc, Tunisie, Algérie (**Grissa et al., 1990**) plus précisément elle se situe au nord du désert du Sahara en Algérie (**Adam., 1953**).

Apis mellifera sahariensis se caractérise par une longueur de 6,40 mm, supérieure à celle considérée par *Apis mellifera intermissa*. De plus, c'est aussi un écotype "Provence", avec une pilosité plus courte de 0,20 mm, Les villosités mesurent 0,66 mm et l'indice du coude est de 2,27 mm en moyenne (Fresnay., 1981).



Figure 03 : Schéma de la localisation d'*Apis mellifera* en Algérie (**Lobreau-Callen et Damblon., 1994**).

I. 3. Préambule sur la diversité biologique :

I. 3. 1. Les sous-espèces :

Pour être capable de reconnaître les sous-espèces et les hybridations entre les sous-espèces, on peut définir une sous-espèce comme un ensemble d'individus partageant certains caractères et ayant une histoire évolutive commune à une échelle plus faible que celle de l'espèce (**Lherminier et Solignac., 2000**). Cette caractérisation n'est pas triviale pour *Apis*

mellifère ; les éléments morphologiques discriminants qui permettent de faire une différenciation nécessitent parfois une loupe binoculaire voire un microscope.

I. 3. 2. Les écotypes :

Un écotype est un groupe d'individus appartenant à une même espèce qui présente des caractéristiques particulières découlant d'une adaptation progressive à un milieu. Un écotype est donc différent d'une sous-espèce puisque les individus qui forment un écotype sont inclus dans une sous-espèce alors que l'inverse est faux. Les caractéristiques propres à un écotype sont transmises de manière héréditaire et sont donc le fruit d'une longue sélection naturelle (Guillaume., 2016).

I. 4. Biologie de l'abeille :

I. 4. 1. Les différentes castes d'abeilles :

Selon les ruches et la saison, les colonies d'abeilles peuvent compter entre 20 000 et 50 000 individus (Jean-Prost., 1987). La ruche est ce que les scientifiques appellent un superorganisme (Hölldobler & Wilson., 2009). C'est une société bien organisée, avec des immatures d'un côté et des adultes de l'autre. Les larves et les nymphes sont prises par les immatures. Ces individus sont logés dans les structures cellulaires d'une zone spécifique de la ruche appelée couvain, qui sert de nid à la colonie. C'est toujours construit au milieu de la ruche, au milieu des cadres. Comme la température optimale pour le couvain est de 34,5°C, cette localisation permet à la colonie de maintenir un microclimat avec une large plage de températures (entre 33 et 36°C) (Seeley., 2014) (Groh *et al.*, 2004). Pendant l'été, il couvre une zone ovale englobant environ $\frac{3}{4}$ cadres, alors qu'en hiver, il est fortement réduit, voire inexistant. Par extension, le terme couvain est fréquemment utilisé pour désigner l'ensemble de la population d'individus immatures, et pas seulement la zone dans laquelle ils se trouvent. Les adultes sont constitués de la reine, qui est la seule femelle à pratiquer le pontage (en situation normale), des ouvrières et des faux-bourçons (mâles).

I. 4. 1. 1. La reine :

La reine se reconnaît à son abdomen allongé qui dépasse largement la pointe des ailes au repos. Son thorax est plus gros que celui de l'ouvrière. De face, sa tête est ronde. Les reines et les ouvrières se développent à partir des mêmes œufs mais les larves qui deviendront des reines reçoivent plus de nourriture que les larves qui deviendront des ouvrières. En général, il n'y a qu'une reine par colonie (Fig. 04), et normalement, elle est la seule femelle à pondre. Quand cette reine est perdue, les abeilles produisent de nouvelles reines. Celles-ci

vont se battre entre elles jusqu'à ce qu'il n'en reste plus qu'une dans la colonie. Les reines en compétition s'entretuent à l'aide de leur dard, qui est épais et incurvé.

Avant de pondre, la reine effectue un vol nuptial. Pour cela, les ouvrières la poussent dehors quelques jours après l'installation de la nouvelle ruche. Elle s'accouple en vol avec une dizaine de faux-bourçons.

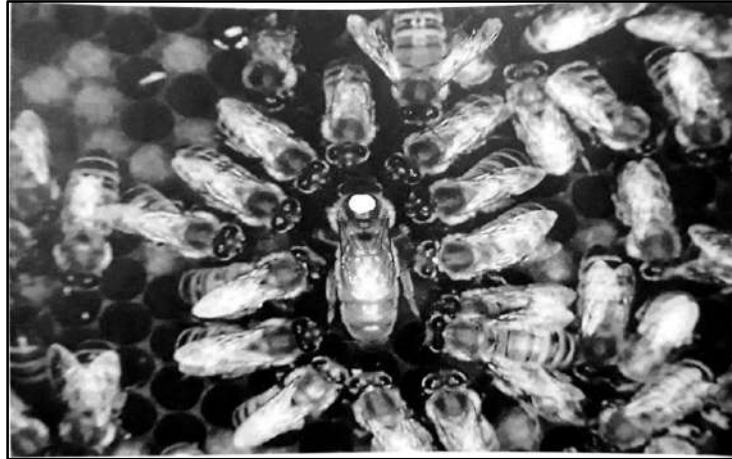


Figure 04 : Reine entourée d'ouvrières (photo Lega, Faenza, Italie)

Les spermatozoïdes produits lors des accouplements sont conservés vivants dans un jabot situé dans son abdomen (spermathèque). Tant que sa spermathèque contient des spermatozoïdes, elle peut pondre des œufs fécondés (si les accouplements ont été réussis, elle peut pondre des œufs fécondés pendant 3 à 5 ans). Une fois la ponte commencée, la reine ne peut plus jamais effectuer de vol nuptial. Les reines pondent la plupart des œufs la première année de leur vie.

C'est pourquoi les apiculteurs remplacent souvent les reines après une ou deux années. Le taux de ponte des abeilles mellifère est élevé : un maximum de 3 000 œufs par jour a été observé. La reine commence à pondre quelques jours après le vol nuptial. Les œufs fécondés deviennent des abeilles femelles : reines ou ouvrières. Ils sont pondus dans des cellules ouvrières hexagonales relativement petites et dans des cupules suspendues verticalement, à partir desquelles les abeilles construiront plus tard les cellules royales allongées (**Fig. 05**).

Les œufs non fécondés sont déposés dans de plus grandes cellules horizontales pour donner des mâles. La reine ne butine pas elle-même sa nourriture. Elle doit être nourrie avec une nourriture spéciale (La gelée royale) sécrétée par des glandes situées dans la tête des ouvrières.

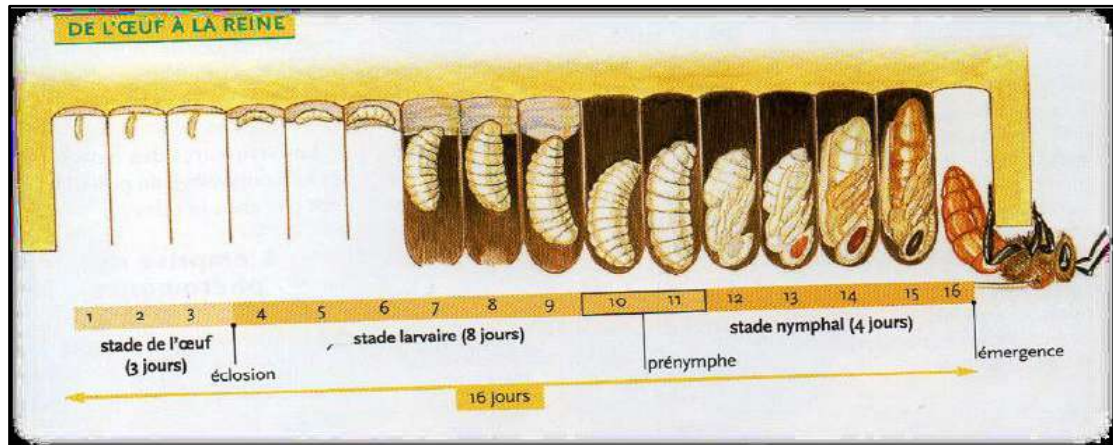


Figure 05 : Stades de développement de l'abeille de l'œuf à la reine (Leconte., 2011)

I. 4. 1. 2. Les femelles ouvrières :

Elles sont les plus nombreux, et ce sont elles qui travaillent dans la ruche. Elles ont une atrophie génitale mais un dard fonctionnel, et leur taille est inférieure à celle de la reine. Leurs ailes sont légèrement plus grandes que l'abdomen, les yeux ne sont pas joints et leur apparence est mince. Leur durée de vie est déterminée selon la saison. Elle vit 30 à 40 jours en été et plusieurs mois en hiver (Maurizio., 1953). Il faut 21 jours pour passer d'un œuf à un adulte (Fig. 06) (Hrassnigg & Crailsheim., 2005).

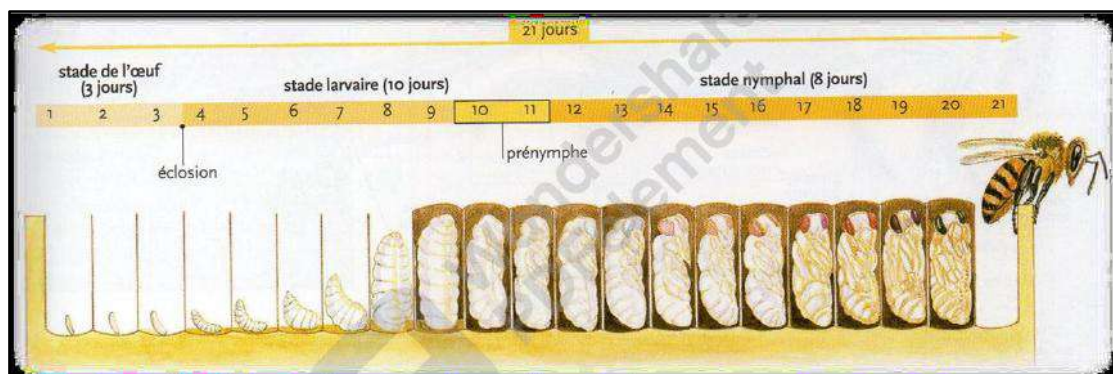


Figure 06 : Stades de développement d'*Apis mellifera* à partir de l'œuf à l'ouvrière (Leconte., 2011)

Les abeilles ouvrières possèdent de grandes capacités d'adaptation physiologique et comportementale. Elles se spécialisent en fonction de leur âge. Cependant, il existe une grande plasticité du développement comportemental en fonction des besoins de la colonie. Les butineuses peuvent redevenir nourrices et les nourrices devenir butineuses plus rapidement pour établir un équilibre butineuses/nourrices essentiel au développement de la colonie (Seely., 1982).

Tableau 01 : Les différents rôles des ouvrières (Kasouri C., 2019)

Ouvrières	Rôles
Nettoyeuses	Elles nettoient les cellules avec une attention extrême. La reine ne pond que la propreté est absolue.
Nourrices	Elles alimentent chaque larve en lui apportant une nourriture personnalisée en quantité et qualité selon l'état de son essort. Elles se relaient auprès de la reine et veillent à ses soins
Architectes et Maçonnes	Les glandes cirières se développent. L'ouvrière rejoint la cohorte chargée de bâtir les rayons. La construction d'une seule cellule représente six heures de dur labeur. La forme hexagonale des alvéoles évite de perdre de l'espace, assure une solidité parfaite grâce à une inclinaison appropriée, de laisser s'écouler le précieux liquide.
Manutentionnaires et magasinières	Les ouvrières participent au nettoyage des débris, cire, larves mortes, etc..., qu'elles expulsent hors de la ruche, et elles réceptionnent le nectar et le pollen apportés par les butineuses. Travaillés, malaxés, ils sont stockés dans les rayons, où ils peuvent se conserver très longtemps.
Ventileuses	Participent à la climatisation de la ruche. En été, lorsque la chaleur devient trop éprouvante, au-delà de 35°C, les abeilles agitent leurs ailes à l'entrée de la ruche et font refluer l'air chaud vers l'extérieur. En hiver, lorsque la température baisse, les abeilles s'étreignent les unes aux autres et forment une grappe resserrée, plus facile à réchauffer. En consommant du miel et en actionnant leur muscle à l'air, sans remuer les ailes, elles dégagent de l'énergie en quantité suffisante de manière à maintenir cet espace réduit à 13°C au minimum et ce quelle que soit la rigueur du climat
Gardiennes	Les ouvrières doivent surveiller l'entrée de la ruche. Elles laissent pénétrer les butineuses de la maison, qu'elles reconnaissent à l'odeur, et repoussent les indésirables.
Butineuses	L'ouvrière devient butineuse. Découvrant tout l'environnement, elle prélève eau, nectar, pollen, propolis pour nourrir et entretenir la colonie.

I. 4. 1. 3. Le mâle (Le faux bourdon) :

Se reconnaissent facilement à leur anatomie plus robuste. Ils sont beaucoup plus gros que les ouvrières, mais plus courts que la reine ; leur abdomen n'est pas pointu ; leurs yeux sont proches du sommet de leur tête ; et ils manquent d'aiguillon. Ils sont nourris par les ouvrières (**Fig. 07**) parce qu'ils ne peuvent pas ramasser de nourriture. Leur rôle principal est le partenaire des reines non encore fécondées, ils meurent peu de temps après car leurs organes génitaux se séparent lors de l'accouplement, provoquant l'affaissement de l'abdomen.

Pendant les périodes de famine des colonies, les mâles ne sont plus nourris et sont éjectés de la ruche par les ouvrières.



Figure 07 : Deux faux-bourdons au milieu des ouvrières (**Catays, s. d.**)

Chaque faux bourdon produit plus de dix millions de spermatozoïdes, mais lors de l'accouplement en vol, seuls 10% environ réussissent à pénétrer dans la spermathèque de la reine, ce qui explique que celle-ci s'apparie généralement avec plusieurs mâles jusqu'à ce qu'elle ait recueilli à peu près quatre millions de spermatozoïdes (**Ravazzi. G.**)

I. 4. 1. 4. Le couvain :

A) Les œufs : Les œufs peuvent se développer sans fécondation (parthénogénèse). Alors que les œufs non fécondés ne donnent naissance qu'à des mâles, ceux fécondés deviennent tous des ouvrières ou de futures reines (**Bertnand. E., 1977**).

L'œuf de l'insecte est riche en vitellus, celui-ci est situé au centre de l'œuf (controlécithe) ; le développement embryonnaire se fait à ses dépenses, mais nécessite aussi de l'eau et de l'air. L'œuf d'insecte est généralement recouvert, protégé, par une enveloppe rigide, le chorion, mais cette enveloppe n'est pas imperméable. À un pôle, dit hydrophile, l'eau est absorbée et permettra le développement embryonnaire (**Michel. L ; 2000**). Après avoir

été pondu, l'œuf, en forme de virgule blanche, est en position verticale, collé par une extrémité au fond de la cellule. Progressivement, il s'incline à l'horizontale (**Fig. 08**) (**Marchenay. P ; 1984**), les œufs donnent des larves vermiformes à l'issue de plusieurs stades et d'une nymphose (**Darrouzet et Corbara ; 2016**).

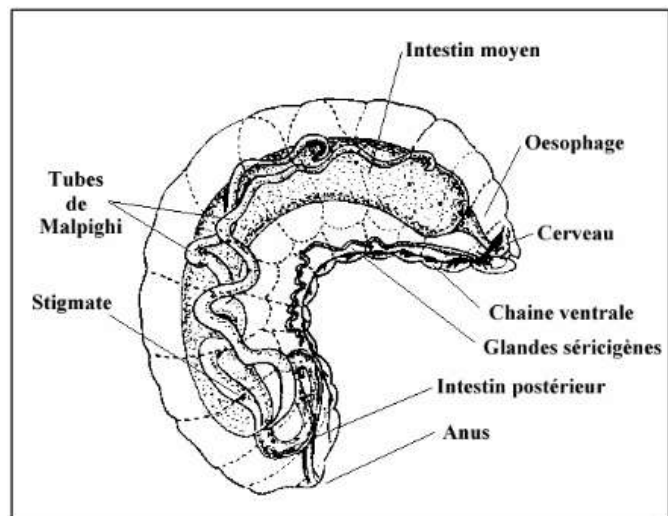
Figure 08 : La reine pose un œuf par cellule (**Le Conte. Y., 2011**).



La division du noyau de l'œuf et sa multiplication est l'origine des trois feuilles embryonnaires endodermique, mésodermique et ectodermique. Au cours de son organogenèse, l'ectoderme s'épaissit en une bande germinative, ébauche du futur embryon et se différencie en chaîne nerveuse, tandis que le mésoderme forme des paires de sacs cœlomiques, qui se dissocient tout en formant les muscles, cœur, tissu adipeux (corps gras) (**Michel. L ; 2000**). Le corps gras est un tissu de remplissage, qui est distribué partout dans le corps de l'insecte (**Chapman. RF ; 1998**). L'endoderme se différencie dans l'axe de l'embryon, formant l'intestin moyen, qui se relie à l'intestin antérieur et à l'intestin postérieur d'origines ectodermique (**Michel. L ; 2000**).

B) Les larves : L'ovule demeure sous forme d'œuf durant trois jours puis son enveloppe se dissout, laissant apparaître une larve qui baignera quelques jours dans une «mare» de gelées nourricières apportées par les très jeunes abeilles nourrices. On parle alors de couvain ouvert (**Riondet. J ; 2013**). La larve est un boudin blanchâtre à la peau très fine, sans pattes ni yeux, elle dépend totalement des adultes pour sa survie (**Albouy. V ; 2012**), la larve possède un grand intestin qui lui permet de digérer les aliments fournis par les nourrices (**Fig. 09**) (**Ravazzi. G ; 2007**).

Figure 09 : Anatomie interne de larve d'abeille *Apis mellifera* (Boucher. S., 2016).



Durant le développement larvaire de l'abeille à miel, les trophocytes et les oenocytes représentent deux groupes principaux de cellules du corps gras de la larve (Paes de Oliviera et Da Cruz-Landim ; 2003). Ce tissu est formé principalement par des cellules trophocytaires, cependant, d'autres types cellulaires peuvent leur être trouvés associés, (Dean et al ; 1985). Les oenocytes, d'origine ectodermique possèdent un noyau central, et peu de mitochondries (Evans.JJT ; 1967. Cruz-Landim ; 1985), elles exposent un réticulum endoplasmique lisse et bien développé. Ces cellules contribuent aux nombreux processus physiologiques (Martins et Ramalho-Ortigao ; 2012), en synthétisant les lipides ou les complexes lipoprotéiques qui forment la surface imperméable de l'épicuticule. Ils agissent aussi en reconnaissance entre l'espèce et les castes de la majorité d'insectes (Roma et al ; 2006a) et synthétisent des hydrocarbures de la cuticule ou même la cire d'abeille (Fan et al ; 2003). Le trophocyte est décrit comme arrondi ou polygonal, il possède un grand noyau irrégulier avec plusieurs nucléoles disloqués à sa périphérie. Maintes substances sont stockées dans le cytoplasme (Roma et al., 2006a, b ; 2008a, b), ces cellules seraient aussi actives dans la synthèse protéique (Rollo & Camargo-Mathias., 2006) et le stockage des lipides simples et des glucides (Chapman. RF., 1998).

- C) **La nymphe** : A l'intérieur du couvain operculé la larve devenue nymphe (Fig. 10) tisse un cocon de soie et se métamorphose en abeille (Roman. P., 2009) à une température de 34 à 36°C (Riondet. J., 2013). Les métamorphoses des abeilles sont commandées par une hormone de croissance (ecdysone) qui permet aux larves de grandir, une hormone juvénile, maintient l'état larvaire et s'oppose à cette nymphe (Prost. PJ., 1987).

Trois semaines après la ponte, c'est une jeune abeille, pourvue d'ailes et ayant sa taille définitive, qui déchire l'opercule pour sortir de l'alvéole (**Roman. P., 2009**).



Figure 10 : Photo de nymphe (**Spürgin., 2010**).

La nymphe qui se transformera en adulte en 7 jours pour une reine, 12 jours pour une ouvrière et 14 jours pour un faux-bourdon. Au total, le développement d'une ouvrière dure 21 jours, quand celui d'une reine se fait en 16 jours et celui d'un male en 24 jours (**Boucher. S., 2016**).

D) L'adulte naissant : Appelée aussi imago donnant à l'insecte son aspect définitif (**Fig. 11**) (**Medori & Colin ., 1982**), il détruit l'opercule avec ses mandibules afin de sortir de la cellule (**Pedigo ., 2002**).

Figure 11 : Jeune Abeille sortant de l'alvéole (**Alphandery., 1992**).



I .4. 2. Anatomie des abeilles :

L'abeille est phylogénétiquement beaucoup plus proches des fourmis que des guêpes (**Johnson et al., 2013**). Elle est apparue il y a 45 millions d'années nettement avant l'homme (**Daniel., 1983**).

I.4.2.1. Morphologie externe :

Du point de vue morphologique, le corps d'abeille se divise en trois parties : La tête, thorax et l'abdomen (**Fig. 12**). Il est entouré par une cuticule, une membrane externe de nature chitineuse dure formant un exosquelette recouvert de poils et renfermant différents organes vitaux (**Varazze., 2007; Bieri., 2010**).

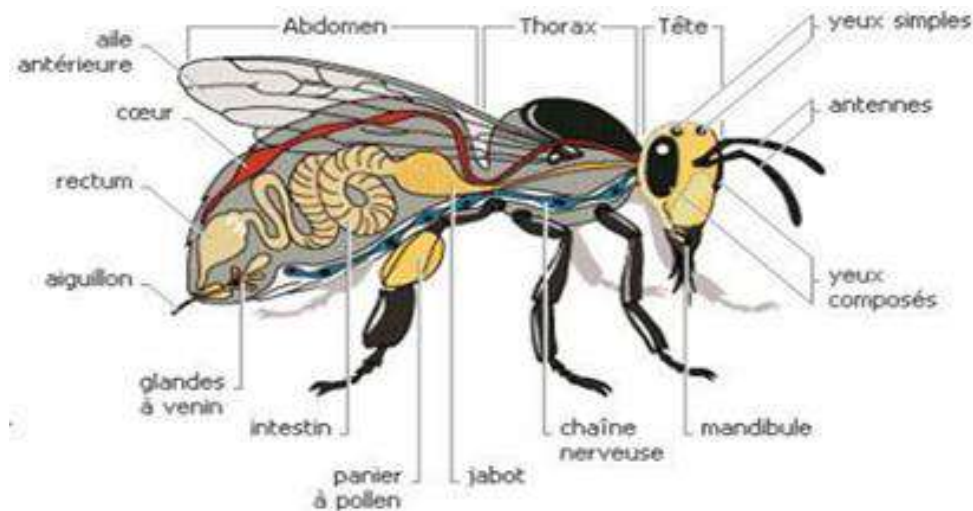


Figure 12 : Morphologie externe de l'abeille femelle adulte (**Hannebelle., 2010**)

A) La Tête :

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

B) Le Thorax :

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

C) L'abdomen :

C'est la partie la plus grosse de l'abeille, Il est composé de 7 anneaux mobiles qui peuvent s'allonger suivant le besoin (**Frères et Guillaume., 2011**). Il renferme les systèmes

respiratoire, circulatoire, digestif, et un certain nombre de glandes. Il se termine par l'appareil vulnérant, l'appareil reproducteur et le rectum (Winston, 1993).

I.4.2.2. Anatomie interne :

A) Appareil respiratoire :

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

B) Appareil circulatoire :

Le système circulatoire de l'abeille est un système ouvert caractérisé par l'absence de vaisseaux proprement dit et les organes baignent directement dans l'hémolymphe (Fig. 13). Il est constitué uniquement d'un cœur dorsal et d'une aorte reliant la tête à l'abdomen (Winston, 1993).

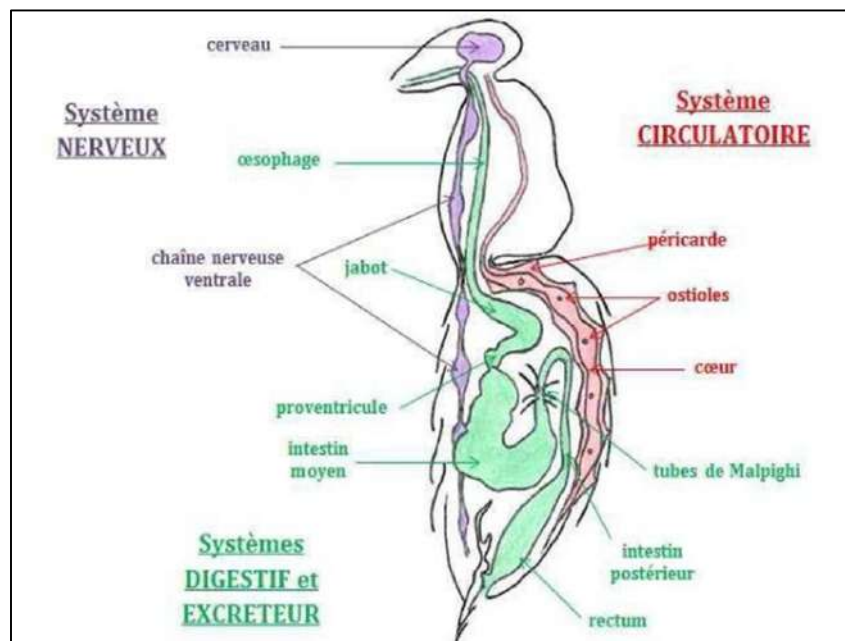


Figure 13 : Schéma de l'anatomie interne de l'abeille adulte (Paillot et al, 1949).

C) Appareil digestif et excréteur :

Le système digestif de l'abeille (Fig. 13) se compose de trois parties : l'intestin antérieur, l'intestin moyen et l'intestin postérieur (Adam., 2010). L'intestin antérieur comprend le pharynx, l'œsophage, le jabot, l'estomac proprement dit (Biri., 2010). D'origine épidermique, l'intestin antérieur est constitué d'un épithélium aplati, recouvert d'une cuticule chitineuse (Faucon., 1992). L'intestin moyen ou ventricule assure la digestion, et

l'absorption, l'intestin postérieur composé du duodénum et du rectum. Le rectum est également extensible pour pouvoir stocker les excréments. Le système excréteur de l'abeille n'est pas composé de reins, mais de tubes de Malpighi annexés au niveau du pylore (Winston., 1993).

D) Système nerveux :

Le système nerveux de l'abeille (Fig. 13) est constitué de deux ensembles complémentaires : Le système nerveux central, avec le cerveau et la chaîne nerveuse ventrale (les ganglions) et le système nerveux stomatogastrique (Le conte, 2011).

E) Système endocrinien :

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

F) Systèmes glandulaires :

Le système glandulaire de l'abeille est complexe et varie en fonction de l'âge et du rôle de l'individu dans la ruche. Les principales glandes indépendantes sont présentées dans le tableau ci-dessous (Tab. 02). Malgré de nombreuses recherches, il reste encore chez l'abeille des glandes dont le rôle est inconnu (Prost., 2005).

Tableau 02 : Principales glandes chez l'abeille et leurs fonctions (Spürgin., 2010)

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

I .4. 3. Physiologie de la larve :

I .4. 3.1. 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**), produit plusieurs peptides antimicrobiales (**Ferrandon et al., 2007**), et participe à la detoxification 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, l'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 floculé semblable à des petites vacuoles (Zara et Caetano., 2004).

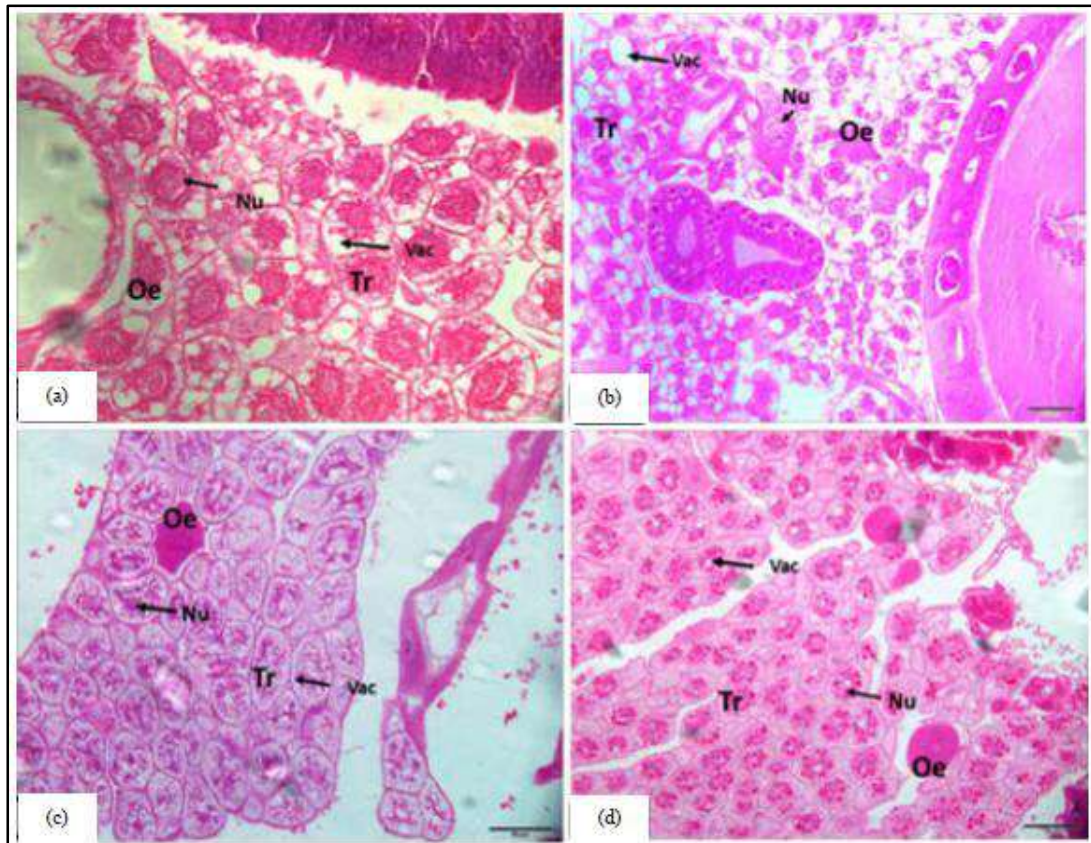


Figure 14 : coupe transversale du corps gras de la larve d'abeille mellifère, (a) larve de reine d'abeille mellifère âgée du 3eme jour (L3) (20 micromètre), (b) larve d'ouvrière d'abeille mellifère du 3eme jour (20 micromètre), (c) larve de reine d'abeille mellifère âgée du 5eme jour (L5) (50 micromètre) et (d) larve d'ouvrière d'abeille mellifère âgée du 5eme jour (L5) (50 micromètre) (Dalal MA., 2018).

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 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 (**Fig. 14**) (**Dalal MA., 2018**).

II. La gelée royale :

La gelée royale est la source d'alimentation de la reine (**Roch Domerego., 2012**) c'est un mélange de sécrétions des glandes hyopharyngiennes et mandibulaires d'abeilles ouvrières, sans aucun additif. C'est un produit exclusivement animal. Elle constitue la nourriture des reines au stade larvaire et au stade adulte. Il s'agit d'un aliment brut et naturel, non transformé (hormis la filtration) et exempt d'additifs. La couleur, le goût et la composition chimique de la gelée royale sont déterminés par l'absorption et la transformation par les abeilles nourries avec les deux types d'aliments suivants pendant la période de production de gelée royale :

- **Gelée royale de type 1** : abeilles nourries uniquement avec les aliments naturels de l'abeille (pollen, nectar et miel).
- **Gelée royale de type 2** : abeilles nourries avec les aliments naturels de l'abeille et d'autres nutriments (protéines, hydrates de carbone, etc.) (**Fayet A., 2015**)

II. 1. Composition de la gelée royale :

La gelée royale est d'origine naturelle, n'est pas standardisée. Elle dépend des conditions environnementales (saison, lieu de récolte, météorologie), des abeilles (**Babin., 2015**).

Tableau 3 : Composition chimique de la gelée royale (variable selon la flore visitée)

Substance	Quantité
protéines (protides)	±15%
sucre (glucides)	±15% (glucose, fructose, sucrose)
graisse (lipides)	±5%
minéraux et oligo-éléments	±0,5 a 1% (potassium, calcium, phosphore, magnésium, fer, cobalt, zinc, cuivre, manganèse, sélénium)
vitamines	A, B dont B1(thiamine), B2 (Riboflavine), B5 en très forte concentration, B6 Pyridoxine, B12, C, E, H (Biotine), 00(Ac. Nicotinique), Ac Pantothénique, Ac Folique, Inositoll'
acides aminés	l'acide glutamique, l'acide aspartique, l'acide butyrique, l'alanine, la sérine, la glycine, l'arginine, la proline, l'histidine, la tyrosine, la taurine, hydroxyproline, l'asparagine, la cystine, la méthionine, la glutamine, la leucine, la valine, l'isoleucine, la thréonine, la lysine, la tryptophane, la beta-alanine, la phénylalanine.
acides décanoïque	(antibiotique naturel)
acétylcholines	±1% forte concentration neurotransmetteur nécessaire au bon fonctionnement du système nerveux et de la mémoire
gamma globuline	(combat les infections et stimulation de l'immunité)
eau	±65%
substances non déterminé	faible pourcentage

II. 2. Processus de production de la gelée royale :

La gelée royale est une substance blanche ou jaune clair, fortement acide, sécrétée par les jeunes abeilles nourricières. Dans la ruche, ces abeilles produisent et distribuent la gelée royale toute leur vie, de l'éclosion jusqu'au stade nymphale (**Prost., 1987**).

La gelée royale est une substance élaborée par des glandes spéciales que l'on trouve par paires à droite et à gauche de la tête (**Daniele & Casabianca., 2012**). Les cellules royales

ne sont produites que lorsque la reine doit être remplacée à cause de l'essaim, ou parce que la reine s'impose, ou simplement parce que la reine est morte. Mais en dehors de ces trois cas, il n'y a pas de réserve de gelée royale dans la ruche, sauf la ruche ouvrière, qui a très peu de gelée royale.

La gelée royale est un aliment essentiel pour décider si les œufs fertilisés deviennent des reines ou des abeilles ouvrières au début des stades larvaires, Ceci est accompli par modification de l'état épigénétique du génome et de l'expression des gènes qui entraîne le développement de la morphologie génétique.

II. 3. Normes de qualité de la gelée royale :

II. 3. 1. Définition de la qualité :

Selon **ISO, 2016** la qualité est l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un service ou d'un produit qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites. Elle concerne la sécurité alimentaire, l'application des règlements d'hygiène, le respect des normes et la satisfaction des clients sur les produits qu'ils consomment.

II. 3. 2. Définition d'une norme

D'après **ISO, 2016** la norme c'est un document établi par consensus et approuvé par un organisme reconnu, qui fournit, pour des usages communs et répétés, des règles, des lignes directrices ou des caractéristiques, pour des activités ou leurs résultats garantissant un niveau d'ordre optimal dans un contexte donné.

II. 3. 3. Enjeux qualité de la gelée royale :

Lors de l'élaboration de la norme **ISO 12824**, un des principaux enjeux était de créer une définition objective et commune de la gelée royale. Les experts se sont entendus sur la définition suivante : « mélange de sécrétions des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires d'abeilles ouvrières, sans aucun additif ». Sur cette base, les deux types de gelée royale cités en sus (Type 1, Type 2), ont été classés (**ISO, 2016**).

II. 3. 4. Les critères physico-chimiques de la gelée royale :

La norme **ISO 12824** spécifie les exigences de production et les règles sanitaires pour la gelée royale et établit une série de méthodes d'analyses organoleptiques (sensorielles) et chimiques pour contrôler la qualité de deux types de gelée royale. Elle spécifie également les exigences de transport, de stockage, d'emballage et d'étiquetage de la gelée royale. La

présente norme internationale s'applique à la production de gelée royale (récolte, traitement préliminaire et emballage) et aux liens commerciaux. Elle ne s'applique pas aux produits à base de gelée royale dans lesquels d'autres aliments sont mélangés (ISO, 2016).

II. 3. 5. Les vertus de la gelée royale :

La gelée royale est utilisée tantôt comme stimulant, tantôt comme médicament (Viuda-Martos *et al.*, 2008). De nombreuses vertus lui sont classiquement attribuées même s'il est parfois difficile de démêler les effets véritables de ce qui résulte de la croyance. Elle serait revitalisante (Kamakura *et al.*, 2001), euphorisante (Batchelder., 2002) et améliorerait l'immunité. Par conséquent, elle est généralement utilisée pour traiter les états de fatigue physique ou psychique, sous forme de cures. On la trouve telle quelle ou en mélange avec du miel. Elle a également des utilisations en cosmétologie. Dans le secteur vétérinaire, son effet potentiel a très peu été étudié. Elle a été testée pour le traitement d'ulcères gastriques (Belostotskiï., 2008) de rats, pour diminuer le prurit dans le cadre de dermatite allergique (Yamaura *et al.*, 2013) ou encore pour améliorer la fertilité de brebis (Husein & Haddad., 2006).

MATERIEL

&

METHODES

Le but de cette étude est de comparer les paramètres qui engendrent l'acheminement de la gelée royales (pondéraux et morphométriques) chez les abeilles nourrices d'*Apis mellifera intermissa* dans le cas où celles-ci acceptent d'élever des larves (futurs reines) de deux races différentes, à savoir *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*.

Les manipulations comportementales (dans des conditions naturelles) ont été réalisées au niveau du rucher de Monsieur Malki (El afroun, Blida), et celle des conditions expérimentales entre le laboratoire de zoologie de l'université Djilali BOUNAAMA de Khemis-Miliana et le laboratoire d'anatomie pathologique de Ain-defla, et cela pour la période de Mars et Juin 2022.

I. MATERIEL :

I. 1. Matériel Biologique :

La période d'étude coïncide avec l'activité de ponte des reines d'abeilles. Cet insecte est choisi pour ses qualités métamorphiques, où nous pouvons prendre comme échantillons des individus adultes (nourrices) et des larves. Il faut rappeler que pendant cette durée la larve d'abeille subit 5 mues pour rentrer dans la phase de nymphose.

Quant à la récupération de la gelée royale, elle se fait à partir des cupules d'élevage 03 jours après le greffage (technique utilisée pour l'élevage des abeilles reines).

I. 2. Matériel non biologique :

I. 2.1. Equipement et instruments :

- ✓ Appareil photo numérique *CANON*
- ✓ Bec benzène
- ✓ Agitateur
- ✓ Microscope photonique *motic*
- ✓ Lames et lamelles
- ✓ Papier filtre
- ✓ Pipette pasteur
- ✓ Epruvette graduée
- ✓ cristallisoirs en verre
- ✓ Balance de précision
- ✓ Micropipette
- ✓ Bécher

- ✓ passoire
- ✓ Thermomètre
- ✓ Trousse de dissection
- ✓ Bain marrie
- ✓ Loupe binoculaire.

I. 2. 2. Produits et solutions :

Tableau 04 : Produits chimiques utilisés

Produits histologiques	Constitution de Hématoxyline-éosine	Colorant Giemsa
<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"> ▪ NaCl, ▪ KCl, ▪ Na₂HPO₄, ▪ KH₂PO₄

I. 3. Programmes informatiques :

- ✓ XLSTAT 2017.
- ✓ Excel 2010 de *Microsoft*.
- ✓ Axio Vision 4.8 de *CARL ZEISS*.

II. METHODES :

II. 1. Dans des conditions naturelles :

Nos échantillons de larves et de gelée royale ont été récupérés à partir du rucher d'élevage apicole de Monsieur Malki, là où la technique de greffage royal est très utilisée et maîtrisée depuis longtemps par des professionnels. Ce rucher se caractérise par la présence des colonies d'abeilles autochtones (*A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*), d'où la possibilité de faire des expériences sur les deux races in situ.

Il faut rappeler que la technique de l'élevage de reines (greffage) consiste à mettre les abeilles dans des conditions d'orphelinage de manière à ce qu'elles acceptent d'élever une ou plusieurs reines. Cette technique a été choisie parce qu'elle permet l'observation pratique des

larves (en temps et en espace) et en dehors de l'influence des phéromones royales. Seules celles de couvain sont perçues par les ouvrières nourrices.

Cette méthode consiste à partager une colonie d'abeilles en deux compartiments par une grille à reine (**Fig. 15**) : une orpheline (B), prête à recevoir les larves à élever, et une autre partie contenant le reste de la colonie avec la reine (A). Après préparation de la colonie éleveuse, on procède au greffage des larves. Il s'agit de transporter une jeune larve d'ouvrière âgée de 1 à 2 jours, de sa cellule vers une cupule de cire de dimensions similaires à celles d'une cellule royale. La cupule est préalablement fixée sur une « baguette d'élevage », elle-même placée dans un « cadre d'élevage ».

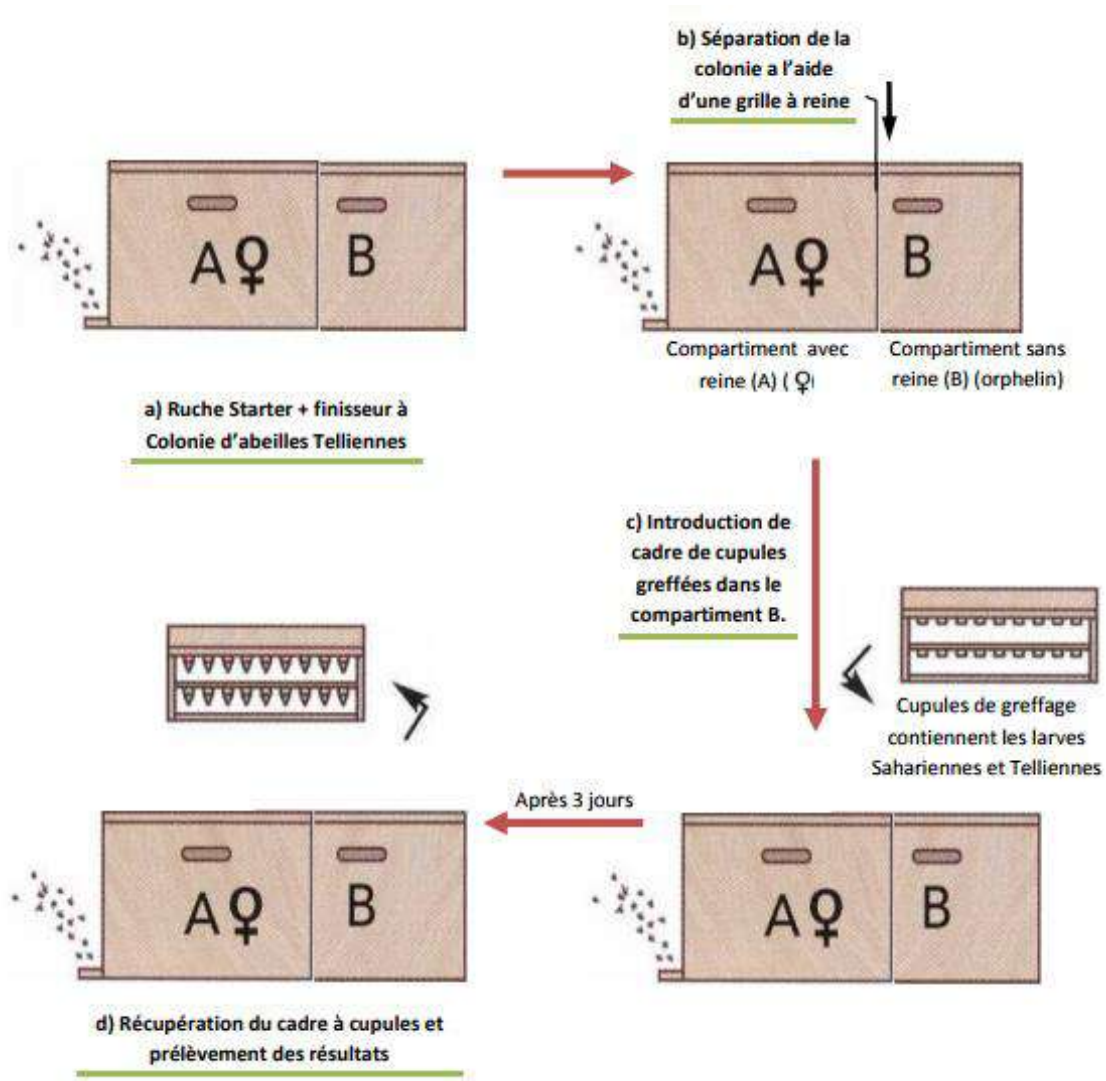


Figure 15 : Différentes étapes de la technique adoptée pour l'élevage des reines (greffage).

Dans notre étude, nous essayerons d'introduire les deux races de larves (*A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*), dans une ruche éleveuse d'*Apis mellifera intermissa*. Après

trois jours, nous récupérons et les larves et la gelée royale qui s’y trouve (**Fig. 16**), ainsi que de jeunes abeilles nourrices (celles qui produisent la gelée royale).

Tous les échantillons prélevés sont pesés, photographiés et préparés soit à la dissection ou à l’analyse histologique.



a) Introduction du cadre de greffage royal.



b) Récupération après Trois jours du cadre de greffage royal.



c) Cadre de greffage montrant le taux d'acceptation des cellules royales.

Cadre d'élevage

Cellule royale non acceptée.

Cellule royale acceptée.

Barrettes de cellules royales artificielles



Cupule royale

Larve reine (3 jour)

Lit de gelée royale

d) Coupe transversale de cellule royale contenant une larve de 3 jours sur un lit de gelée royale

Figure 16 : Acceptation des larves royales et pesée de larves et de gelée royale

Les larves sont alors divisées en deux lots :

- ✓ Un lot (TT) de la race d'abeille *A. m. intermissa* récupéré avec de la gelée royale sur la ruche élèveuse de la race *A. m. intermissa*
- ✓ Un lot (TS) de la race d'abeille *A. m. sahariensis* récupéré avec de la gelée royale sur la ruche élèveuse de la race *A. m. intermissa*

II. 1. 1. Etude biométrique :

Avant de prélever délicatement les larves grâce à une pince souple, nous nous assurons de prendre note sur le taux d'acceptation du greffage (les larves que les nourrices ont accepté d'élever comme futures reines). Leur pesée se fait sur une balance de précision, et sous une loupe binoculaire elles seront prises en photos (**Fig. 17**).



Figure 17 : Pesée des larves et prise de photographies sous la loupe binoculaire.

Les mesures sont faites grâce au logiciel Axio Vision 4.8 de *CARL ZEISS*. 30 mesures sont faites sur des larves. Nous avons pris comme paramètres morphométriques, le poids, la taille et la surface larvaire. 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 deux 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 une image (2D) de la larve.

II. 2. Dans des conditions expérimentales :

II. 2. 1. Dissection et coloration des glandes hypopharyngiennes des nourrices :

Les nourrices sont prélevées directement de la ruche élèveuse, cela veut dire qu'elles appartiennent à la race tellienne. Cette manipulation consiste à récupérer des données morphométriques sur les acini des glandes hypopharyngiennes (lieu de synthèse de gelée royale) au niveau de la tête des nourrices, en faisant des coupes histologiques.

10 nourrices sont sélectionnées avec 30 mesures des acini des glandes hypopharyngiennes. Les mesures sont faites grâce au logiciel Axio Vision 4.8 de *CARL ZEISS*.

Les larves des deux races déjà prélevées de cet élevage sont traitées de la même manière (histologique) afin de prendre des mesures cellulaires.

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 et les têtes des nourrices sont ensuite lavées pendant 24 heures à l'eau courante afin d'éliminer l'excès de liquide fixateur (**Fig. 18a**).

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. 18b**).

II. 1.3. Eclaircissement :

L'éclaircissement a pour but d'éliminer complètement les traces d'alcool, pour cela nos échantillons sont plongés dans deux bains de butanol de 90 minutes chacun (**Fig. 18b**).

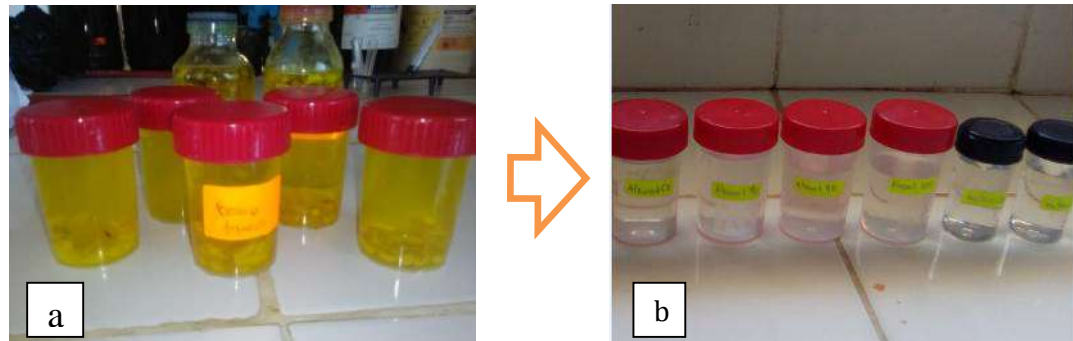


Figure 18 : Fixation, déshydratation et éclaircissement des larves d'abeilles

II. 1.4. Inclusion :

Dans cette étape, le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine. Les échantillons sont plongés dans la paraffine fondue en étuve réglée à la température de fusion (60°). Ils sont ensuite mis 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. 19a**).

II. 1.5. Mise en bloc :

Après la préparation des matériels utilisés pour la mise en bloc, les larves et les têtes sont prélevés 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) placés sur une plaque en verre. Avant le durcissement de la paraffine, nous étiquetons nos échantillons du côté opposé à celui où s'effectuera la coupe (**Fig. 19b**).

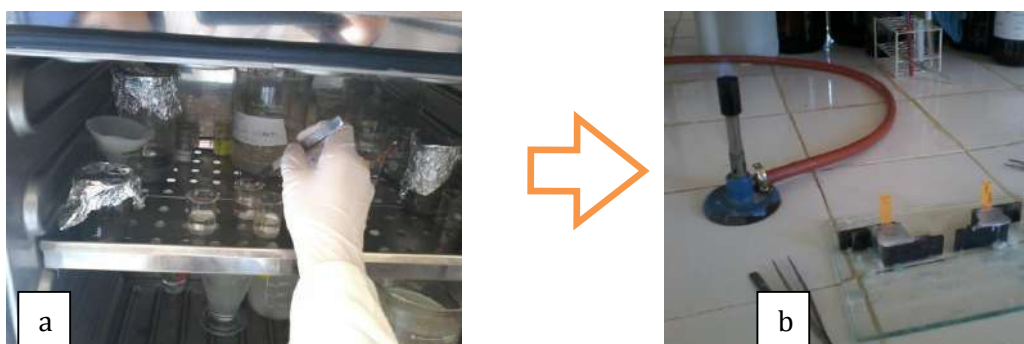


Figure 19 : Inclusion et la mise en bloc.

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 μ m d'épaisseur sont étalées, sur des lames en verre en utilisant l'eau gélatinée 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 (**Fig. 20**).



Figure 20 : Microtomie et l'étalement des coupes histologiques.

II. 1.7. Coloration :

La coloration entreprise dans le cadre de notre travail est :

- ✓ Hématoxyline éosine (coloration topographique).

Avant la coloration, les larves et les têtes 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 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.

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.

II. 2. Etude morphométrique :

- ✓ L'étude biométrique des larves d'abeille telliennes et sahariennes et les têtes des abeilles nourrices telliennes est complétée par une étude morphométrique pour mieux exploiter nos résultats. Cette étude est réalisée à l'aide d'un outil informatique, Axio Vision 4.8 de *CARL ZEISS*.

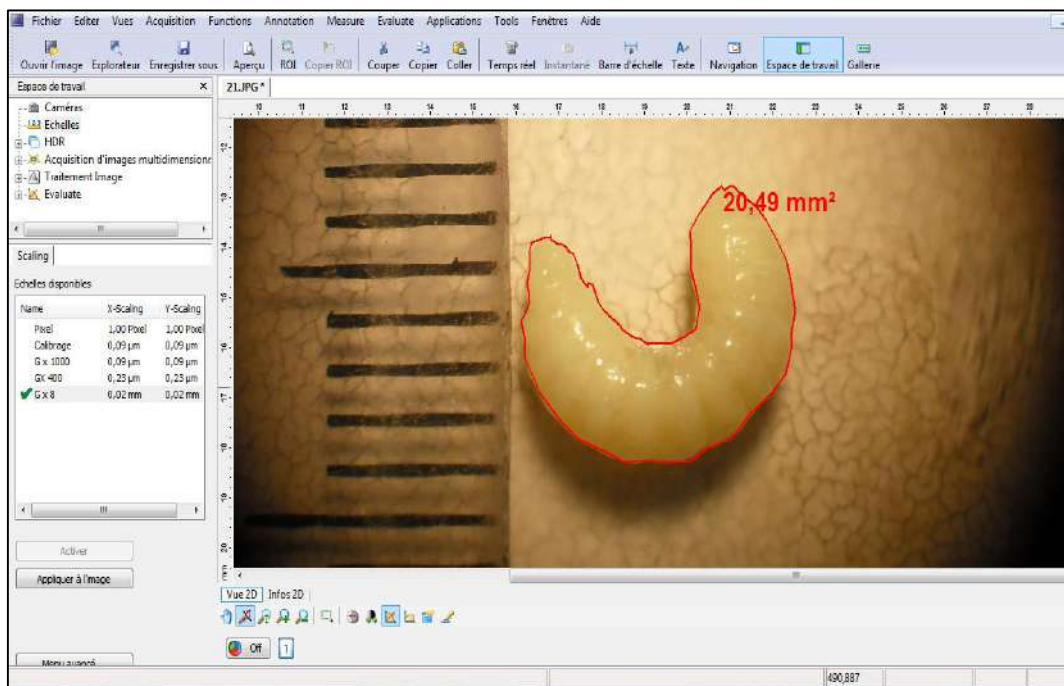


Figure 21 : Etude morphométrique des larves d'abeilles grâce à l'ImageJ 1.47.

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. 21**).

Les coupes histologiques de nos échantillons ont aussi subi une étude morphométrique. Cette étude est réalisée à l'aide d'Axio Vision 4.8 de CARL ZEISS (**Fig. 22**). Ces mesures ont été effectuées sur la base de quelques paramètres cellulaires des structures du tissu adipeux :

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

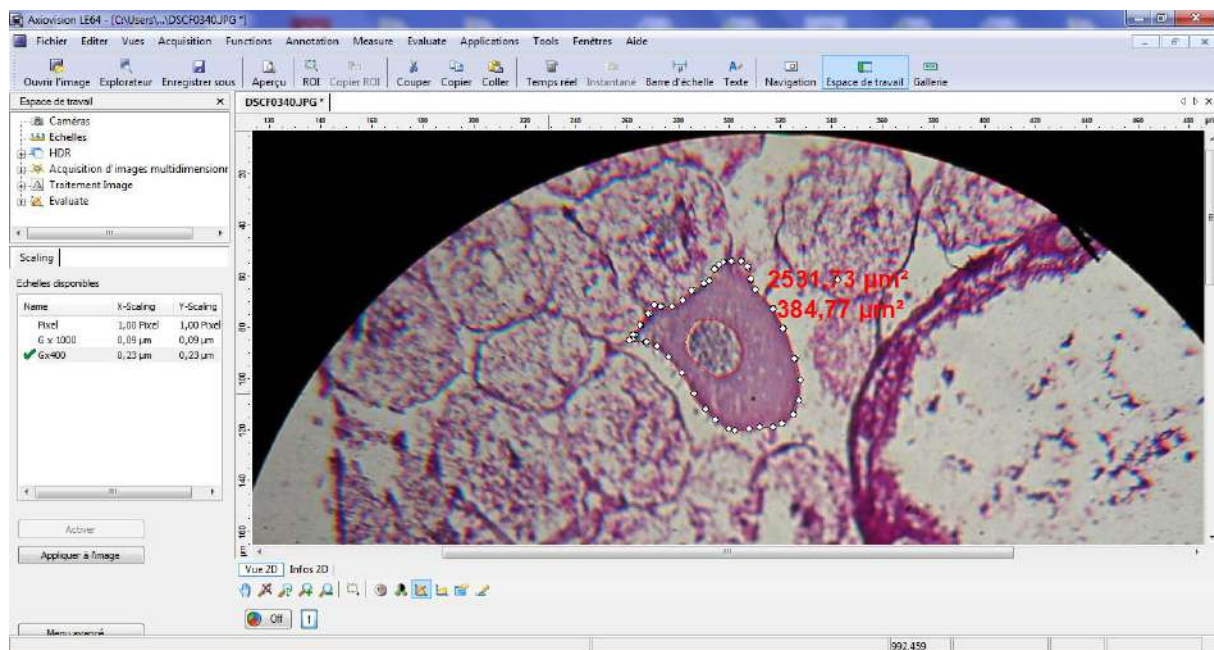


Figure 22 : Etude morphométrique des cellules oenocytaires à l'aide d'un outil informatique, Axio Vision 4.8 de CARL ZEISS.

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 (tellienne greffée sur une tellienne (TT) et Saharienne greffée sur une tellienne (TS)) avec un niveau de signification statistique fixé à $p < 0,05$. Et aussi les tests de corrélation simple entre les différents paramètres morphométriques.

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

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

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

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

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

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

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

$N-1$: 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

I. RESULTATS

I. 1. Etude en conditions naturelles :

I. 1. 1. Taux d'acceptation :

Notre technique de greffage consistait à introduire des larves à bas âge (72 heure) de deux races d'abeilles différentes dans une ruche orpheline (sans reine), afin que les abeilles nourrices de cette dernière puissent les élever et les préparer à devenir des reines. Selon les courbes d'acceptation (**Fig. 22**), ces nourrices telliennes ne font pas de grande différence entre le choix d'élever des larves royales de leur propre espèce ou d'une autre. L'évolution des taux d'acceptation pour les deux races suit le même tracé régressif jusqu'à l'émergence de jeune reines, sauf que ce taux est **plutôt au profit des larves sahariennes**.

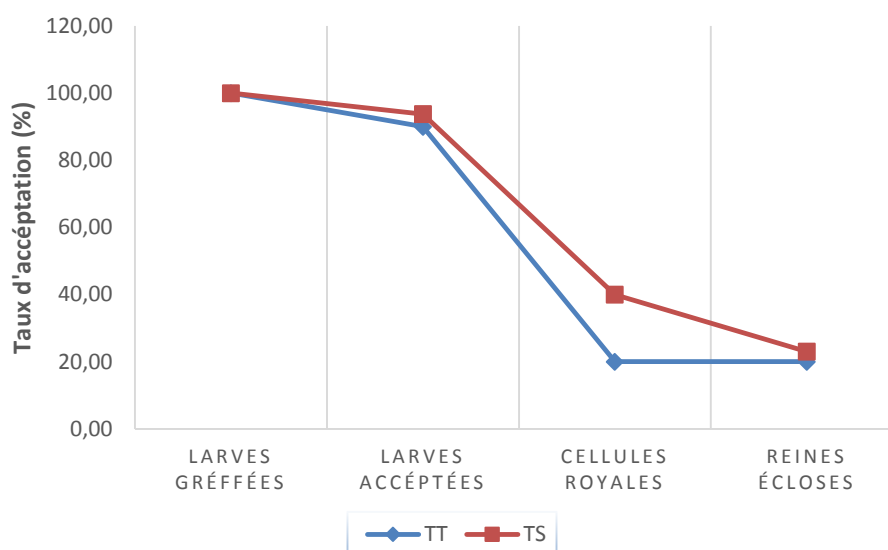


Figure 23 : Comparaison des taux d'acceptation de greffage pour des larves telliennes greffées sur une tellienne (TT), et des larves sahariennes greffées sur une tellienne

I. 1. 2. Morphométrie des larves :

Une première comparaison est à observer entre les deux lots de larves (entre les larves telliennes et sahariennes nourries par des nourrices telliennes) (**Tab. 05**). L'objectif de cette expérience est de relever les données morphométrique et histologique (plus loin) du couvain (larves) des deux races (tellienne et saharienne) qui sont élevées par des nourrices telliennes, et d'observer la repercution de ces données sur le comportement des nourrices (production de gelée royale (quantité versée dans les cupules royales) et morphométrie des glandes hypopharyngiennes (lieu de synthèse de gelée royale)).

Tableau 05 : Mesure des paramètres morphométriques chez les larves d’abeille après greffage.

		Poids (mg)	Surface larvaire (mm ²)	Taille (mm)
TT	Moyenne	0,11	41,73	16,65
	Ecart type	0,05	9,84	2,16
	Min	0,04	19,00	11,97
	Max	0,26	56,81	20,62
TS	Moyenne	0,06	25,60	12,89
	Ecart type	0,02	4,73	1,50
	Min	0,01	17,37	10,65
	Max	0,09	30,95	14,92

Les mesures que nous avons effectuées sur le poids, la taille et la surface des larves montrent qu’il y’a :

- ✓ Une différence statistiquement non significative ($P = 0,35$) du paramètre poids, et pourtant l’écart est si considérable que les larves sahariennes ont perdues 45,45% de leurs poids par rapport aux telliennes.
- ✓ Une diminution non significative de 38,52 % de la surface des larves sahariennes est à observer, où p est égal à $P = 0,17$.

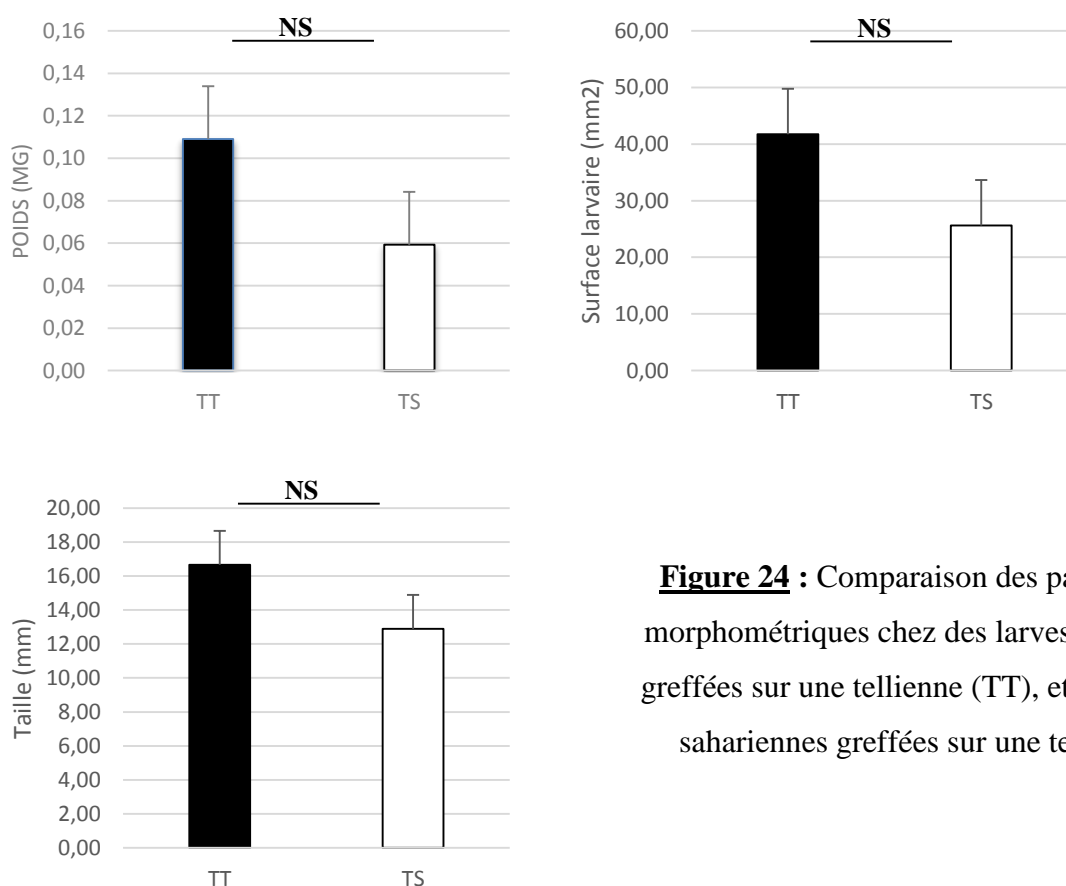


Figure 24 : Comparaison des paramètres morphométriques chez des larves telliennes greffées sur une tellienne (TT), et des larves sahariennes greffées sur une tellienne.

- ✓ Une dernière différence encore non significative ($P < 0,0001$) de 22,51 % de la taille larvaire toujours au profit des larves sahariennes. Le p value est égal à 0,19.

Les résultats montrent bien qu'il y'a une sorte de détachement entre la morphométrie des larves telliennes et sahariennes (**Fig. 24**) sans aucune différence significative. Cela peut sous-entendre que les deux échantillons ne sont pas distribués de la même manière.

En vue d'établir les interactions qui existent entre les différents paramètres morphométriques, le coefficient de corrélation simple (Pearson) a été calculé (annexe).

Chez le groupe (TT), tous les paramètres morpho-métriques présentent un rapport positif entre eux-mêmes. Ce rapport est plus intense quand le paramètre taille se croise avec la surface larvaire. Par contre, le poids fluctue par rapport aux paramètres linéaires chez les deux groupes.

La même corrélation est à lire chez le lot TS, mais la corrélation qui existe entre le poids-surface, poids-taille s'intensifie plus chez ce lot.

Il y'a bien eu acceptation des larves greffés (futurs reines) des deux races. Les nourrices telliennes ont bien voulues nourrir les larves de leur espèce et d'une espèce différente, sauf que cette acceptation se répercute négativement sur la race saharienne, où le poids et le volume de ces individus était moins imposant.

I. 1. 3. Evolution du facteur pondéral :

Les résultats des trois stades d'évolution de nos deux races greffées semblent indiquer que le poids suit une **cinétique identique (Fig. 25)**. Effectivement, les larves devenues nymphes (après fermeture des alvéoles royales) gagnent du poids (grâce à la gelée royale laissée au fond des alvéoles), ce poids diminue après l'émergence des reines (après consommation de tous les réserves de gelée et l'énergie fournie pendant la période de la métamorphose).

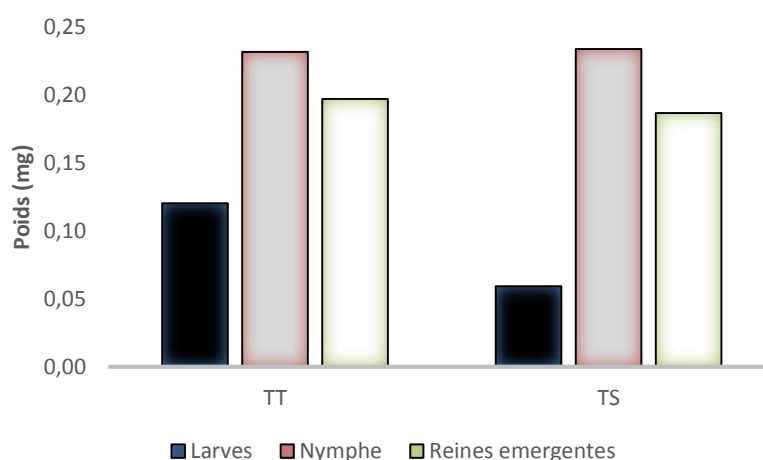


Figure 25 : Comparaison du poids des stades de l'évolution de l'abeille dans les deux situations de greffage (telliennes greffées sur une tellienne (TT), sahariennes greffées sur une tellienne (TS))

I.2. Quantification de la gelée royale :

La gelée royale est récupérée au niveau des cupules larvaires des deux sous espèces d'abeille (*A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*), après trois jours d'élevage (**Tab. 06**). Cette substance a été pesée et comparée avec le poids des larves qui s'y trouvaient (**Fig. 26**). Il est à rappeler que cette gelée est déposée par les nourrices de l'abeille tellienne dans les cupules d'élevage des deux races.

Tableau 06 : Mesure des paramètres pondéraux chez les larves d'abeille après greffage.

		Poids (mg)	Quantité de Gelée royale (mg/cup)
TT	Moyenne	0,11	0,32
	Ecart type	0,05	0,06
	Min	0,04	0,21
	Max	0,26	0,46
TS	Moyenne	0,06	0,44
	Ecart type	0,02	0,03
	Min	0,01	0,40
	Max	0,09	0,50

Les mesures que nous avons effectuées sur le poids et la quantité de gelée royale déposée par les abeilles nourrices montrent qu'il y'a :

- ✓ Une différence statistiquement non significative ($P = 0,35$) du paramètre poids, et pourtant l'écart est si considérable que les larves sahariennes ont perdues 45,45% de leurs poids par rapport aux telliennes.

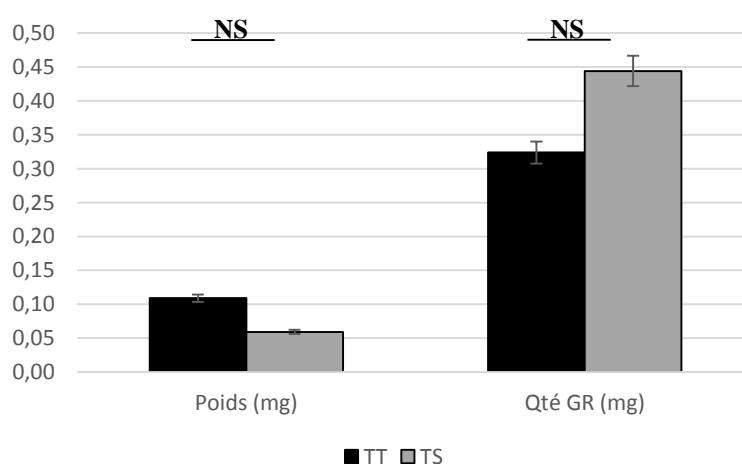


Figure 26 : Comparaison des gelées royales fournies par les nourrices telliennes aux deux races de larves tellienne (TT) et saharienne (TS) et leur poids.

- ✓ Une augmentation non significative de 27,27 % de la quantité de gelée royale déposée par les nourrices telliennes au niveau des cupules larvaires sahariennes ($p = 0,14$).

Les résultats montrent bien qu'il y'a une petite différence entre la gelée royale déposée chez les larves sahariennes par rapport aux larves telliennes (**Fig. 26**). Cette différence est relative aux poids des larves.

Effectivement, en observant les courbes de l'évolution du poids larvaire par rapport à la gelée digérée, nous remarquons que plus le paramètre pondéral augmente plus la gelée diminue et cela chez les deux races (**Fig. 27, 28**). Cette relation est moins importante chez la saharienne.

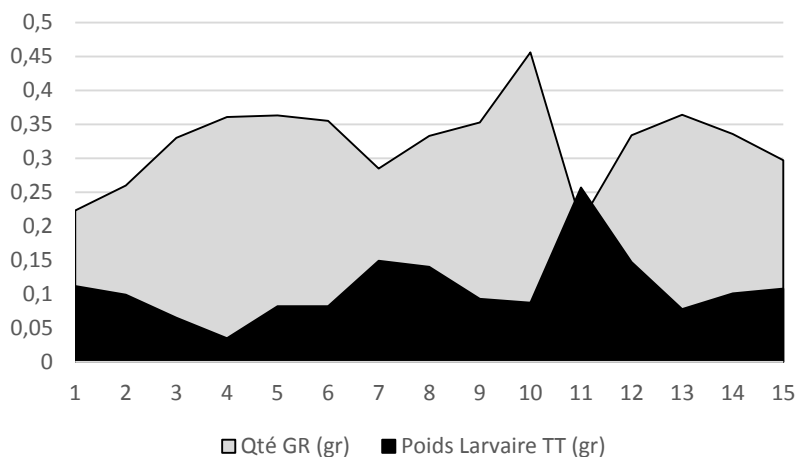
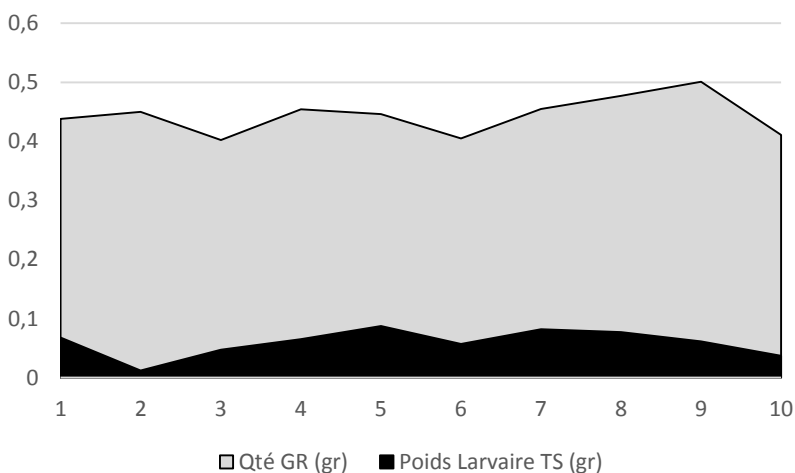


Figure 27 : Evolution du poids larvaire de l'abeille tellienne par rapport à la gelée royale déposée par les nourrices telliennes.

Figure 28 : Evolution du poids larvaire de l'abeille saharienne par rapport à la gelée royale déposée par les nourrices telliennes.



Le coefficient de corrélation calculé entre le poids larvaire et la quantité de gelée royale déposée par les nourrices telliennes pour les larves telliennes est de (- 0,6). C'est un rapport négatif et important, qui confirme les résultats des courbes d'évolution. Ce rapport chez les larves sahariennes est proche de zéro ($R = 0,3$).

I.2. Résultats histologiques :

La partie histologique s'intéresse à une comparaison morphométrique de différentes structures cellulaires trouvées chez les abeilles nourrices telliennes et les larves des deux races élevées, à savoir, *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*.

Pour cela, nous avons utilisé des colorations topographiques 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.

I.2.1. Histologie des glandes hypopharyngiennes des nourrices telliennes :

a) Au faible grossissement

L'observation des coupes histologiques frontales à faible grossissement des glandes hypopharyngiennes des nourrices telliennes colorées à l'hématoxyline-éosine montre que ces glandes sont situées de part et d'autre du cerveau sur la face frontale de la tête entre les yeux composés. Ces glandes sont composées d'un ensemble d'acini (petits corps ovales) reliés à un canal central par des conduits axiaux qui et forment à l'état anatomique des grappes.

b) Au fort Grossissement

Chaque acinus est déterminé par 10 à 15 corps cellulaires individuels et est relié au canal collecteur axial par un conduit étroit. Les acini ont un aspect globulaire avec un cytoplasme à apparence vacuolaire c'est-à-dire très riche en vacuoles cytoplasmiques et autres cavités, leur noyau n'est pas visible sur les coupes.

I.2.2. Histologie des larves greffées :

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 l'introduction de races de larves d'abeilles (une apparentée (tellienne) et l'autre différente (saharienne)) dans une ruche éleveuse tellienne, et cela en vue d'obtenir des reines, nous avons pu observer avec l'analyse histologique les points suivant :

- ✓ Augmentation de la surface cytoplasmique chez les différents types de cellules (oénocytes et trophocytes) chez les larves sahariennes.
- ✓ Augmentation du rapport Oénocyte-trophocyte chez ces mêmes larves.

Planche I : Observation et coupes histologiques des glandes hypopharyngiennes des abeilles nourrices telliennes lors d'un élevage mixte.



Figure 1 : Morphologie des glandes hypopharyngiennes d'une abeille nourrice. G. 20.

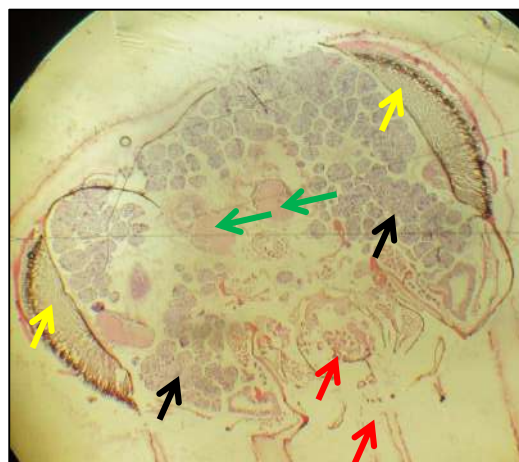


Figure 2 : Coupe frontale de la tête d'une abeille nourrice *Apis mellifera intermissa* dans un élevage mixte. Coloration à l'HE. G. 40.

Sous loupe binoculaire, les glandes hypopharyngiennes ont un aspect en grappe de raisin. La coupe histologique montre les acini (flèches noires) de part et d'autre le cerveau (flèches vertes) et entre les yeux composés (flèches jaunes). L'appareil buccal (flèches rouges).

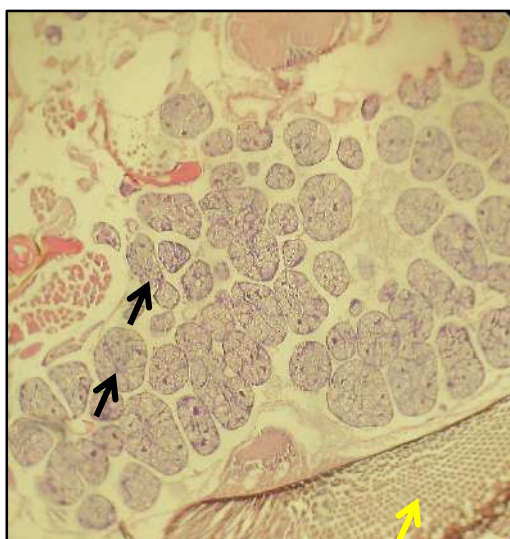


Figure 3 : Coupe frontale de la tête d'une abeille nourrice *Apis mellifera intermissa* dans un élevage mixte. Coloration à l'HE. G. 100.



Figure 4 : Coupe frontale de la tête d'une abeille nourrice *Apis mellifera intermissa* dans un élevage mixte. Coloration à l'HE. G. 400.

Au fort grossissement, chaque acinus (flèches noires) est composé de plusieurs corps cellulaires individuels (flèches bleues). Cette forme arrondie et globulaire est synonyme d'une activité métabolique accrue.

Planche II : Coupes histologiques du Tissue adipeux de larve d'abeille domestique d'*Apis mellifera sahariensis* greffée sur une tellienne

Figure 1 : Coupe longitudinale para-sagittale de larve d'*Apis mellifera sahariensis* greffée sur une tellienne. Coloration à l'HE. G. 40.

A faible grossissement, nous pouvons remarquer le tégument (cuticule (flèches jaunes)), tissu adipeux pariétal (flèches rouges), cerveau (flèches vertes) et tubes de Malpighi (flèches noires).

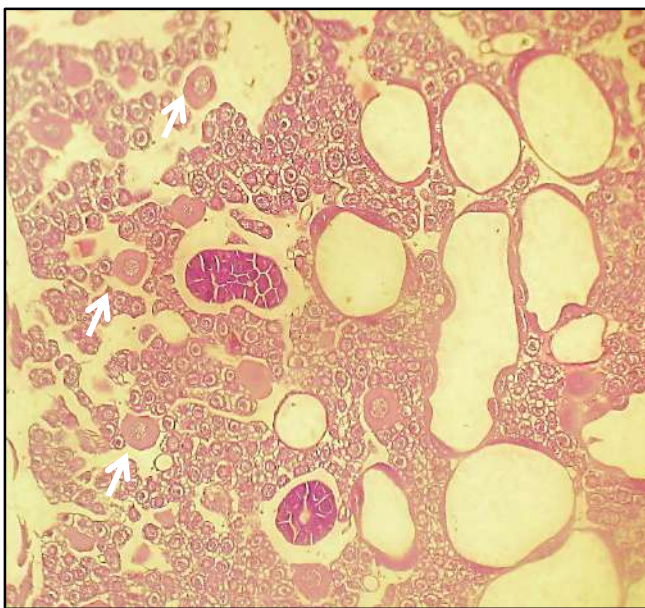
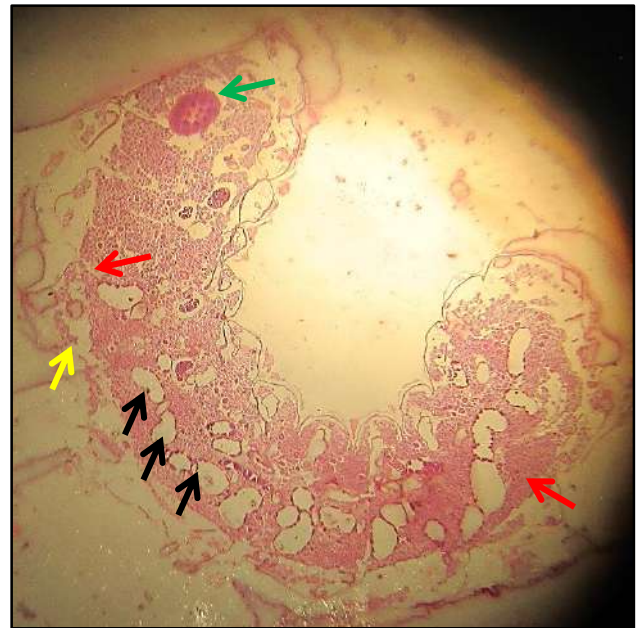


Figure 2 : Coupe longitudinale para-sagittale de larve d'*Apis mellifera sahariensis* greffée sur une tellienne. Coloration à l'HE. G. 100.

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)

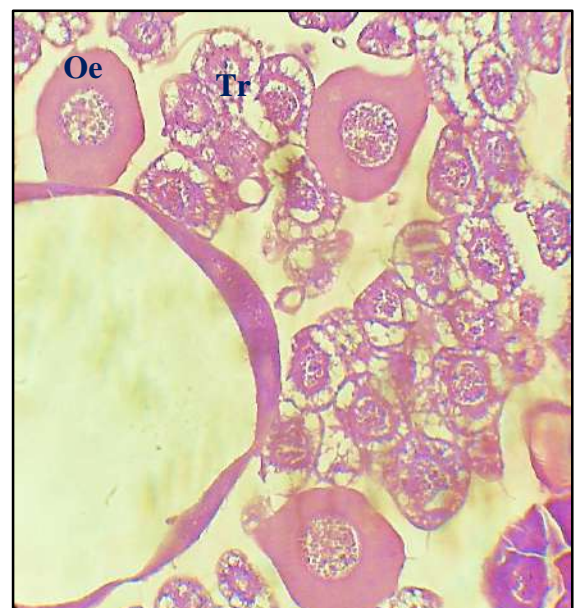


Figure 3 : Coupe longitudinale para-sagittale de larve d'*Apis mellifera sahariensis* greffée sur une tellienne. Coloration à l'HE. G. 400.

I. 3. Morphométrie des coupes histologiques :

Les coupes histologiques nous ont permis de faire des mesures sur deux structures (les acini des glandes hypopharyngiennes et le tissu adipeux chez les larves).

I. 3. 1. Morphométrie des Glandes Hypopharyngiennes :

Il faut rappeler que c'est au niveau des acini des glandes hypo-pharyngiennes des abeilles nourrices que la gelée royale est synthétisée. Les mesures que nous avons effectuées à ce niveau montrent qu'il y'a :

Tableau 07 : Mesure des paramètres morphométriques des acini des glandes hypopharyngiennes chez les nourrices telliennes.

		Surface (x 10 ³ µm ²)	Périmètre (x 10 ² µm)
TT	Moyenne	292,7	25,81
	Ecart type	68,7	7,02
	Min	193,1	22,8
	Max	381,8	29,46
TS	Moyenne	11,56	4,11
	Ecart type	2,9	0,66
	Min	6,71	3,11
	Max	18,32	5,86

- ✓ Une différence statistiquement très significative (P = 0,021) du paramètre surface, et qui représente une diminution de 96 % de la taille des acini quand l'abeille nourrice telliennes s'occupe du couvain d'une autre race (la saharienne).
- ✓ Une différence significative (P < 0,05 du paramètre périmètre des acini au profil du greffage tellien.

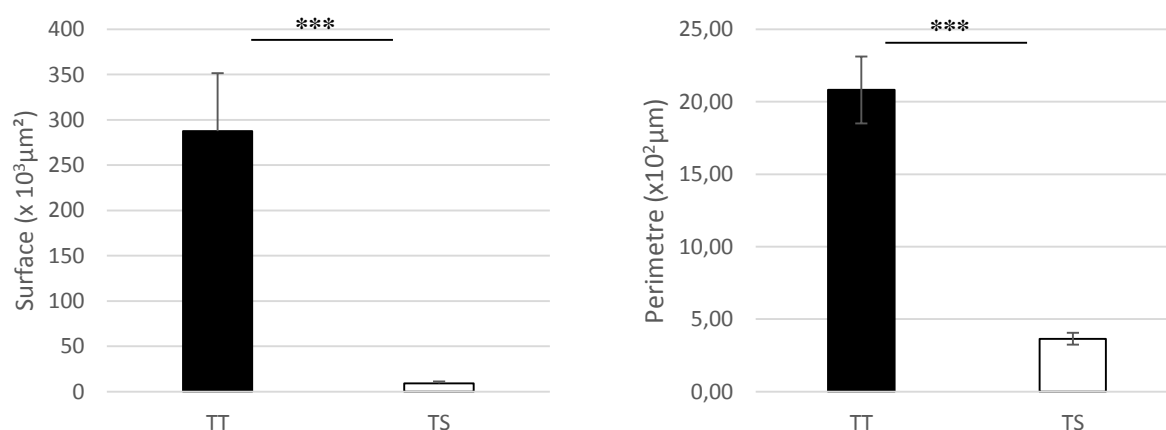


Figure 29 : Comparaison du volume (Surface, périmètre) des acini des glandes hypopharyngiennes chez les nourrices telliennes au niveau du greffage tellien (TT) et saharien (TS).

Le volume des acini est synonyme de leur activité synthétique. Les histogrammes de la surface de ces acini et leur périmètre démontrent bien cette différence, quand les nourrices telliennes alimentent les larves de leur espèce par rapport à celles d'une autre.

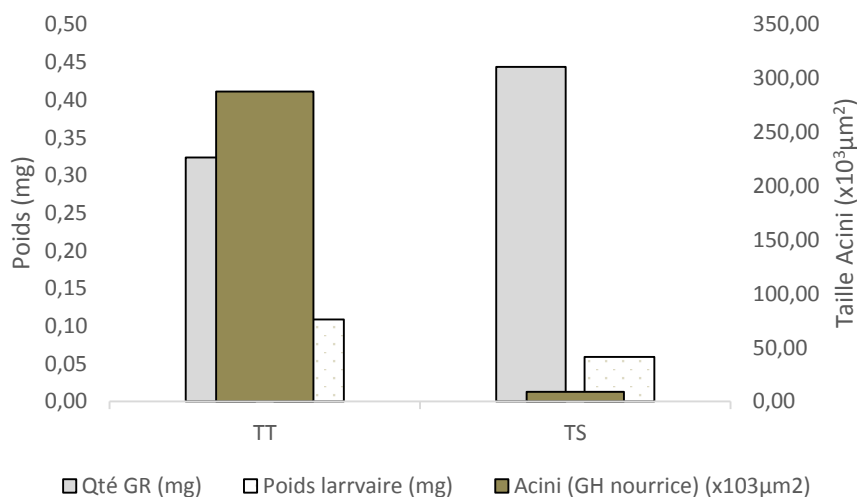


Figure 30 : Comparaison du volume (Surface, périmètre) des acini des glandes hypopharyngiennes chez les nourrices telliennes au niveau du greffage tellien (TT) et saharien (TS).

La figure 30 montre que la gelée royale produite par les nourrices telliennes suit un chemin qui est relatif aux races élevées. Effectivement nous remarquons que les acini des glandes hypopharyngiennes des nourrices telliennes sont volumineux quand il s'agit de nourrir les larves telliennes, et moins pour les larves sahariennes. La gelée royale déposée est tout de suite ingérée par les larves telliennes, ce qui se répercute directement sur leur poids. Par contre, au niveau des cupules sahariennes, le dépôt de la gelée est important à ce niveau, d'où le déficit observé sur le poids de ces dernières.

Cette constatation est consolidée par le coefficient de corrélation (Volume acini – Quantité de gelée déposée) qui est positif chez les larves telliennes et négatif pour les sahariennes. De même pour le rapport (Volume acini – poids larvaire) qui est négatif chez les deux races, mais plus important chez la saharienne.

I. 3. 2. Morphométrie du tissu adipeux chez les larves royales :

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 TT et TS. Les paramètres surface cellulaire, surface nucléaire et le ratio nucléo-cytoplasmique (**Tab. 08**) sont traités statistiquement afin d’établir la relation entre eux.

Tableau 08 : Morphométrie de certains paramètres des cellules oenocytaires des larves au niveau du greffage tellien (TT) et saharien (TS).

		Surface cellulaire (µm ²)	Surface nucléaire (µm ²)	Rapport nucléo-cytoplasmique
TT	Moyenne	2602,63	644,78	0,25
	Ecart type	436,43	154,71	0,05
	Min	1837,76	510,40	0,19
	Max	3349,14	974,10	0,33
TS	Moyenne	3563,38	798,39	0,22
	Ecart type	469,12	209,69	0,05
	Min	2751,87	418,06	0,15
	Max	4325,74	1127,55	0,31

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 apparentées montrent par rapport aux larves de l’autre race :

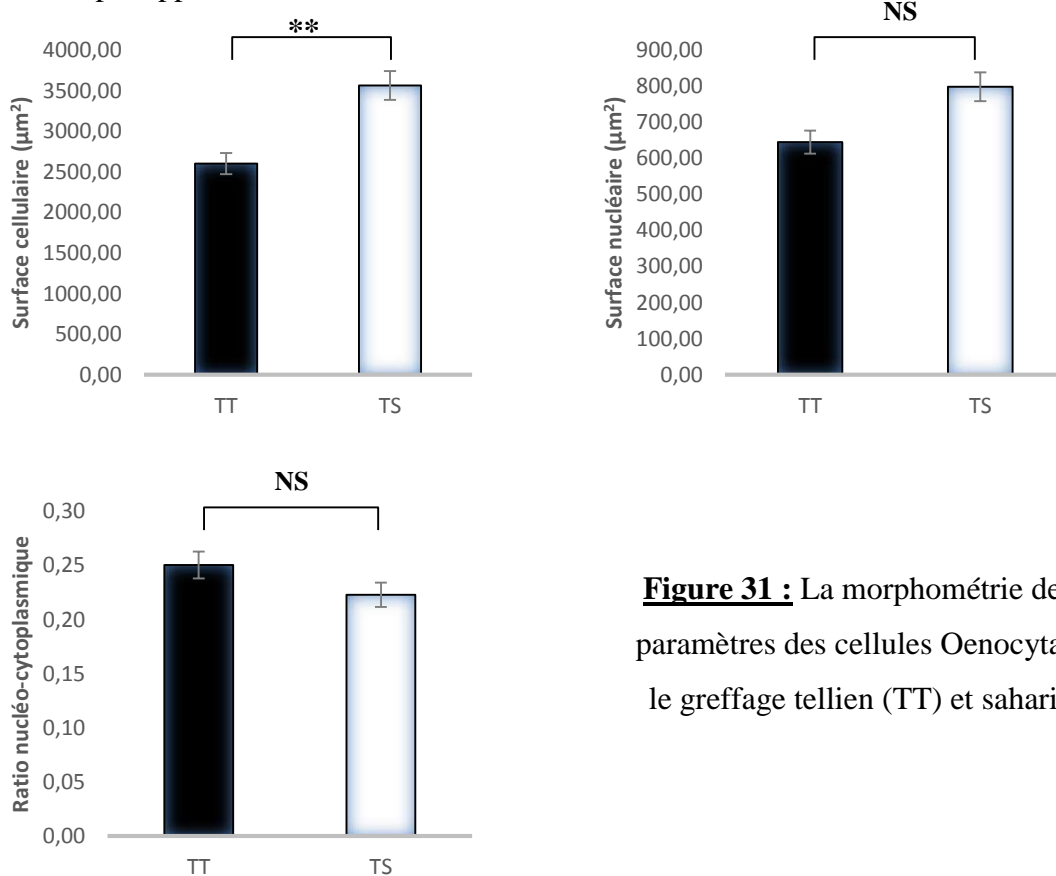


Figure 31 : La morphométrie de certains paramètres des cellules Oenocytaires chez le greffage tellien (TT) et saharien (TS).

- ✓ Une augmentation significative ($p = 0,034$) de 36,91 % de la surface des cellules ($2602,63 \pm 436,43 \mu\text{m}^2$ vs $3563,38 \pm 469,38 \mu\text{m}^2$),
- ✓ Une augmentation non significative ($p = 0,37$) de 23,42 % de la surface nucléaire, mais qui reste quand même importante.
- ✓ Une diminution non significative ($p = 0,348$) de 13,64 % du ratio nucléo-cytoplasmique ($0,25 \pm 0,05$ vs $0,22 \pm 0,05$).

Notons qu’après la période de greffage, les cellules oenocytaires des larves sahariennes ont subi une augmentation dans leur taille sans que leurs noyaux ne changent. Et si le rapport nucléo-cytoplasmique diminue cela veut dire que la surface cytoplasmique a augmentée. Il est connu que les oenocytes sont aussi impliquées dans la production et le stockage des lipides et les lipoprotéines (abondance des REL et des vacuoles de stockage). Une telle augmentation dans la surface du cytoplasme laisse prédire qu’il y a emmagasinage des réserves et activité accrue dans un environnement non apparenté.

b) Morphométrie des Trophocytes :

La mesure d’une trentaine de cellules est faite à partir des lots TT et TS. Les paramètres surface cellulaire, surface nucléaire et le ratio nucléo-cytoplasmique (**Tab. 09**) sont traités statistiquement afin d’établir la relation entre eux.

Tableau 09 : Morphométrie de certains paramètres des cellules trophocytaires des larves au niveau du greffage tellien (TT) et saharien (TS).

		Surface cellulaire (μm^2)	Surface nucléaire (μm^2)	Rapport nucléo-cytoplasmique
TT	Moyenne	1301,50	449,82	0,35
	Ecart type	252,78	90,11	0,07
	Min	738,45	289,44	0,21
	Max	1896,43	705,45	0,48
TS	Moyenne	1470,08	560,88	0,39
	Ecart type	390,20	156,03	0,07
	Min	972,73	292,95	0,26
	Max	2525,35	925,00	0,55

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 apparentées montrent par rapport aux larves de l’autre race :

- ✓ Une augmentation non significative ($p = 0,405$) de 12,95 % de la surface des cellules ($1301,50 \pm 252,78 \mu\text{m}^2$ vs $1470,08 \pm 390,20 \mu\text{m}^2$)
- ✓ Une augmentation non significative ($p = 0,129$) de 24,69 % de la surface nucléaire ($449,82 \pm 90,11 \mu\text{m}^2$ vs $560,88 \pm 156,03 \mu\text{m}^2$).
- ✓ Une augmentation hautement significative ($p = 0,298$) de 11,43 % du ratio nucléocytoplasmique ($0,35 \pm 0,07$ vs $0,39 \pm 0,07$).

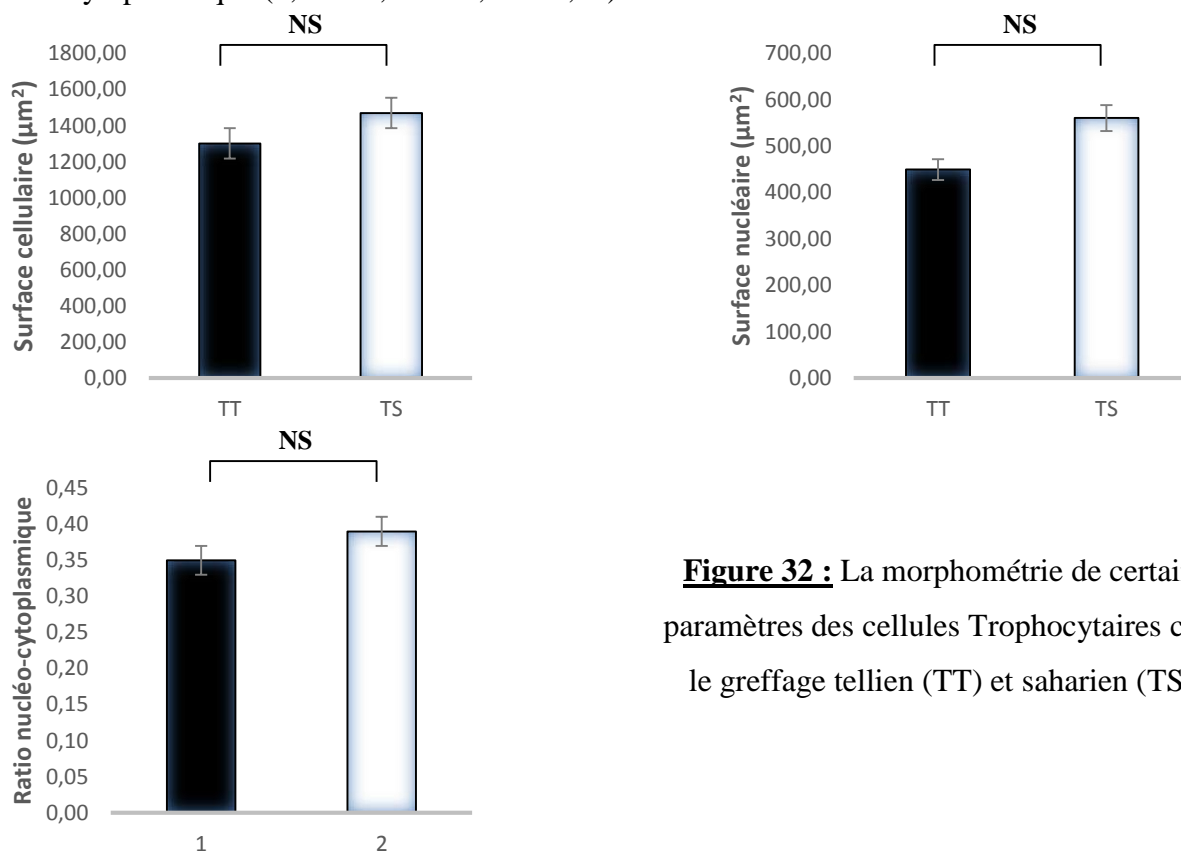


Figure 32 : La morphométrie de certains paramètres des cellules Trophocytaires chez le greffage tellien (TT) et saharien (TS).

Mêmes observations sont faites sur les trophocytes, avec augmentation dans la taille cellulaire, la taille des noyaux et même au niveau du ratio nucléocytoplasmique sans que cette augmentation soit significative. Parmi le rôle des trophocytes, nous pouvons citer l'entreposage des gouttelettes lipidiques dans le cytoplasme, des granules protéiques et du glycogène.

c) Rapport Oenocytes-Trophocytes :

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 (**Tab. 10**).

Tableau 10 : Rapport entre les cellules oenocytaires et trophocytaires chez les larves apparentées et intruses (TT et TS).

Type de cellule	Nombre de cellules	
	TT	TS
Oenocytes (Oe)	2,5	3,33
Trophocytes (Tr)	64,58	65,42
Rapport Oe/Tr	0,039	0,05

Le résultat montre bien que le rapport entre la présence des cellules oenocytaires et les cellules trophocytaires chez les larves intruses c'est-à-dire *Apis mellifera sahariensis* a augmenté de 28,21 %.

Ce changement de comportement chez les cellules oenocytaires (**augmentation du volume cytoplasmique** et **augmentation du ratio Oe/Tr**) sans qu'il y'est une quelconque variation significative au niveau des autres éléments du tissu adipeux laisse sous-entendre que ces cellules pourraient intervenir dans cette situation dans un comportement qui n'affecterait que ce type de cellule, à savoir, un comportement défensif dans une telle situation de stress.

DISCUSSION

&

CONCLUSION

I. DISCUSSION :

L'objectif de notre étude est de comparer les paramètres qui engendrent l'acheminement de la gelée royales (pondéraux et morphométriques) chez les abeilles nourrices d'*Apis mellifera intermissa* dans le cas où celles-ci acceptent d'élever des larves (futures reines) de deux races différentes, à savoir *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*.

Notre technique de greffage consistait à introduire des larves à bas âge (72 heure) de deux races d'abeilles différentes dans une ruche orpheline (sans reine), afin que les abeilles nourrices de cette dernière puissent les élever et les préparer à devenir des reines. Les nourrices telliennes ont accepté d'élever ses larves et celles d'une autre espèce. Les courbes d'évolution des taux d'acceptation pour les deux races suit le même tracé régressif jusqu'à l'émergence des jeunes reines. Or, ce taux **profite plutôt les larves sahariennes**, avec une régression apparente de leur **poids et leur volume**.

La réussite d'un élevage royal est tributaire de certains facteurs, dont les facteurs nutritionnels, les méthodes d'élevage, la période d'élevage de l'année, l'âge des larves greffées et le nombre de larves greffées dans chaque colonie élèveuse (Mahbobi et al. 2012; Korkmaz et al. 2005 ; Weiss, 1983; Dodologlu and Emsen 1989). En plus Kaftanoğlu et al. (1992) ont suggéré que la la qualité des reines est influencée par le génotype. L'étude de SAHINLER et KAFTANOGLU voulait déterminer ces effets, ainsi que ceux de la saison sur les taux d'acceptation des larves et la production de gelée royale en faisant les expériences sur trois sous-espèces : *Apis mellifera caucasica*, *A. m. carnica*, et *A. m. anatoliaca*.

Dans une autre étude sur trois différentes races, le même principe d'élevage cité en sus a été adopté. Après 72 heures d'élevage, le taux d'acceptation des larves était plus important chez l'abeille carniolienne (*A. m. carnica*) ($90,0 \pm 0,5$ %) que chez les autres races (l'abeille Mugla (*A.m. anatoliaca*) ($83,4 \% \pm 0,72$ %) et l'abeille caucasienne (*A.m.caucasia*) ($77,1 \% \pm 0,6$ %)). Ainsi, la production de gelée royale se trouvait également différentes chez les mêmes races expérimentées, à savoir, $0,372 \pm 0,082$ g pour *A. m. carnica*, $0,325 \pm 0,067$ g chez *A.m. anatoliaca* et $0,200 \pm 0,011$ g chez les abeilles caucasiennes. La production de gelée royale chez les abeilles carnioliennes était donc de 14,46% et 86,0% supérieur à celui des abeilles Mugla et du Caucase, respectivement. Dans ces conditions expérimentales, les abeilles carnioliennes et mugla se sont avérées plus performantes à la production de la gelée royale que les abeilles du Caucase (Sahinler et Kaftanoğlu., 2005).

Dans notre travail, la cinétique de prise de poids trouvée était la même pour les deux races d'abeille. Les larves devenues nymphes (après fermeture des alvéoles royales) gagnaient du poids (grâce à la gelée royale laissée au fond des alvéoles), ce poids diminue après l'émergence des reines (après consommation de tous les réserves de gelée et l'énergie fournie pendant la période de la métamorphose).

Ceci a été décrit dans beaucoup d'études, dont celle de Nunes-Silva et al., (2014) où le taux de croissance et la période de développement des reines et des ouvrières africanisées avaient des courbes de croissance similaires, en prenant du poids au cours des neuf premiers jours de développement et en le perdant à partir du neuvième jour jusqu'à l'émergence. La période de développement des reines était de 15 à 16 jours, et les reines nouvellement émergées pesaient $201,59 \text{ mg} \pm 27,63 \text{ mg}$. Les ouvrières terminaient leur développement de 19,8 à 20,3 jours après la ponte. Les ouvrières africanisées pesaient $84,40 \text{ mg} \pm 7,95 \text{ mg}$ à l'émergence.

La production de gelée royale chez le greffage tellien était plus importante (27,27 %) mais non significative par rapport au greffage saharien. L'évolution du poids larvaire par rapport à la gelée digérée indique que plus le paramètre pondéral augmente plus la gelée diminue et cela chez les deux races, sauf que cette relation est moins importante chez la saharienne.

La glande hypopharyngienne (HPG) se présente en une structure en paire, dont chaque élément est formé d'un long canal fuselé principal, sur lequel s'ouvre un groupe d'alvéoles (env. 550) des cellules glandulaires (**Cruz-Landim et Hadek, 1969**), en forme de lobe, appelé acine. Chaque acine comprend environ 8 à 12 cellules sécrétrices, qui apparaissent dès le 3^e jour, sont adjacentes, jointes au niveau de leur membrane basale par des desmosomes et sont connectées individuellement au canal principal par un canal cellulaire. Chaque canal glandulaire principal débouche sur la plaque suborale de l'hypopharynx, d'où les sécrétions sont immédiatement délivrées à la bouche.

Le développement des glandes hypopharyngiennes est estimé selon différentes méthodes, telles que l'échelle de classification basée sur la morphologie des glandes (**Maurizio ; 1954**), la taille des acini (**Hassanein., 1952**), le poids sec des glandes (**Fluri et al., 1982**), la quantité de protéines totales des glandes (**Rosça et al., 1972**) ou l'activité de la synthèse protéique des glandes hypopharyngiennes (**Brouwers., 1982**) (**Huang., 1990**).

Dans notre cas, les acini des glandes hypopharyngiennes des nourrices telliennes sont volumineux quand il s'agit de nourrir les larves telliennes, et moins pour les larves sahariennes. La gelée royale déposée est tout de suite ingérée par les larves telliennes, ce qui se répercute

directement sur leur poids. Par contre, au niveau des cupules sahariennes, le dépôt de la gelée est important à ce niveau, d'où le déficit observé sur le poids de ces dernières.

La fonction des HPG est bien établie chez *A. mellifera*, où c'est les ouvrières produisent qui les plus fortes concentrations de protéines dans le gelée royale, ceci a été confirmé par des études d'histochimie de **RAHMAN et al (2014)** sur ces glandes et réalisées sur les différentes étapes du développement comportementaux de l'abeille asiatique *Apis cerana indica*. Ces études ont montré que les glandes sont inactives chez les ouvrières nouvellement émergées et que leur taille augmente puis diminue en fonction de l'âge de l'ouvrière et les tâches qu'elle occupe dans la ruche. Les acini se sont révélés donc, plus grandes chez les nourrices et les plus petites chez les abeilles gardiennes

Les observations au MEB ont révélé que la HPG prenait la forme de longs amas entourant un conduit axial central allongé. La longueur moyenne du conduit axial central était de $1,15 \pm 0,08$ cm chez les abeilles ouvrières. Les glandes sont des structures appariées composées de nombreuses unités sécrétoires, ou acinus, qui sont reliées au canal axial central par un mince canalicule excréteur individuel. Les glandes déversaient la sécrétion reçue des unités sécrétoires dans la cavité buccale à travers une grande ouverture commune dans la plaque hypopharyngienne. Les glandes présentant ces caractéristiques sont considérées comme des glandes de type 4. Chez les ouvrières nouvellement émergées, les glandes ne sont pas complètement développées ; elles ont une forme irrégulière. Chez les nourrices, les glandes ont atteint leur développement maximal. Chez les gardiennes, la HPG montre une régression. Chez les abeilles butineuses, la glande perdra toute sa turgescence.

Le constat à faire selon cette étude est que la longueur totale de la glande hypopharyngienne chez l'abeille asiatique (1,15 cm) était légèrement plus longue que celle de l'abeille européenne (*Apis mellifera* L) (1 cm) (**Cruz-Landim et Costa, 1998**). Les ouvriers d'*A. c. indica* avaient le même type HPG (Type-4) et les unités sécrétoires présentent le même schéma morphologique que ceux signalé pour *A. mellifera*.

Les arthropodes utilisent différentes stratégies contre les effets nocifs des métabolites et les déchets. De telles stratégies peuvent inclure l'expulsion des métabolites par les excréments et l'urine, ou bien leur neutralisation et leur stockage dans le corps gras. **Lycett et al. (2006)** ont démontré que les oenocytes jouent un rôle important en détoxification, protégeant l'organisme contre les composés toxiques potentiellement mortels tels que les insecticides. De plus, grâce à la synthèse de hydrocarbures présents sur la surface extérieure du cuticule d'insecte (**Lockey., 1988**),

les oenocytes ont un rôle dans la prévention de la perte d'eau (**Fan *et al.*, 2003**), et il a été démontré qu'ils participent à la communication intraspécifique sous forme de signaux chimiques (**Wicker-Thomas *et al.*, 2009**).

Les oenocytes se distinguent facilement soit par leur coloration soit par leur capacité à former des amas cellulaires tapissés par une lame basale, ce qui permet de les différencier des autres cellules. L'ultrastructure des oenocytes permet de montrer la présence d'un réticulum endoplasmique lisse qui peut remplir presque tout le cytoplasme cellulaire et qui pendant une longue période évoquait la capacité de traitement des lipides. Cette capacité a été confirmée récemment par l'utilisation des approches génétiques, moléculaires et biochimiques où d'autres fonctions ont été attribuées à ces cellules, telles que la synthèse et la détoxification des hydrocarbures cuticulaires et des phéromones. De plus, les oenocytes sont considérés comme analogues aux hépatocytes de mammifères sur la base de leurs profils d'expression génique et de leur fonction (**Martins & Ramalho-Ortigao., 2012**).

Dans notre étude, nous avons constaté qu'après la période de greffage, les cellules oenocytaires des larves sahariennes ont subi un changement de comportement (**augmentation du volume cytoplasmique et augmentation du ratio Oe/Tr**) sans qu'il y'ait une quelconque variation significative au niveau des autres éléments du tissu adipeux. Une telle augmentation dans la surface du cytoplasme prédirait une activité intense par rapport au stockage/neutralisation des métaboliques et/ou une quelconque activité en relation avec le stress surtout dans cet environnement non apparenté. Cette dernière hypothèse peut être retenue surtout lorsqu'on sait que les oenocytes sont considérées comme des cellules immunitaires associées au tissu adipeux.

II. Conclusion et perspectives

Dans le cadre de cette étude, nous avons pu constater le changement comportemental des abeilles nourrices de la sous espèce (*Apis mellifera intermissa*) vis-à-vis à son intervention dans le l'allaitement de ses larves royales, et de larves d'une sous-espèce différente, à savoir *Apis mellifera sahariensis*. Des mesures pondérales, morpho-métriques et histologiques ont été prises afin de constater les résultats suivants :

- ✓ Il existe un détachement morphométrique des larves telliennes et sahariennes sans aucune différence significative. Il y'a bien eu acceptation des larves greffés des deux races. Les nourrices telliennes ont nourris les larves de leur espèce et d'une espèce différente, sauf que cette acceptation s'est reflétée négativement sur le poids et le volume des larves de la race saharienne.
- ✓ La gelée royale déposée chez les larves telliennes diffère en quantité (27,27 % de plus) par rapport aux larves sahariennes. Cette différence affecte relativement le poids des larves.
- ✓ Le volume des acini des glandes hypopharyngiennes des nourrices telliennes sont volumineux (96 %) quand il s'agit de nourrir les larves telliennes (apparentées), d'où l'impact remarqué sur les mesures pondérales par ingestion directe et aussitôt que la gelée est déposée dans les cupules larvaires.
- ✓ L'analyse histologique du tissu adipeux montre que les cellules oenocytaires des larves sahariennes ont subi un changement de comportement (augmentation du volume cytoplasmique et augmentation du ratio Oe/Tr) sans qu'il y'ait une quelconque variation significative au niveau des autres éléments du tissu. L'hypothèse d'une manifestation immunitaire de ces cellules vis-à-vis l'environnement de la ruche et des abeilles nourrices non apparentés est à retenir.

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

- Confection de coupes histologiques avec des révélations topographiques et histochimiques prouvant le changement comportemental vis-à-vis les deux races ;
- Etude moléculaire pour déterminer les molécules chimiques (phéromones) qui interviennent dans la modulation qualitative et quantitative de la gelée royale fournie par les nourrices.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

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

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

Adam, G. (2010). Les individus de la colonie. *COURS École d'apiculture Sud-Luxembourg.*

Adjlane N, Doumandji SE et Haddad N,(2012) : Situation de l'apiculture en Algérie : facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles locales Apis mellifera intermissa. CahAgric, vol. 21, n8 4, juillet-aout 2012.

Alexandre, M. C. Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire.

Amirshahi,M.,Mullin,P.M.,Rassoly,I.,van den Anker,J.,&Pines,J.M.(2014).Rising opioid prescribing in adult US emergency department visits:2001-2010.Academic Emergency

Badren M.A., 2016 : La situation de l'apiculture en Algérie et les perspectives de développement. Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master Académique. Université de Tlemcen. p 26.

Baer B, (2005): Sexual selection in Apis bees. Aoidologie, 36, 187-200.

BARNUTIU L.I., MARGHITAS L. Al., DEZMIREAN D.S. (2011). Antimicrobial compounds of royal jelly. Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, vol. 68, n° 1-2, p. 85-90.

Batchelder, T. (2002). A novel mechanism of liver enhancement from a traditional bee product. Townsend Letter for Doctors and Patients, 233, 46-48.

Bird, A. (2001). Methylation talk between histones and DNA. Science, 294(5549), 2113-2115.

BLANC M., CHULIA A. (dir.). *Propriétés et usage médical des produits de la ruche.*

Blanc, M. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. *Th. Doc. En.*

Blandine Baudon, La différenciation des abeilles en reines et ouvrières : une question d'épigénétique plante vie2019.

BLATT, Jasmina et ROCES, Flavio, 2002. The control of the proventriculus in the honeybee (*Apis mellifera carnica* L.) I. A dynamic process influenced by food quality and

Références bibliographiques

quantity? In : *Journal of Insect Physiology*. juin 2002. Vol. 48, n° 6, p. 643-654.

Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.

C

Cemek, M., Aymelek, F., Buyukokuroglu, M. E., Karaca, T., Buyukben, A., & Yilmaz, F. (2010). Protective potencial of Royal Jelly against carbon tetrachloride induced-toxicity and changes in the serum sialic acid levels. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), p 2827-2832.

Chaabi, M. (2008). Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae) (Doctoral dissertation, Strasbourg 1).

Charpentier, G. (2013). Étude des effets létaux et sublétaux d'une intoxication au thymol sur le développement et l'immunité des larves d'*Apis mellifera* élevées in vitro (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

CHAUVIN, R., 1962. [Nutrition of the bee]. In : *Annales De La Nutrition Et De L'alimentation*. 1962. Vol. 16(5), p. Rapp A41-A63.

Corby-Harris, V., Snyder, L.A. (2018): Measuring Hypopharyngeal Gland Acinus Size in Honey Bee (*Apis mellifera*) Workers. *J. Vis. Exp.* (139), e58261, doi:10.3791/58261

D

DADE, Harry Arthur, 1994. *Anatomy and Dissection of the Honeybee*. S.l. : I.B.R.A. ISBN 978-0-86098-214-2.

F

Ferrah A, Yahiaoui S, Kaci A et Kabli L, 2003 : Les races de petits élevages (aviculture, cuniculture, apiculture, pisciculture). Conférence: Atelier N°3 «Biodiversité Importante pour l'Agriculture» MATE-GEF/PNUD, Projet ALG/97/G31.

Fontana, R., Mendes, M. A., de Souza, B. M., Konno, K., C'esar, L. M. M., Malaspina, O., & Palma, M. S. (2004). Jelleines: A family of antimicrobial peptides from the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides*, 25(6), 919–928.

Références bibliographiques

Frères, J. M., & Guillaume, J. C. (2011). L'apiculture écologique de A à Z. M. Pietteur., 594-600.

Fresnay., 1981. Biométrie de l'abeille 2eme ed .Echauffour ,orne, office inf.Doc.Apic ,56p.

FUJII A., KOBAYASHI S., KUBOYAMA N. [et al.]. Augmentation of wound healing by royal jelly in streptozotocin-diabetic rats. *Japanese journal of pharmacology*, 1990, vol. 53, n° 3, p. 331-337.

G

Ghanbari E, Nejati V, Gholamreza N, Khazaei M, Babaei M. (2015). Study on The Effect of Royal Jelly on Reproductive Parameters in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. 9(1): 113–120

Gharbi,M. (2011). Les produits de la ruche : Origines-Fonctions naturelles-Composition-

H

Hélène Jammes., 2013 épigénétique : une lecture du génome via des modifications stables / transitoires et transmissibles novembre.

Honda Y; Araki Y; Hata T; Ichihara K; Ito M; et al., (2015)10-Hydroxy-2-decenoic acid, the major lipid component of royal jelly, extends the lifespan of *caenorhabditiselegans*through dietary restriction and target of rapamycin signaling J Aging Research 425261-425261.

Huang, C. Y., Chi, L. L., Huang, W. J., Chen, Y. W., Chen, W. J., Kuo, Y. C., ... & Chen, C. N. (2012). Growth stimulating effect on queen bee larvae of histone deacetylase inhibitors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(24), 6139-6149.

I

Izuta, H., Chikaraishi, Y., Shimazawa, M., Mishima, S., Hara, H. (2009).10-Hydroxy-

J

Jacobs F, Pfluger W, SchmidtbH, W, Scmuck R., Van L, O,(2005) : Apropos de la santé des abeilles. Ed. P. R. Paris, 109p.

Jamnik, P., Goranovič, D., & Raspor, P. (2007). Antioxidative action of royal jelly in the yeast cell. *Experimental gerontology*, 42(7).

Références bibliographiques

JOHNSON, Brian R., 2010. Division of labor in honeybees: form, function, and proximate mechanisms. In : *Behavioral Ecology and Sociobiology*. janvier 2010. Vol. 64, n° 3, p. 305-316.

Julkunen-Titto R. (1985). Phenolics constituents in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, (33) : 213-217.

K

KIM J., KIM Y., YUN H. [et al.]. Royal jelly enhances migration of human dermal fibroblasts and alters the levels of cholesterol and sphinganine in an *in vitro* wound healing model. *Nutrition Research and Practice*, 2010, vol. 4, n° 5, p. 362-368.

Kimura,N.,Nojima,T.,Ueno,K.,Nakamura,S.,Shimotani,H.,Ohtomo,A.(2008).Electric field-induced superconductivity in an insulator. *Nature materials*,7(11),p.855-858).

Kirk-Othmer, (1994). Encyclopedia of chemical technology. New York: John Wiley and

KNECHT, D. et KAATZ, H. H., 1990. Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bees. In : *Apidologie*. 1990. Vol. 21, n° 5, p. 457-468.

Kouzarides T., 2007. Chromatin modifications and their function. *Cell* 128 :693-705.

KOYA-MIYATA S., OKAMOTO I., USHIO S. [et al.]. Identification of a collagen production-promoting factor from an extract of royal jelly and its possible mechanism. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2004, vol. 68, n° 4, p. 767-773.

L

Lacordaire, Théodor, (1834) : Introduction à l'entomologie : Comprenant les principes généraux de l'anatomie et de la physiologie des insectes, des détails sur leurs mœurs et un résumé de principaux systèmes de classification proposés jusqu'à ce jour ces animaux. S. I. : Rout.

LE CONTE, Y. et NAVAJAS, M., 2008. Climate change: impact on honey bee populations and diseases. In : *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*. août 2008. Vol. 27, n° 2, p. 485-497, 499-510.

Lewis, R. (2005). The Infertility Cure: The Ancient Chinese Wellness Program for Getting

Li, Z., Nie, F., Wang, S., & Li, L. (2011). Histone H4 Lys 20 monomethylation by

Références bibliographiques

histone methylase SET8 mediates Wnt target gene activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(8), 3116-3123.

Librowski, T., Czarnecki, R. (2000). Comparative analysis of ApistmulCrataegi Forte and royal jelly in the experimental heart action disturbance, *Herba Pol.*, 46(3), 145-150.

Lobreau-Callen D et Damblon F., 1994. Spectre pollinique des miels de l'abeille *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) et Zones de Végétations en Afrique Occidentale Tropicale et Méditerranéenne. *Grana*. vol.33. 245-253p.

Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Kolodziejczyk, P. P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), 1732-1738.

Lyko, F., Foret, S., Kucharski, R., Wolf, S., Falckenhayn, C., & Maleszka, R. (2010). The honey bee epigenomes: differential methylation of brain DNA in queens and workers. *PLoS biology*, 8(11), e1000506.

M

MAJTAN J., KUMAR P., MAJTAN T. [et al.]. Effect of honey and its major royal jelly protein 1 on cytokine and MMP-9 mRNA transcripts in human keratinocytes. *Experimental Dermatology*, 2010, vol. 19, n° 8, p. e73-e79.

MARTINI M.-C., SEILLER M. *Actifs et additifs en cosmétologie*. 3e édition. Paris : Editions Tec & Doc ; Cachan : Éditions Médicales internationales, 2006. XXVIII-1051

Mateescu, C. (2016). Les produits de sécrétion et leurs rôles dans la colonie d'abeilles, [en ligne]. Adresse URL: <https://www.researchgate.net/publication/237480596> (consultée le 20/11/2016).

Mutti, N. S., Dolezal, A. G., Wolschin, F., Mutti, J. S., Gill, K. S., & Amdam, G. V. (2011). IRS and TOR nutrient-signaling pathways act via juvenile hormone to influence honey bee caste fate. *Journal of Experimental Biology*, 214(23), 3977-3984.

O

Okamoto, I., Taniguchi, Y., Kunikata, T., Kohno, K., Iwaki, K., & Ikeda, M. (2003). Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo. *Life Sciences*, 73, 2029–2045.

Oldroyd BP and Crozier RH, (1996) : N umbre of mating in the genus *Apis*

Références bibliographiques

(Hymenoptera : Apidae) revealed by hypervariable microsatellites. In : proceedings XX International Congress of Entomology, Firenz, Italy, 25-31.

P

Page RE and Peng CY, (2001) : Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Exp. Gerontol.*, 36, 695-711.

PENG, Ying-Shin et MARSTON, Jerry M., 1986. Filtering mechanism of the honey bee proventriculus. In : *Physiological Entomology*. 1986. Vol. 11, n° 4, p. 433-439. DOI 10.1111/j.1365-3032.1986.tb00434.x.

Peter David Paterson (2008) : (1 edition) l'apiculture 2008.

Philippe JM., 2007 : Le guide de l'apiculteur. Edition Edisud, 319p.

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., & Vasseur. J. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72: 35-42.

R

Ravazzi G, (2003) : Abeilles et apiculteurs. Ed. De Vecchi, Paris, 155 p.p.

RIBBANDS, Ronald, 2016. *The Behaviour and Social Life of Honeybees*. S.l. : Northern Bee Books. ISBN 978-1-908904-87-4.

Rigal, M. L. (2012). Miel et gelée royale: utilisations thérapeutiques dans le domaine cutané et applications en cosmétologie (Doctoral dissertation).

Romanelli, A., Moggio, L., Montella, R. C., Campiglia, P., Iannaccone, M., Capuano, F., ... Capparelli, R. (2011). Peptides from royal jelly: Studies on the antimicrobial activity of jelleins, jelleins analogs and synergy with temporins. *Journal of Peptide Science: An Official Publication of the European Peptide Society*, 17(5), 348–352.

Ruttner F, Tassencourt I and Louveaux J 1978: Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L, *Apidologie* 9, 363-381

S

S. Foret et al., « DNA methylation dynamics, metabolic fluxes, gene splicing, and alternative phenotypes in honey bees », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 109, n° 13, p. 4968-4973, mars 2012.

Références bibliographiques

Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F., Bogdanov, S., & Almeida-Muradian, L. B. (2009). Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1(1), 1-6.

Salazar-Olivo, L.A., Paz-González, V. (2005). Screening of biological activities Present in honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly, *Toxicol. In Vitro*, 19(5), 645-51.

SEELEY, Thomas D., 1982. Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. In *:Behavioral Ecology and Sociobiology*. 1décembre 1982. Vol. 11, n° 4, p. 287-293. DOI 10.1007/BF00299306.

SHI, Guanya, WU, Jianinget YAN, Shaoze, 2017. Drag Reduction in a Natural High-Frequency Swinging Micro-Articulation: Mouthparts of the Honey Bee. In *:Journal of Insect Science (Online)*. 1janvier 2017. Vol. 17, n° 2. DOI 10.1093/jisesa/iew122

Shi, Y. Y., Yan, W. Y., Huang, Z. Y., Wang, Z. L., Wu, X. B., & Zeng, Z. J. (2013). Genomewide analysis indicates that queen larvae have lower methylation levels in the honey bee (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften*, 100(2), 193-197.

Šimúth, J., Bíliková, K., Kováčová, E., Kuzmová, Z., Schroder, W. (2004). Immunochemical Approach to Detection of Adulteration in Honey: Physiologically ActiveRoyal Jelly Protein Stimulating TNF- Release Is a Regular Component of Honey, *J. Agric.Food Chem.*, 52 (8), 2154–2158.

SNODGRASS, Robert E., 1956.*Anatomy of the Honey Bee*. S.I. : Cornell University Press. ISBN 978-0-8014-9302-7.

sons.929-947

Sylvain Foret; Robert Kucharski; Yvonne Pittelkow; Gabrielle A; Lockett., 2009,« Epigenetic regulation of the honey bee transcriptome: unravelling the nature of methylated genes », BMC Genomics, vol. 10, 14 p. 472.

T

Tokunaga, K. H., Yoshida, C., Suzuki, K. M., Maruyama, H., Futamura, Y., Araki, Y., Mishima, S. (2004). Antihypertensive effect of peptides from royal jelly in spontaneously hypertensive rats, *Biol. Pharm. Bull.*, 27(2), 189-192

W

Waller, G. D. (1980). Honey bee life history. *Beekeeping in the United States*, 335, 24.

Références bibliographiques

Warring A and Warring C,(2014) : Abeilles : Touss'avoir sur l'apiculture. Ed. Artémis. Paris, 179p.

Weiser MJ; Grimshaw V; Wynalda KM; MohajeriMH;Butt CM., Long-term administration of Queen Bee Acid (QBA) to rodents reduces anxiety-like behavior, promotes neuronal health and improves body composition (2017) *Nutrients* 10.

Wilson-Rich N, (2016) : Abeilles : Une histoire naturelle. Ed. Artémis, 224p.

WINSTON, Mark L., 1991. *The Biology of the Honey Bee.* S.l.: Harvard University Press. ISBN 978-0-674-07409-5.

Y

Yang, J., Benyamin, B., McEvoy, B. P., Gordon, S., Henders, A. K., Nyholt, D. R., Madden P. A., Heath, A. C., Martin, N. G., Montgomery, G.W., Goddard, M. E., & Visscher, P. M. (2010). Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height. *Nature Genetics*, 42, 565–569.

Yves Layec, 2017. Apiculteurs : questions de choix 1-n° 176.

Z

Zamami, Y., Takatori, S., Goda, M., Koyama, T., Iwatani, Y., Jin, X., Takai-Doi, S., Kawasaki, H. (2008). Royal jelly ameliorates insulin resistance in fructose-drinking rats, *J. Biol. Pharm. Bull.*, 31(11), 2103-3107

ANNEXES

ANNEXE N° 01

FIXATION au Bouin aqueux

Composition de Bouin aqueux

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

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

ANNEXE N° 02

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

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

ANNEXE N° 03

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

La préparation se fait à chaud par la mélange de :

❖ Gélatine	0.4g.
❖ Eau distillée	100ml.

ANNEXE N° 04

COLORATION A L'HEMATOXYLINE-EOSINE

Réactifs

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

Mode opératoire

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

Résultats :

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