

*Étude du fonctionnement de l'appareil
Génital chez L'abeille ouvrière orpheline,
Apis mellifera Linné (Hymenoptera,
Apidae)*

Présenté par Mohamed KOUDJIL

Directeur de Thèse : Mr. DOUMANDJI S. E. Professeur (INA, Alger)

Soutenue le 04 mai 2008

Devant le jury composé de: Présidente : Mme DOUMANDJI B.née MITICHE Professeur (INA, Alger)
Examineurs : Mr. LOUADI K. Professeur (Univ. Constantine) - Mme BENMESSAOUD H. M.C. (INA, Alger) - Mr. CHAKALI G. M.C. (INA, Alger) - Mr. KELLOUCHE A. M.C. (Univ. Tizi-Ouzou)

Table des matières

AVANT- PROPOS . .	6
ص غ ل م ل ا . .	7
Résumé . .	8
Abstract . .	10
INTRODUCTION . .	11
Chapitre I. MATERIEL ET METHODES . .	15
I. Matériel biologique . .	15
II. TECHNIQUES EXPERIMENTALES . .	15
1. Elevage des abeilles . .	15
2. Pesage de l'ovaire . .	15
3. Mesure de la longueur de l'ovariole et de l'ovocyte basal correspondant . .	15
4. Traitement phéromonal et hormonal . .	16
5. Calculs statistiques . .	16
III. TECHNIQUES MICROSCOPIQUES . .	16
1. Microscopie photonique . .	16
2. Microscopie électronique . .	17
CHAPITRE II. CARACTERISATION BIOMETRIQUE DE L'OVAIRE . .	18
I. Résultats . .	18
1. Caractérisation biométrique des stades ovariens . .	18
2. Signification des valeurs biométriques des stades ovariens et leur pourcentage . .	23
II. Discussions . .	25
Conclusion sur la biométrie ovarienne . .	27
Chapitre III. CONTRÔLE EXPERIMENTAL DE LA CINETIQUE BIOMETRIQUE DE L'OVAIRE PAR L'HORMONE JUVENILE 3 ET LA PHEROMONE DE COUVAIN . .	28
I RESULTATS . .	28
1. Action de la phéromone de couvain sur le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal . .	29
2. Action de l'hormone juvénile 3 sur le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal . .	31
3. Action combinée de la phéromone de couvain (Phe) et de l'hormone juvénile 3 (HJIII) sur le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal . .	32
II. DISCUSSIONS . .	33
Conclusion sur l'effet de la phéromone de couvain et de l'hormone juvénile 3 . .	34
Chapitre IV. STRUCTURE DE L'OVAIRE . .	35
I. RESULTATS . .	35
1. Evolution des ovogonies et des cellules préfolliculaires dans le germarium . .	35
2. Evolution de l'ovocyte et formation du follicule à la base du germarium . .	35
3. Evolution du follicule dans le vitellarium . .	36
II. DISCUSSIONS . .	38
1. Evolution des ovogonies et des cellules préfolliculaires dans le germarium . .	38

2. Evolution du follicule dans le vitellarium . .	39
Conclusion sur la structure des stades ovariens . .	40
Chapitre V. CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS . .	42
I. RESULTATS . .	42
1. Ovaire en début de la prévitellogenèse ou stades 1 et 2 . .	42
2. Ovaire en fin de la prévitellogenèse ou stade 3 . .	43
3. Ovaire en début de la vitellogenèse ou stade 4 . .	44
4. Ovaire en fin de la vitellogenèse ou stade 5 . .	44
5. Maturation de l'ovocyte ou stade 6 . .	45
II. DISCUSSIONS . .	45
Conclusion sur l'ultrastructure des stades ovariens . .	46
Chapitre VI. EVOLUTION DE LA STRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	48
I- STRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	48
1. Répartition du tissu adipeux . .	48
2. Structure histologique du tissu adipeux . .	48
II- ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	49
A - SYNTHÈSE DES LIPIDES . .	50
B - SYNTHÈSE DES PROTÉINES . .	59
C. UTILISATION DES INCLUSIONS CYTOPLASMIQUES ET EXOCYTOSE . .	71
CONCLUSION GÉNÉRALE . .	75
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES . .	78
Annexes . .	85
PLANCHE I STRUCTURE HISTOLOGIQUE DE L'OVAIRE . .	85
PLANCHE II STRUCTURE HISTOLOGIQUE DE L'OVAIRE . .	86
PLANCHE III STRUCTURE HISTOLOGIQUE DE L'OVAIRE . .	87
PLANCHE IV CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS . .	89
PLANCHE V CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS . .	91
PLANCHE VI CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS . .	92
PLANCHE VII CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS . .	94
PLANCHE VIII CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS . .	96
PLANCHE IX CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS . .	97
PLANCHE X ASPECTS HISTOLOGIQUES DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	99
PLANCHE XI ASPECTS HISTOLOGIQUES DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	100
PLANCHE XII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	101
PLANCHE XIII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	103
PLANCHE XIV ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	105
PLANCHE XV ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	106
PLANCHE XVI ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	108
PLANCHE XVII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	110
PLANCHE XVIII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	111
PLANCHE XIX ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	112

PLANCHE XX ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	114
PLANCHE XXI ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	116
PLANCHE XXII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	118
PLANCHE XXIII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN . .	119

AVANT- PROPOS

Ce travail a été réalisé sous la direction de Monsieur le Professeur DOUMANDJI S.E. Il m'a accueilli jeune chercheur dans son équipe de Zoologie agricole et forestière à l'Institut National agronomique d'El-Harrach, Alger. Je lui témoigne aujourd'hui toute ma profonde gratitude pour m'avoir guidé et encouragé tout en me laissant un agréable sentiment de liberté. Il a su me communiquer sa passion. Je lui suis infiniment reconnaissant d'avoir eu très souvent la patience d'accepter de longs entretiens qui ont conduit à l'élaboration de ce travail. Qu'il soit assuré de ma cordiale amitié.

Je tiens à exprimer tous mes remerciements à Madame DOUMANDJI née MITICHE B. Professeur à l'Institut National agronomique d'El-Harrach, Alger pour avoir accepté de présider le jury.

Je tiens à exprimer tous mes remerciements à Monsieur LOUADI K. Professeur à l'université de Constantine pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à exprimer tous mes remerciements à Madame BENMESSAOUD H. Maître de conférences à l'Institut National agronomique d'El-Harrach, Alger pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à exprimer tous mes remerciements à Monsieur CHAKALI G. Maître de conférences à l'Institut National agronomique d'El-Harrach, Alger pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à exprimer tous mes remerciements à Monsieur KELLOUCHE A. Maître de conférences à l'université de Tizi ouzou pour avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements vont également à :

Madame le Professeur RACCAUD-SCHOELLER J. Directeur du Laboratoire de Physiologie des Insectes, à l'Université Pierre et Marie Curie de Jussieu, Paris VI. Elle m'a accordé toute sa confiance et m'a donné toute la liberté pour la réalisation de ces recherches et de ce mémoire. Qu'elle veuille bien accepter l'hommage respectueux et sincère de ma profonde gratitude.

SAYAH F. qui a été toujours près de moi au laboratoire de recherches.

ARNOLD G. Chercheur et MASSON C. Directrice de la station de l'INRA de Paris sur les insectes sociaux.

Je ne saurais oublier de remercier tous ceux qui m'ont aidé et encouragé au cours de ces années de recherches.

صناعات

تسمى بعض صناعات نحل العسل *Apis mellifera mellifera* مياضها وتسمح وقسمة البيض منجبة للذكور فقط.

تعتبر هذه الصناعات مهمة للغاية في مجال البحث على العيش. في هذه الأفرحة، تمت دراسة قياسات حيوية وبنية نضج البيض ونسج دهني وما وكذا مرافقة نمو العيش. بينت النتائج أن 20٪ من الصناعات تحتوي على 14 إلى 20 أجنة بيضاء البيض الواحد خلال الربيع في شهر مارس و أبريل. بزمن العيش في طور الأول 0.56 ± 0.24 ملغ عند 95٪ من الصناعات وعمرها 6 أيام. عندئذ يكون طول أجنة البيض 1.1 ± 0.14 سم. تنسج البيضة القاعدية في طورها الأول و الثاني بكثرة حبيبات قرويين وفراشات دهون المحصورة بالشبكة الداخلية الحبية حيث تحولها إلى أجسام مستعدة لتوصيلها. وتنسج البيضة القاعدية عند ظهور ثلاث بطون قاعية مشكلة أجساماً تطيلية. فور دخول الأسبوع الثاني من عمر الصناعات تبدأ عملية تركيب قرح حيث تظهر حبوب على مؤخر الأنايب وهذا ما يفسر بداية تطور الريح العيش. يصل طول أجنة البيض في طور الخامس إلى 7.1 ± 1.0 سم وطول البيضة القاعدية إلى 1.57 ± 0.22 سم. خلال هذه المرحلة يبرز عند البيضة الغشاء السحي وينكسر قطر حبيبات قرح وكذا قوّة الرنة. كان الفرق في قسوة بين الأطوار المتتالية كبيراً خلال تطور العيش. بينما الفرق في وزن العيش بين طور الخامس والأطوار الأخرى لم يكن متراً إلا خلال الأسبوع الثالث من عمر الصناعات. تصل 5٪ من الصناعات بمر يتراوح ما بين 18 إلى 20 يوماً إلى طور السادس حيث ينضج العيش ويتكون لدى البيضة الكربون وتكون حبيبات قرح ونسج قوّة الرنة وتضمحل الخلايا المسكونة العيش. عندئذ تسمح الصناعات قابلة لتوضج البيض حيث يصل وزن مياضها إلى 7.5 ± 0.42 غم. تملك الصناعات لها القدرة على تثبيط نمو العيش عند الصناعات الأخرى الهرفقات لها في الخلية.

تمت كذاه دراسة لمرحلة مدى تأثير قرويين الحضانة وهرمون قشباب 3 على وزن العيش وطول البيضة القاعدية لدى صناعات نحل العسل الليبي. شين أن وضع 1 أو 0.5 ميكروغرام من هرمون قشباب 3 مغطياً على غشاء ما بين الصفحات الظرفية للصناعات بالإضافة إلى قرويين 1% يثبط نمو العيش ويخفض وزنه ويقلص في طول البيضة القاعدية بالمقارنة مع القشاه. كما وجدنا أن 65٪ من صناعات نحل العسل المعالجة بقرويين الحضانة تستطيع أن تصل إلى نهاية مرحلة تطور العيش. لكن بالإضافة 0.5 ميكروغرام/نحلة من هرمون قشباب 3 تصل البيضة القاعدية إلى طولها القاعدي، وبإضافة 1 ميكروغرام/نحلة يتم تثبيط قوّة العيش.

بينت نتائج تجربة التحنيط للحلابة الدهنية لأول مرة عند صناعات نحل العسل ثلاثة وحدات من الحبيبات في تركيب الدهون والبروتينات حيث لم يسبق تمييزها في السابق عند الحشرات ذات الأجنحة الحشائية:

■ سوكندري - شبة داخلية محبية؛

■ سوكندري - شبة داخلية محبية - نواة؛

■ سوكندري - شبة داخلية محبية - جوار كوالجي .

يتم تركيب الدهون والبروتينات وفق خصمة أعمار. أربعة منها تحدث داخل الخلية والخامسة مزودة التركيب أي داخلية وخارجية. يندرج تركيب الدهون في مرحلتين متتاليتين:

أولها تنتج الفراتات الدهنية مسعرة؛ لظفر وثانيتها يتم تكوين النهائي الفراتة في جسمها الكبير.

التصنيف المقترح: *Apis mellifera mellifera*؛ هرمون قشباب؛ قرويين الحضانة؛ مبيض؛ ورن العيش؛

طور القبيضة؛ تنسج الدهني؛ كنبلة كحظية

Résumé

Certaines abeilles ouvrières d'*Apis mellifera mellifera* développent leurs ovaires et deviennent pondeuses d'œufs en engendrant, par parthénogenèse, des mâles haploïdes. Ces ouvrières constituent un domaine intéressant de recherches pour l'ovaire. Nous avons abordé dans cette thèse, l'étude biométrique, ultrastructurale et de contrôle de l'ovaire chez l'abeille ouvrière en condition d'orphelinage. Le tissu adipeux périovarien a été aussi notre sujet d'investigation ultrastructurale.

Les résultats révèlent que 20% des ouvrières acquièrent un développement de 14 à 20 ovarioles par ovaire pendant les mois de mars et avril. A l'âge adulte de 6 jours, 95% des ouvrières sont au stade 1 du développement ovarien. Leur poids ovarien est de $0,59 \pm 0,24$ mg ; la longueur de l'ovariole est de $1,1 \pm 0,14$ mm. Les ovocytes basaux des stades 1 et 2 se caractérisent par la présence de nombreuses plages de granules cernées par les cylindres dilatés du réticulum endoplasmique granulaire. Ces cylindres décondensent les granules protéiques et les globules lipidiques, générant ainsi des corps multivésiculaires. L'ovocyte basal, au troisième stade de développement, mesure $0,29 \pm 0,06$ mm de long, tout âge confondu. Ce stade de la fin prévitellogenèse se caractérise par l'apparition, dans l'ooplasm, de nombreux tubules, dont l'extrémité dilatée constitue un lysosome. Dès le début de la deuxième semaine, la vitellogenèse commence. Le stade 4 est défini par l'apparition, dans l'ooplasm, des granules vitellins en relation avec les formations tubulaires. La longueur de l'ovariole, au stade 5, atteint $7,09 \pm 1,02$ mm ; l'ovocyte basal du 11^{ème} follicule est de $1,57 \pm 0,22$ mm de long. Ce stade 5 est distingué par la synthèse de la membrane vitelline, la régression de la taille des granules vitellins et des noyaux accessoires. Le sixième stade, ou maturation ovocytaire, est atteint chez 5% (1/20) des ouvrières âgées de 18 à 20 jours. Il est défini par la présence du chorion, la dissolution des granules vitellins, la disparition des noyaux accessoires et la dégénérescence totale des cellules folliculaires. Pendant tout le processus du développement ovarien, la différence de la croissance ovocytaire entre les stades successifs était conséquente. Par contre, la différence du poids ovarien n'est observée de manière significative que pendant la 3^{ème} semaine de la vie adulte entre les abeilles du stade 5 et les autres. Ainsi, 5% (1/20) des abeilles ayant un poids ovarien maximal ($7,5 \pm 0,42$ mg) seraient les futures pondeuses. Elles inhibent le développement ovarien chez les autres ouvrières.

L'influence de la phéromone de couvain et de l'hormone juvénile 3 sur le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal chez les abeilles ouvrières orphelines a été étudiée au laboratoire. Les résultats révèlent que le badigeonnage des alvéoles de cire avec la phéromone de couvain à 1% provoque une diminution du poids ovarien mais sans différence significative dans la longueur de l'ovocyte basal ($P > 0,05$). Cette phéromone assure donc le contrôle du développement ovarien. L'application topique de l'hormone juvénile 3 à la dose de $1 \mu\text{g}$ permet seulement le démarrage du développement ovarien chez 5% des ouvrières. En présence de la phéromone de couvain à 1%, cette hormone entraîne une grande régression du poids ovarien et de la longueur ovocytaire ($P < 0,0001$) ; l'inhibition ovarienne est quasi-totale. Nos observations ultrastructurales de l'adipocyte nous ont permis de définir pour la première fois chez l'abeille *Apis* trois unités cohérentes du processus de synthèse des lipides et des protéines lesquelles n'ont jamais été démontrées auparavant chez les hyménoptères: Mitochondrie-REG ; Mitochondrie-REG-noyau ; Mitochondrie-REG-appareil de golgi. La synthèse des lipides et des protéines s'effectue en cinq modes dont quatre sont de type endogène. La synthèse des lipides se réalise en deux temps : le premier concerne la production des petits globules lipidiques et le second est lié à la formation définitive du globule

Mots clés : *Apis mellifera mellifera* ; Hormone juvénile ; Longueur ovocyte basal; ovaire ; Phéromone de couvain ; Poids ovarien; Stade ovarien ; Tissu adipeux ; Ultrastructure.

Abstract

Some worker bees of *Apis mellifera mellifera* develop their ovaries and become egg layers triggering, by parthenogenesis, haploid males. These workers are an interesting area of research for the ovary. We discussed in this thesis, the ultrastructural biometric study and control of the ovary from a worker bee in a condition of orphanhood. Periovarian adipose tissue was also about our investigation ultrastructural.

The results show that 20% of workers acquire a development of 14 to 20 ovarioles/ ovary during the months of march and april. At the adult age of 6 days, 95% of workers are at stage one of ovarian developing. Their ovarian weight is 0.59 ± 0.24 mg; length of the ovariole is 1.1 ± 0.14 mm. The basal oocytes of stages 1 and 2 are characterized by the presence of many ranges of granules encircled by the dilated cylinders of the granular endoplasmic reticulum. These cylinders decondensate the proteinic granules and the lipidic globules generating multivesicular bodies. The basal oocyte, at the third stage of development, measures 0.29 ± 0.06 mm in length, confused all ages. This stage of the previtellogenesis'end is characterized by the appearance, in the ooplasm, of many tubules, whose dilated end constitutes a lysosome. At the beginning of the second week, vitellogenesis starts. Stage 4 is defined by the appearance, in the ooplasm, of the yellow granules in relationship to the tubular formations. The length of the ovariole, at stage 5, reaches 7.09 ± 1.02 mm; the basal oocyte of the 11th follicle is 1.57 ± 0.22 mm length. This stage 5 is distinguished by the synthesis from the vitelline membrane, the regression of the size of yellow granules and the accessory cores. The sixth stage, or oocyte maturation is reached by 5% (1 / 20) of the workers aged 18 to 20 days. It is defined by the presence of the chorion, the dissolution of the yellow granules, the disappearance of the accessory nuclei and the total degeneration of the follicular cells. Throughout the process of developing ovarian, the difference in growth between the oocyte stages was consistent. However, unlike the ovarian weight is significantly observed that during the 3rd week of life among adult bees Stage 5 and others.

Thus, 5% (1 / 20) of bees with a maximum ovarian weight (7.5 ± 0.42 mg) would be the future layers. They inhibit the ovarian growth among other workers.

The influence of the brood pheromone and the juvenile hormone 3 on the ovarian weight and the length of the basal oocyte among orphan workers bees has been studied in the laboratory. The results showed that the staining of cells with wax brood pheromone of 1% causes a reduction of the ovarian weight but without significant difference in the length of the basal oocyte ($P > 0.05$). This pheromone thus provides control of ovarian development. Topical application of the juvenile hormone 3 at a dose of 1 μ g allows only the start of developing ovarian in 5% of workers. In the presence of the brood pheromone of 1%, this hormone leads to a large decline in the ovarian weight and length oocyte ($P < 0.0001$); ovarian inhibition is almost complete.

Our ultrastructural observations of the adipocyte led to identify for the first time at the bee *Apis* three consistent units process synthesis of lipids and proteins which have never previously been demonstrated among wasps: Mitochondria-REG; Mitochondria - REG- Nucleus; Mitochondrion-REG-Golgi apparatus. The synthesis of lipids and proteins occurs in five modes, four of which are endogenous type. The synthesis of lipids is done in two stages: the first involves the production of small lipidic globules and the second is related to the final formation of globule.

Keywords: *Apis mellifera mellifera*; Juvenile Hormone; Length basal oocyte; ovary; brood Pheromone; ovarian weight; ovarian stage; adipose tissue; Ultrastructure.

INTRODUCTION

L'Abeille mellifère, *Apis mellifera* est un insecte hyménoptère social. Les ouvrières, influencées par la présence de la reine et du couvain, restent stériles. Néanmoins, chez certaines abeilles, les ovaires se développent progressivement jusqu'à la ponte des oeufs. Les ouvrières constituent donc un domaine intéressant de recherches pour l'ovaire.

Cet ovaire est de type méroïstique polytrophique. Le follicule comporte un ovocyte accompagné de 47 trophocytes et une assise de cellules folliculaires qui enveloppent l'ensemble ovocyte- trophocytes (HESS, 1942; ENGELS, 1968). A l'éclosion, l'ouvrière adulte comporte 2 à 20 ovarioles alors que la reine en compte 160 à 180 par ovaire (VELTHUIS, 1970a; VELTHUIS et al., 1971).

Le développement précoce des abeilles pourrait provenir de l'absence de contact avec la phéromone mandibulaire de la reine et la phéromone de couvain (PANKIW et al., 1998 ; Le CONTE et al., 2001). En absence de la reine et du couvain, 72% des ouvrières développent leurs ovaires (KASTURIBAI et CHANDRASHERKAR, 1975). Ces ouvrières deviennent agressives et compétitives en entraînant une mortalité souvent importante d'abeilles (VELTHUIS, 1987). Chez l'abeille du Cap, *Apis mellifera capensis*, il n'y a pas d'agression entre les fausses reines (MORITZ et al., 2004). A l'exception de cette race chez laquelle la parthénogenèse télythoïque est fréquente, les ouvrières pondeuses d'œufs n'engendrent que des mâles (Louveaux, 1985).

La classification des stades du développement ovarien de l'abeille ouvrière est abordée par simple appréciation de la taille et l'observation de la forme de l'ovaire (HESS, 1942; SAKAGAMI et AKAHIRA, 1958; VERHEIJEN-VOOGD, 1959), la forme des œufs des abeilles ouvrières (VELTHUIS, 1970a) et l'évolution du volume de l'ovocyte chez la reine *Apis mellifica* (JOSEPH-TORRES, 1980).

Cette classification demeure jusqu'à présent incomplète et imprécise voire même parfois ambiguë. C'est pourquoi nous avons été amenés à étudier la biométrie ovarienne chez l'abeille ouvrière basée sur des caractères qui n'ont jamais été abordés auparavant. Cette étude va nous permettre de catégoriser les abeilles de même âge et suivre l'évolution de leur développement ovarien dans le temps. Il n'est pas sans importance de déceler éventuellement le taux des abeilles qui auront le pouvoir de contrôle d'inhibition sur les autres abeilles pour imposer une certaine hiérarchie dans leur petite société.

L'inhibition ovarienne peut être déterminée par l'appauvrissement du régime nutritionnel des larves (VELTHUIS, 1970a), par le CO₂, l'exposition à la lumière, par la présence de la reine (BUTLER et FAIREY, 1963 ; VELTHUIS, 1970a) et du couvain ouvert ou fermé d'ouvrières (JAY, 1970 ; 1972). En fait, L'inhibition est maintenue par la phéromone mandibulaire de la reine (BUTLER et FAIREY, 1963) et la phéromone de couvain (Le CONTE et al., 1989; TROUILLER et al., 1991; ARNOLD et al., 1994; MOHAMMEDI et al., 1998), ou plus tôt l'un des ses composés, le palmitate d'éthyle (MOHAMMEDI et al., 1998). La phéromone de couvain est un mélange de dix esters d'acides gras méthylique et éthylique (ARNOLD et al., 1994).

Chez beaucoup d'insectes, le développement des oeufs est contrôlé par l'hormone juvénile (HJ). La régulation des quantités d'hormone juvénile (HJ) par les conditions

environnementales et de la colonie est sous la capacité des ouvrières à répondre au changement des besoins de la colonie (ROBINSON, 1987). Ainsi, la teneur de l'hormone juvénile hémolympatique, de 100 ng/ml, d'une petite colonie de jeunes abeilles âgées d'une semaine est presque égale à celles âgées de trois semaines (ROBINSON et al., 1998).

Pour mieux connaître l'évolution de l'ovaire de l'abeille ouvrière mellifère orpheline, nous avons été amenés à étudier le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal sous contrôle de la phéromone de couvain synthétique et l'application topique de l'hormone juvénile 3. Cette étude n'a jamais été abordée auparavant.

Les recherches effectuées sur les Insectes sociaux demeurent relativement rares, notamment en cytologie ultrastructurale.

L'étude histologique du follicule ovarien a été effectuée durant seulement la prévitellogenèse, chez l'abeille *Apis mellifera*, tant au niveau de l'ovocyte (VELTHUIS, 1970a ; ENGELS, 1973 ; GUTZEIT et al., 1993) qu'au niveau des trophocytes via la croissance d'endopolyplôïdes de leurs noyaux (ENGELS, 1968 ; JOSEPH-TORRES, 1980 ; GUTZEIT et al., 1993). Quant aux cellules folliculaires périovocytaires, l'intérêt est porté sur l'espace entre ces cellules chez la reine d'abeille (FLEIG et al., 1991) et entre celles-ci et l'ovocyte (RACCAUD-SCHOELLER (1980). Le rôle de ces cellules est également évoqué en ce qui concerne la production de la membrane vitelline (RACCAUD-SCHOELLER, 1980), le chorion (MARGARITIS, 1985) et les ecdystéroïdes chez *Locusta migratoria* (GOLTZENE et al., 1978), *Nauphaeta cinerea* (ZHU et al., 1983) et *Labidura riparia* (SAYAH et al., 1991).

L'étude ultrastructurale de l'ovocyte s'est limitée à la pinocytose des protéines vitellines de l'hémolymphe chez l'abeille *Apis mellifera* (ENGELS, 1968) et aux polysaccharides hémolympatiques chez le Grillon, *Gryllus capitatus* (FAVARD-SÈNÈRO, 1969). Les ovaires sont aussi analysés chez la fourmi ouvrière *Formica ant* (JOHAN BILLEN, 1985) et le dermoptère *Labidura riparia* (BREUZET, 1990). Les cellules folliculaires sécrètent de la vitellogénine qui s'incorpore dans l'ovocyte chez *Apis mellifera* (FLEIG, 1995). La relation de la croissance entre l'ovocyte et les cellules folliculaires chez la fourmi ouvrière *Formica ants* (JOHAN BILLEN, 1985) et la régulation de la migration des vésicules par les microfilaments durant la maturation ovocytaire (SUN et SCHATTEEN, 2006) ont été également étudiées.

La nutrition de l'ovocyte par les trophocytes notamment pendant la prévitellogenèse a retenu l'attention de plusieurs auteurs. Les organites chez *Apis* (RAMAMURTY, 1977) et les métabolites chez *Formica* (JOHAN BILLEN, 1985) migrent des trophocytes vers l'ovocyte. Le processus de migration des organites chez *Sialis mitsuhashii* (MATSUZAKI et ANDO, 1977) et phthirapterans (ZELAZOWSKA et BILSKI, 2001) a été étudié. Les trophocytes étant pauvres en réticulum endoplasmique et en appareil de Golgi ne s'impliquent pas activement dans la synthèse vitelline (ENGELS, 1973; JOHAN BILLEN, 1985).

Une description cytologique approfondie de l'ovaire s'avérerait donc nécessaire, en particulier chez *Apis* où il n'existe aucune donnée récente. Nous avons recherché les caractères ultrastructuraux de l'ovocyte basal et les cellules folliculaires périovocytaires pour déterminer avec précision les stades de développement et rechercher les relations qui pourraient exister entre les structures observées et le fonctionnement du tissu adipeux. Aussi, pour mieux expliquer le processus évolutif de l'ovaire, nous avons étudié l'ultrastructure du tissu adipeux périovarien.

La fonction de l'ovaire est liée, entre autre, au tissu adipeux qui est nommé aussi corps gras. Ce tissu subit de multiples variations sous l'effet de facteurs internes ou externes. Le tissu adipeux comprend un ou deux types de cellules selon les ordres. Les cellules grasses

ou cellules adipeuses ou adipocytes accumulent des enclaves paraplasmiques composées de glucides, de lipides et de protéines. Les déchets du métabolisme purique et des sels minéraux peuvent s'accumuler dans les adipocytes ou, chez certains ordres d'insectes, dans la cellule à urates appelée aussi cellule à concrétions. De plus, les oenocytes ont été décrits dans le tissu adipeux de certains insectes.

Les premiers travaux consacrés aux hyménoptères font état de relations entre la différenciation en castes et les modifications structurales des adipocytes au cours du développement post-embryonnaire (*Apis*, BISHOP, 1923). Cependant, bien que les données récentes sur le tissu adipeux des Insectes soient considérables, aussi bien en biochimie qu'en cytologie (MARTOJA, 1976 ; BREUZET, 1990), les recherches effectuées sur les Insectes sociaux demeurent relativement rares, notamment en cytologie ultrastructurale.

Les connaissances acquises chez les Hyménoptères ont essentiellement porté chez *Calotermes* sur l'évolution des adipocytes dans les différentes castes au cours de la vie post-embryonnaire, et chez *Cubitermes*, *Macrotermes* sur une différenciation liée au sexe femelle après la mue imaginale (JEANTET, 1981).

Une seule étude ultrastructurale, maintenant très ancienne chez l'abeille, se limite aux adipocytes de la reine d'*Apis* (BISHOP, 1958) et les trois castes de la fourmi, *Formica polyctena* (JEANTET, 1981). Ainsi, une recherche sur les caractères ultrastructuraux des adipocytes périovariens chez les abeilles ouvrières d'*Apis* s'impose.

Le tissu adipeux représente, chez les Insectes, l'organe où se déroule l'essentiel du métabolisme intermédiaire. Son rôle d'organe de synthèse des protéines hémolympatiques a été démontré pour la première fois chez *Bombyx mori* (SHIGEMATSU, 1958) puis chez *Locusta migratoria* (CLEMENTS, 1959). Chez la femelle adulte, les protéines indispensables à l'élaboration du vitellus ont été mises en évidence pour la première fois chez *Hyalophora* (TELFER et WILLIAMS, 1953) et leur synthèse par le tissu adipeux chez *Locusta* (HILL, 1965). De nombreux travaux, tant biochimiques qu'histo-autoradiographiques, ont mis en évidence la synthèse de la vitellogénine dans les adipocytes, ainsi que la dépendance hormonale de ce phénomène et ses étroites relations avec le cycle d'activité ovarienne (ENGELMANN, 1979). Des données cytologiques sont récemment venues compléter ces résultats (*Orthoptères*, LAUVERJAT, 1977 ; COUBLE et al., 1979 ; *Coléoptères*, DORTLAND et HOGENESH, 1979 ; *Diptères*, BEHAN et HAGEDORN, 1978).

En ce qui concerne la synthèse de lipides intracytoplasmiques, il semble logique de penser que la formation des triglycérides fasse intervenir des lipoprotéines hémolympatiques. Chez de nombreux Insectes les lipides de réserves sont accumulés essentiellement sous forme de triglycérides dont la concentration peut atteindre 99% des lipides totaux (BEENAKKERS et al., 1968). Nous avons analysé, chez l'abeille ouvrière d'*Apis*, l'évolution du tissu adipeux pour rechercher les relations qui pourraient exister entre les structures observées et le fonctionnement ovarien.

Cependant, en ce qui concerne le lieu et le mode de formation des précurseurs vitellins, deux hypothèses ont été émises par les auteurs. Dans le premier cas, assez fréquemment répandu (COUBLE et al., 1979), le REG n'intervient qu'en étroite association avec l'appareil de Golgi. Dans le second cas, qui, jusqu'à présent, ne concerne que les coléoptères, le REG joue dans cette élaboration le rôle prépondérant, voire essentiel, sans intervention golgienne. En raison de la dualité des interprétations proposées, nous avons recherché,

dans les adipocytes, quels sont les organites éventuellement impliqués dans la synthèse des lipides destinés à l'élaboration des vitellogénines puis à l'ovaire.

En fait, notre travail est abordé en six chapitres. Le 1^{er} traitera la conduite d'élevage des abeilles ouvrières orphelines au laboratoire et les techniques de traitements phéromonaux et hormonaux ainsi que les techniques de fixation de tissu pour la microscopie photonique et électronique. Ce travail est suivi dans un 2^{ème} chapitre par l'étude biométrique de l'ovaire en vue de déterminer les stades de développement ovarien. Le chapitre 3 examinera l'effet d'inhibition de la phéromone de couvain et de l'hormone juvénile 3 sur l'ovaire chez les ouvrières en état d'orphelinage. L'histologie classique de l'ovaire abordée dans le chapitre 4 va compléter et servir de repère pour une étude ultrastructurale à laquelle est consacrée un chapitre 5. Le chapitre 6 traitera l'histologie et l'ultrastructure du tissu adipeux périovarien pour mettre en évidence la relation qui pourrait exister entre les modifications structurales de cet organe et le fonctionnement de l'ovaire. Dans ce chapitre, nous allons également découvrir les lieux et les modes de synthèse des lipides et des protéines par les adipocytes.

Chapitre I. MATERIEL ET METHODES

I. Matériel biologique

Les abeilles naissantes de la race *Apis mellifera mellifera* ont été fournies par l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Paris. Les expériences sont menées au laboratoire de physiologie des insectes de l'université Pierre et Marie Curie, Paris VI.

II. TECHNIQUES EXPERIMENTALES

1. Elevage des abeilles

24 heures après l'émergence, 8 cagettes de 100 abeilles chacune sont maintenues en conditions constantes d'élevage : cagette type "INRA" 6x8x10 cm, température $32 \pm 1^\circ \text{C}$., humidité relative $75 \pm 5\%$, nourriture permanente de *Candy* (44,4% miel + 44,4% sucre glace + 11,2% pollen) et de l'eau.

Nous avons effectué un élevage parallèle pendant les mois de février, mars, avril et mai afin de déterminer la meilleure période du développement ovarien. Durant chaque mois, 5 abeilles, choisies au hasard, ont été sacrifiées à l'âge de 14 jours. Cet échantillon était largement suffisant pour déceler le nombre maximal d'ovarioles par ovaire, sans pour autant tenir compte de la taille des ouvrières. Les mois de mars et avril ont été retenus pour le suivi du développement ovarien. Les mortalités naturelles pendant la durée d'élevage sont inférieures à 10%.

2. Pesage de l'ovaire

Pour chaque catégorie d'âge, 20 ouvrières sont endormies avec le CO₂ et disséquées dans la solution physiologique *Ringer*. La paire d'ovaires est coupée à la base de l'oviducte médian ensuite essorée à l'aide d'un papier absorbant et pesée dans une balance de précision.

3. Mesure de la longueur de l'ovariole et de l'ovocyte basal correspondant

Pour chaque catégorie d'âge, les ovarioles sont bien étalés sur une lame, dans une goutte de *Ringer*. À l'aide d'une règle graduée, sous la chambre claire du stéréoscope, la longueur de l'ovariole et celle de l'ovocyte basal le plus développé sont mesurées suivant l'axe médian. Le dénombrement des ovarioles par ovaire et des follicules par ovariole était également effectué.

4. Traitement phéromonal et hormonal

4.1. Phéromone de couvain

La phéromone de couvain est composée de 10 esters d'acide gras. Elle est secrétée dans les proportions normalement recueillies sur le couvain mâle au 5ème stade larvaire (ARNOLD et *al.*, 1994) : Palmitate de méthyle (16,01%), Linoléate de méthyle (3,1%), Linoléate de méthyle (36,4%), Oléate de méthyle (4,3%), Stéarate de méthyle (16,1%), Palmitate d'éthyle (5,5%), Linoléate d'éthyle (0,6%), Linoléate d'éthyle (11,1%), Oléate d'éthyle (1,8%) et Stéarate d'éthyle (4,9%). Les esters testés sont de provenance *Sigma* chimie.

Le traitement des abeilles ouvrières avec la phéromone de couvain commence 48h après l'émergence. Il se poursuit tous les deux jours jusqu'à l'âge adulte de 12 jours en imprégnant le rayon de cire avec 100µl de solution. La dose testée est de 1% (500 larves équivalent) du mélange d'ester dans l'huile de paraffine (w/w). La phéromone peut agir sur les abeilles par contact. Pour le contrôle, le rayon de cire est badigeonné uniquement avec l'huile de paraffine.

4.2. Hormone juvénile 3 (HJ III)

L'HJIII est diluée dans l'acétone à 1µg/µl. Elle est utilisée par application topique en déposant à l'aide d'une microseringue la solution hormonale au niveau de la membrane inter-tergite abdominale. La dose de HJIII testée est de 1µg à l'âge de 11 jours après l'émergence. Les abeilles servant de contrôle sont traitées avec de l'acétone seule. Les abeilles sont disséquées à l'âge de 14 jours.

4.3. Utilisation combinée de la phéromone de couvain et de l'hormone juvénile 3

La phéromone de couvain est utilisée à 1% dans les mêmes conditions que précédemment. L'HJIII à 0,5µl et 1µl par ouvrière est appliquée topiquement à l'âge adulte de 11 jours. Les abeilles traitées avec l'HJIII sont marquées au *scutum* avec une peinture appropriée.

Pour chaque cas, vingt ouvrières sont endormies avec le CO2 et disséquées dans une solution physiologique de *Ringer*. Les deux ovaires de l'ouvrière sont pesés après essorage et la longueur de l'ovocyte basal le plus développé est mesurée.

5. Calculs statistiques

Nous avons appliqué l'analyse de la variance ANOVA à 1 facteur. La comparaison des moyennes a été faite à l'aide du test t de Student.

III. TECHNIQUES MICROSCOPIQUES

1. Microscopie photonique

Les études histologiques ont été réalisées avec les techniques décrites par (MARTOJA et MARTOJA, 1967).

Les ovaires sont étalés à plat pour obtenir des coupes sagittales. Ils sont fixés au Bouin alcoolique à 3% et inclus dans la paraffine.

Les coupes de 7 μm d'épaisseur sont colorées par l'hématoxyline ferrique de Regaud, l'hémalum de Mann-Eosine ou l'Azon de Heidenhain.

Pour l'étude *in toto*, les organes sont fixés dans le formol salé.

2. Microscopie électronique

2.1. Fixations

Les ouvrières, après anesthésie par le CO₂, sont disséquées et leurs ovaires sont prélevés à sec. Ces organes sont trempés pendant 40mn à 4°C dans un premier fixateur. Celui-ci est composé de 2% de glutaraldéhyde dans un tampon phosphate de sodium 0,1M, PH 7,3 additionné de 0,01% de chlorure de calcium. La pression osmotique de ce milieu identique à celle du milieu intérieur mesurée au micro-osmomètre de Ramsay, est comprise entre 400 et 450 μosm . Après 2 rinçages successifs de 10mn chacun dans le tampon de fixation à 0,2M et PH 7,3, les pièces sont post-fixées dans le tétr oxyde d'osmium à 1% dans ce même tampon 0,1M pendant 1 heure. Cette seconde fixation est suivie d'un lavage rapide dans le tampon de fixation puis d'une déshydratation progressive dans des bains d'éthanol de degré croissant. Ensuite les pièces sont imprégnées dans la résine, Epon 812 à des volumes progressifs dans l'éthanol absolu. Ces pièces séjournent pendant 12h à 4°C dans l'épon 812. Ensuite elles seront incluses dans cette même matière pour leur polymérisation à l'étuve à 37°C puis à 60°C pendant au moins 3 jours.

2.1.1. Coupes semi-fines

Les coupes semi-fines sont réalisées à 1,5 μm d'épaisseur à l'aide d'un rasoir en verre dans un ultra-microtome de type Reichert, Austria N° 318451. Ces coupes sont collées sur lame histologique puis colorées par le bleu de toluidine dans une solution aqueuse de carbonate de sodium à 2,5%.

2.1.2. Coupes ultra-fines

Les coupes ultrafines sont effectuées dans le même ultra-microtome à l'aide d'un rasoir en diamant. Les pièces coupées sont récupérées sur des grilles du côté mat.

Les coupes ultrafines sont colorées pendant 7mn par l'acétate d'uranyle à saturation dans l'éthanol 50°, puis après un rinçage à l'eau distillée, ces coupes sont mises dans un deuxième colorant, le citrate de plomb pendant 10mn selon la technique de REYNOLDS (1963). Les coupes ultrafines sont examinées dans le microscope électronique de transmission, Philips 201.

CHAPITRE II. CARACTERISATION BIOMETRIQUE DE L'OVAIRE

Cinq caractères sont étudiés dans le présent chapitre : nombre d'ovarioles/ovaire, nombre de follicules/ovariole, longueur de l'ovariole et celle de l'ovocyte basal, et poids ovarien.

I. Résultats

1. Caractérisation biométrique des stades ovariens

Le nombre moyen d'ovarioles par ovaires gauche et droit est variable au cours des mois ; il est faible en février et mai et maximal en mars et avril. Le nombre d'ovarioles n'est pas significativement différent entre l'ovaire gauche et l'ovaire droit durant les mois de février, mars et avril ($P > 0,05$), à l'exception du mois de mai ($P < 0,05$). Le nombre total d'ovarioles des deux ovaires de l'ouvrière est significativement différent entre les mois de février et mars ($P < 0,01$), et entre les mois d'avril et mai ($P < 0,05$) ; mais, la différence n'est pas significative entre les mois de février et mai voire même entre mars et avril ($P > 0,05$). Durant seulement les mois de mars et avril, 20% (1/5) des ouvrières ont leur ovaire composé de 14 à 20 ovarioles (Tab.1, fig.1).

mois	février (n = 5)	mars (n = 5)	avril (n = 5)	mai (n = 5)
Nombre d'ovarioles/ovaire gauche	2.8 ± 0.83 ^a	9 ± 6 ^a	8 ± 7.96 ^a	2.8 ± 0.44 ^{**}
Nombre d'ovarioles/ovaire droit	2.4 ± 1.51 ^a	7.6 ± 4.82 ^a	7.4 ± 6.76 ^a	1.8 ± 0.43 ^{**}
Nombre d'ovarioles/ouvrière	2.6 ± 1.17 ^c	8.3 ± 5.19 ^d	7.7 ± 6.97 ^d	2.3 ± 0.82 ^c
Nombre d'ovarioles mini-max	1 - 5	2 - 18	1 - 20	1 - 3
Nombre d'abeilles pourvues de 10 à 12 ovarioles/ovaire	0/5 (0%)	1/5 (20%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)
Nombre d'abeilles pourvues de 14 à 20 ovarioles/ovaire	0/5 (0%)	1/5 (20%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)

Tableau 1: Nombre d'ovarioles /ovaire /mois

Anova, 1facteur, n = nombre d'abeilles, moy. ± écart type, test t Student.

Dans une même ligne, les valeurs moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes a ; c ; d ($P > 0.05$) ; celles suivies par les lettres différentes sont significativement différentes c, d ($P < 0.01$) ; d, c ($P < 0.05$)

Dans une même colonne, les valeurs moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes a ($P > 0.05$) ; celles suivies par la même lettre plus un astérisque sont significativement différentes a* ($P < 0.05$).

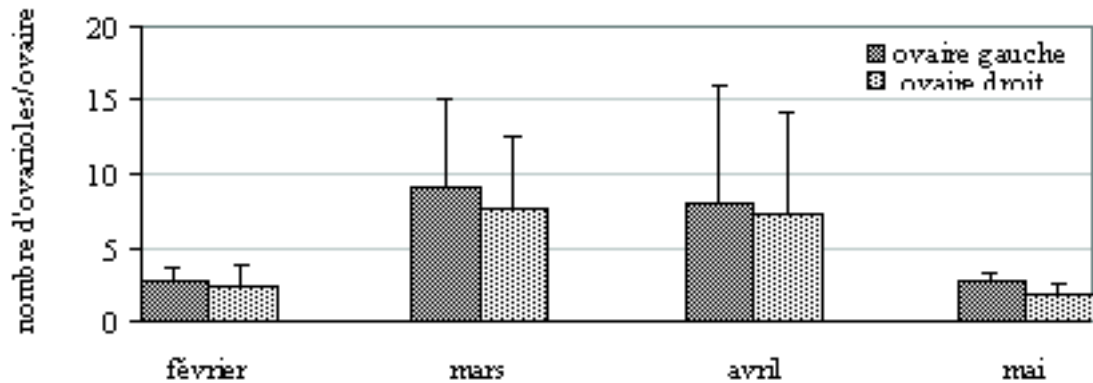


Fig. 1 Evolution du nombre d'ovarioles/ovaire/mois

Nombre d'ovarioles non significativement différent ($P > 0,05$) entre ovaires gauche et droit en février/mars/avril. Nombre total d'ovarioles des deux ovaires significativement différent entre février/mars ($P < 0,01$) et entre avril/mai ($P < 0,05$) ; pas de différence significative entre février/mai et entre mars/avril ($P > 0,05$). 14 à 20 ovarioles/ovaire chez 20% (1/5) des ouvrières en mars/avril. Anova, $n = 5$, moyenne \pm écart type, test t Student.

Pendant la prévitellogenèse, la croissance folliculaire des stades 1, 2 et 3 est constante et lente. La longueur moyenne de l'ovariole est de $1,58 \pm 0,4$ mm. Pendant la vitellogenèse, la longueur de l'ovariole s'accroît rapidement et atteint son maximum avec 20 ovocytes dont 11 sont en état de follicule (Tab.2, fig.2).

Outre le nombre de follicules/ovariole, la longueur de l'ovariole et celle de l'ovocyte basal ainsi que le poids ovarien peuvent caractériser les différents stades de développement: Le stade 1 correspond à un ovariole de $1,1 \pm 0,14$ mm de long comportant 1 à 2 follicules dont l'ovocyte basal mesure $0,041 \pm 0,014$ mm de long. Le poids de l'ovaire au stade 1, tout âge confondu, est de $0,696 \pm 0,229$ mg.

Le stade 2 qualifie l'ovariole de $1,37 \pm 0,12$ mm de long dont l'ovocyte basal est de $0,106 \pm 0,018$ mm de long. C'est à ce moment que commence le gonflement du troisième follicule basal créant ainsi une constriction entre l'ovocyte et la grappe de trophocytes. Le poids ovarien, à ce stade, est de $0,812 \pm 0,233$ mg, et ce, à tout âge confondu.

Le stade 3 se caractérise par une longueur de la grappe de trophocytes approximativement égale à celle de l'ovocyte lequel mesure à tout âge confondu $0,286 \pm 0,066$ mm de long. Le poids de l'ovaire est d'une moyenne de $2,088 \pm 0,772$ mg. La longueur de l'ovariole, à la fin de ce stade, est de $2,1 \pm 0,12$ mm.

Le stade 4 ou phase de vitellogenèse se qualifie d'un ovariole d'une longueur de $4,05 \pm 0,35$ mm et celle de l'ovocyte basal est de $0,637 \pm 0,132$ mm, tout âge confondu. A ce stade, l'ovocyte basal devient plus long que sa grappe de trophocytes et l'ovaire pèse $2,389 \pm 0,986$ mg.

Étude du fonctionnement de l'appareil Génital chez L'abeille ouvrière orpheline, Apis mellifera Linné (Hymenoptera, Apidae)

Le stade 5 ou fin de la vitellogenèse se caractérise par un ovariole de $7,09 \pm 1,2$ mm de long et comportant 11 follicules. L'ovocyte basal est de $1,375 \pm 0,260$ mm de long et l'ovaire atteint $3,972 \pm 1,915$ mg, tout âge confondu (Tab.3, fig.2).

Nombre de follicules / ovariole	Longueur de l' ovariole (mm) (n = 10 à 20)	longueur de l'ovocyte basal (mm) (n = 10 à 20)
1	1.00 ± 0.05	0.032 ± 0.01
2	1.20 ± 0.05	0.067 ± 0.01
3	1.37 ± 0.12	0.098 ± 0.01
4	1.63 ± 0.15	0.132 ± 0.01
5	1.79 ± 0.15	0.165 ± 0.02
6	1.96 ± 0.17	0.23 ± 0.05
7	2.10 ± 0.12	0.35 ± 0.05
8	3.45 ± 1	0.48 ± 0.18
9	4.65 ± 0.5	0.82 ± 0.41
10	5.73 ± 1.4	1.23 ± 0.46
11	7.09 ± 1.02	1.57 ± 0.22

Tableau 2: Evolution de la longueur de l'ovariole et de l'ovocyte basal correspondant (mm)

(ANOVA à 1 facteur, n = nombre d'abeilles, Moyenne \pm écart type)

De 1 à 7 follicules : stades de prévitellogenèse ; croissance constante et lente des ovarioles et des follicules.

De 8 à 11 follicules : stades de vitéllogenèse ; croissance accélérée des ovarioles et des follicules.

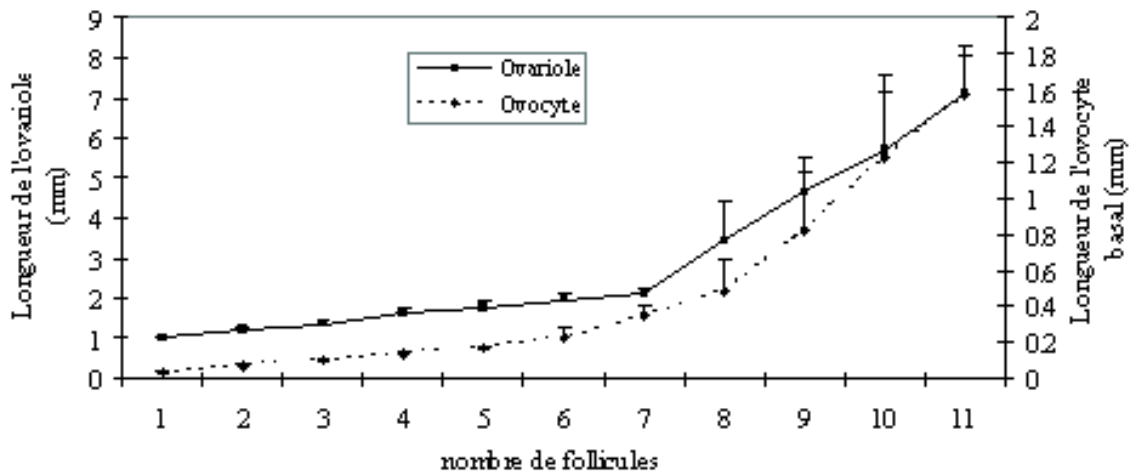


Fig. 2 : Evolution de la longueur de l'ovariole et de l'ovocyte basal (mm)

Croissance des ovarioles et ovocytes basaux : vitesse constante aux stades 1, 2 et 3 ; accélérée aux stades 4 et 5. Longueur maximale de l'ovariole : $7,09 \pm 1,02$ mm

Ovocyte basal du 11^{ème} follicule: $1,57 \pm 0,22$ mm de long. Anova à 1 facteur ; n = 10 à 20, moy. \pm écart type

Étude du fonctionnement de l'appareil Génital chez L'abeille ouvrière orpheline, Apis mellifera Linné (Hymenoptera, Apidae)

âge (jour)		6j	8j	10j	12j	14j	16j	18j	20j	Tout âge confondu
Stade 1 (1 - 2 follicules) N = 2 à 19	Ovocyte basal	0,042 ± 0,0149 _a	0,044 ± 0,017 _a	0,033 ± 0,017 _a	0,049 ± 0,017 _a	0,033 _a	0,033 _a	0,033 _a	0,044 ± 0,017 _a	0,040 ± 0,014
	Poids ovarien	0,594 ± 0,241 _α	0,783 ± 0,204 _α	0,7 ± 0,236 _α	0,862 ± 0,13 _α	0,85 ± 0,070 _α	0,666 ± 0,115 _α	0,72 ± 0,311 _α	0,65 ± 0,216 _α	0,696 ± 0,229
	Pourcentage	95%	30%	30%	40%	10%	15%	25%	30%	
Stade 2 (3 - 4 follicules) N = 3 à 10	Ovocyte basal	0,099	0,109 ± 0,016 _b	0,085 _c			0,132			0,106 ± 0,018
	Poids ovarien	0,8	0,758 ± 0,177 _α	0,733 ± 0,152 _α			1,25 ± 0,212 _β			0,812 ± 0,233
	Pourcentage	5%	50%	15%			10%			
Stade 3 (5 - 7 follicules) N = 3 à 8	Ovocyte basal		0,22 ± 0,095 _d	0,264 _d	0,33 _d	0,301 ± 0,073 _d	0,264 ± 0,07 _d	0,33	0,33	0,266 ± 0,065
	Poids ovarien		1,2 _α	1,7 ± 0,529 _γ	2,6 ± 0,115 _σ	2,312 ± 0,898 _σ	2,45 ± 0,208 _σ	0,9	2,2	2,088 ± 0,772
	Pourcentage		15%	20%	20%	40%	20%	5%	5%	
Stade 4 (8 - 9 follicules) N = 2 à 11	Ovocyte basal		0,66	0,396 _e	0,66 _{e+}	0,71 ± 0,133 _{e*}	0,655 ± 0,068 _{e*}	0,669 ± 0,126 _{e*}	0,649 ± 0,121 _{e*}	0,636 ± 0,132
	Poids ovarien		0,8	1,6 ± 0,336 _γ	1,9 _γ	3,75 ± 1,369 _{γ*}	2,314 ± 0,318 _σ	2,554 ± 1,025 _σ	2,29 ± 0,306 _σ	2,389 ± 0,966
	Pourcentage		5%	20%	10%	20%	35%	55%	50%	
Stade 5 (10-11 follicules) N = 3 à 6	Ovocyte basal			1,122 ± 0,118 _f	1,138 ± 0,128 _f	1,43 ± 0,17 _g	1,62 ± 0,016 _g	1,47 ± 0,419 _g	1,56 ± 0,212 _g	1,375 ± 0,260
	Poids ovarien			2,566 ± 1,965 _γ	2,8 ± 1,117 _γ	3,733 ± 0,983 _γ	5,25 ± 2,335 _γ	5,33 ± 2,793 _γ	5,13 ± 1,814 _γ	3,972 ± 1,915
	Pourcentage			15%	30%	30%	20%	15%	15%	

Tableau 3 : Longueur de l'ovocyte basal (mm) et poids ovarien (mg) à différents stades de développement en fonction de l'âge de l'abeille ouvrière orpheline

Anova, 1facteur, N = nombre d'abeilles, moy. ± écart type, test t de Student.

Légende tableau 3: - Concernant la longueur de l'ovocyte basal : Dans une même ligne, les valeurs moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes a ; d ; e ; f ; g (P>0.05) ; celles suivies par les lettres différentes sont significativement différentes b, c (P<0.05) ; f, g (P<0.01). Dans une même colonne, les valeurs moyennes suivies par les lettres différentes sont significativement différentes a, b ; d, e* ; e, f ; e, g (P<0,0001) ; e+, f ; e*, g (p<0,001).

- Concernant le poids ovarien : Dans une même ligne, les valeurs moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes α ; γ ; σ (P>0,05) ; celles suivies par les lettres différentes sont significativement différentes α,β ; γ, σ (P<0,05).

Dans une même colonne, les valeurs moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes α ; γ ; σ (P>0.05) ; celles suivies par les lettres différentes sont significativement différentes α, γ ; α, β ; σ, γ* (P<0,05) ; β, σ ; σ, γ (P<0,01).

2. Signification des valeurs biométriques des stades ovariens et leur pourcentage

Pour caractériser les stades ovariens, nous avons calculé leur signification biométrique et évalué leur pourcentage en fonction de l'âge des abeilles.

A l'âge adulte de 6 jours, 95% (19/20) des ouvrières sont au premier stade de développement ovarien. Ce taux se réduit à 30% (6/20) à l'âge adulte de 20 jours. Il n'y a pas de différence significative de la longueur de l'ovocyte basal et du poids ovarien du stade 1 entre les abeilles âgées de 6 à 20 jours ($P > 0,05$). A l'âge de 6 jours, il y a 5% (1/20) des abeilles qui sont au deuxième stade de développement ovarien.

A l'âge de 8 jours, 30% des abeilles sont au stade 1, 50% au stade 2 et 15% au stade 3. La longueur de l'ovocyte basal entre ces différents stades respectifs est très hautement significative ($P < 0,0001$). Par contre, la différence de poids ovarien entre ces stades demeure non significative ($P > 0,05$). A cet même âge, 5% (1/20) des abeilles sont au quatrième stade de développement mais avec un poids ovarien relativement faible.

A l'âge adulte de 10 jours, apparaissent des taux de 20% (4/20) des ouvrières de stades 3 et 4 et 15% (3/20) du stade 5. Le poids ovarien entre ces trois stades respectifs n'est pas significativement différent ($P > 0,05$). Par contre, la longueur de l'ovocyte basal entre les stades 4 et 5 est d'une différence très hautement significative ($P < 0,0001$).

A l'âge adulte de 12 et 14 jours, apparaissent 30% (6/20) des abeilles à ovaire du stade 5. Le poids ovarien est significativement différent entre les stades 3 et 4 ($P < 0,01$; $P < 0,05$) mais ne l'est pas entre les stades 4 et 5 ($P > 0,05$) respectivement. La différence de la longueur de l'ovocyte basal entre les stades 3 et 4 et entre 4 et 5 chez les abeilles de 14 jours est hautement significative respectivement ($P < 0,0001$; $p < 0,001$).

Donc, durant la deuxième semaine de la vie adulte des ouvrières, jusqu'à l'âge de 14 jours, la différence de la longueur de l'ovocyte basal entre les stades respectifs 1, 2, 3, 4, et 5 est très hautement significative. Par contre, la différence de poids ovarien n'est pas observée entre ces stades respectifs sauf entre les stades 3 et 4 à l'âge de 12 et 14 jours.

Durant la troisième semaine de la vie adulte des abeilles, à l'âge de 16 à 20 jours, la différence entre les stades 4 et 5 est très significative aussi bien au niveau de la longueur de l'ovocyte basal ($P < 0,0001$) que du poids ovarien ($P < 0,01$) (Tab.3, fig. 3 et 4).

Quant au taux des différents stades de développement ovarien, le pourcentage des abeilles en prévitellogenèse des stades 1, 2 et 3 demeure en régression au profit de celui des abeilles en vitellogenèse des stades 4 et 5, et ce, avec la progression d'âge. Finalement, à l'âge de 20 jours, la population d'abeilles est composée des catégories suivantes : 30% (6/20) du stade 1 ; 5% (1/20) du stade 3 ; 50% du stade 4 ; 15% du stade 5 (Tab.3).

Depuis l'âge de 16 à 20 jours, les abeilles en fin de la vitellogenèse ou stade 5 ne sont pas significativement différentes entre elles aussi bien vis-à-vis du poids ovarien que de la longueur de l'ovocyte basal ($P > 0,05$) (Tab.3, fig.3 et 4).

Toutefois, chez les abeilles âgées de 18 à 20 jours, 5% (1/20) ont un poids ovarien moyen maximal de $7,5 \pm 0,42$ mg significativement différent de celui des 10% (2/20) d'abeilles ($4,1 \pm 1,48$ mg), ($P < 0,05$). La différence de la longueur moyenne respective de l'ovocyte basal chez ces deux groupes n'est pas significative $p > 0,05$. Donc le groupe des 5% d'abeilles peut être considéré comme sexuellement mûr du fait de l'importance de son poids ovarien. L'ovaire de ces abeilles est probablement du stade 6.

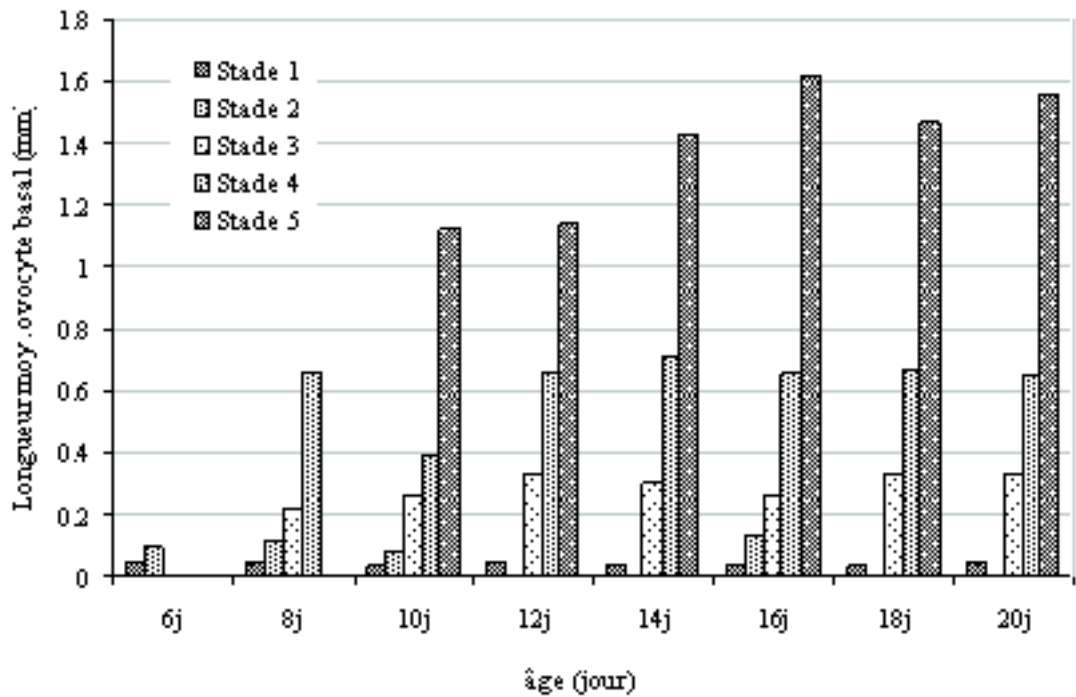


Fig.3 : Longueur de l'ovocyte basal à différents stades de développement de l'abeille ouvrière orpheline (mm)

De 8 à 20 jours : Différence très hautement significative de la longueur de l'ovocyte basal entre les stades respectifs 1, 2, 3, 4, et 5 ($P < 0,0001$).

De 14 à 20 jours : Différence non significative de la longueur de l'ovocyte basal entre les abeilles du stade 4 et entre celles du stade 5 ($P > 0,05$).

Anova à 1 facteur, $n = 20$ abeilles, moyenne, test t de Student.

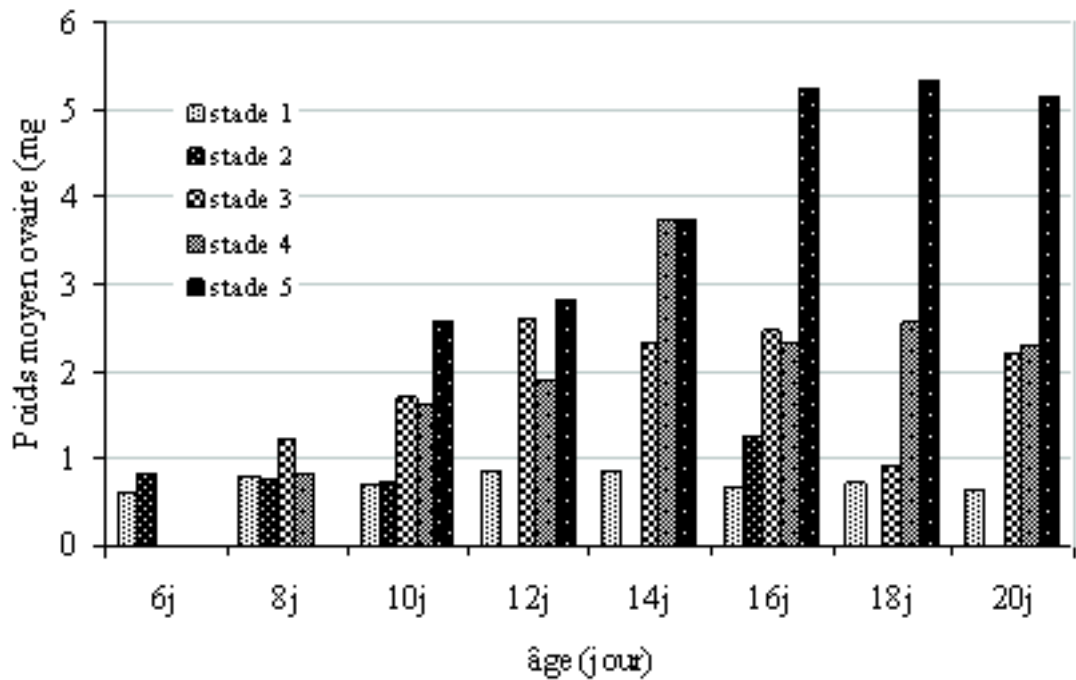


Fig.4 : Poids de l'ovaire à différents stades de développement de l'abeille ouvrière orpheline (mg)

Légende fig. 4 De 8 à 14 jours : Pas de différence significative de poids ovarien entre les stades respectifs 1, 2, 3, 4, et 5 ($P > 0.05$) sauf entre 3 et 4 à l'âge de 12 et 14 jours.

De 16 à 20 jours : Différence de poids ovarien très significative entre les stades 4 et 5 ($P < 0,01$). Différence de poids ovarien non significative entre les abeilles du stade 5 ($P > 0.05$). De 18 à 20 jours : Différence significative de poids ovarien entre 5% (1/20) d'abeilles ($7,5 \pm 0,42$ mg) et 10% (2/20) d'abeilles ($4,1 \pm 1,48$ mg), ($P < 0,05$). Anova à 1 facteur, $n = 20$ abeilles, moy. \pm écart type, test t de Student.

II. Discussions

L'importance du nombre d'ovarioles par ovaire chez les ouvrières peut être liée à l'instinct d'élevage de reines et aux meilleures conditions d'entretien des larves pendant la période du printemps.

En fait, les fonctions de l'ovaire sont souvent conditionnées par les facteurs externes. La ponte de la reine est intimement liée au rythme des saisons, lequel conditionne l'évolution de la végétation qui fournit à l'abeille sa subsistance. En chaque lieu selon la latitude, l'altitude et les particularités climatiques, il existe pour les abeilles un cycle idéal de développement, accordé au cycle des floraisons. Quand le cycle de développement de la colonie atteint son maximum, la population adulte devient abondante et l'instinct d'élevage de reines est déterminé. L'étendu du couvain devient aussi important. Il attire par son odeur de nombreuses ouvrières. Ce signal ne peut être perçu que par contact direct des ouvrières avec le couvain (HUANG et *al.*, 1989). Ainsi, le palmitate de méthyle et l'oléate d'éthyle stimulent la synthèse protéique des glandes mandibulaires des nourrices (MOHAMMEDI et *al.*, 1996).

L'essaimage naturel intervient dans un contexte d'euphorie et de prépondérance des miellées (Louveaux, 1985). Il peut dépendre de l'étroitesse de la ruche (Haccour, 1984), de sa mauvaise aération ou de son exposition exagérée au soleil (Gatineaux, 1984 ; Louveaux, 1985). Les facteurs génétiques peuvent être également à l'origine de l'essaimage naturelle (Bertrand, 1977; Louveaux, 1985). Les colonies ayant leurs mères plus âgées sont plus disposées à la reproduction. Ainsi, les larves royales sont nourries avec beaucoup d'affection et de sollicitude (Bertrand, 1977 ; Jeanne, 1985). En cas de sénilité de la reine ou d'incompatibilité entre la reine et la population d'abeilles, les ouvrières remplacent l'ancienne par une jeune reine sans essaimage. C'est le cas de remèrage par supersédure (Louveaux, 1985).

Le nombre d'ovarioles par ovaire durant les mois de l'année peut faire l'objet d'une étude approfondie en tenant compte de la taille et du poids des ouvrières ainsi que d'autres facteurs. Pendant la prévitellogenèse, bien que le nombre de follicules formés ait été important, la longueur de l'ovariole demeure relativement faible ; la taille des follicules est encore petite. C'est ainsi que l'ovaire est qualifié de stade 1 (HESS, 1942), de degré zéro ou rudimentaire (SAKAGAMI et AKAHIRA, 1958) et presque inactif (VELTHUIS, 1970a). Le stade 2 est défini comme un niveau de développement de degré 1 (SAKAGAMI et AKAHIRA, 1958) et de classe 2 puisque les ovocytes ont la forme d'haricot et apparaissent entourés d'une couche claire (HESS, 1942; VELTHUIS, 1970a). Le stade 3 est qualifié d'ovaire

appartenant à la classe 3 puisque les œufs ont la forme d'une saucisse (HESS, 1942) et sont plus allongés (VELTHUIS, 1970a). Les ovocytes, étant distincts, sont considérés de degré 2 (TROUILLER et al., 1991). Le processus vitellogénétique peut être initié quand la longueur de l'ovocyte atteint 30% de sa longueur finale (FLEIG et al., 1991). Les ovaires en fin de la vitellogenèse sont placés dans la classe 5 (HESS, 1942).

Durant les stades 4 et 5 de la vitellogenèse, la croissance folliculaire est très rapide et par conséquent la longueur de l'ovariole devient plus importante.

Pendant tout le processus de développement ovarien, la différence dans la croissance ovocytaire entre les différents stades successifs était grande. Par contre, la différence dans le poids ovarien n'est observée de manière significative que pendant la troisième semaine de la vie adulte des ouvrières entre le stade 5 et les autres. C'est probablement la catégorie des futures ouvrières pondeuses qui peut avoir une influence d'inhibition sur le développement ovarien des autres ouvrières.

Etant donnée l'abeille fortement sociale, la décision collégiale est susceptible d'avoir une influence profonde sur le succès reproducteur de la colonie (Tarpy et Gilley, 2004). Ainsi, la dopamine dans la nourriture provoque une activation des ovaires d'où son rôle dans le statut reproducteur des abeilles ouvrières mellifiques orphelines (Dombroski et al., 2003). L'inhibition ovarienne est due à l'augmentation de la quantité de 2-heptanone de 3 μ g par tête à 13 jours et 11,4 μ g par tête à 20 jours produite par les glandes mandibulaires de l'ouvrière (Crewe et Hastings, 1976). Ainsi, les têtes des ouvrières pondeuses de l'abeille mellifique du cap *Apis mellifica capensis* contiennent de l'acide trans-9-oxo-décénoïque (Ruttner et al., 1976). Durant les quatre premiers jours de la vie imaginaire (Simon et al., 2001), la phéromone de la glande mandibulaire est dominée par la substance royale, l'acide 9-oxo-2-(E)-décénoïque (Moritz et al., 2000) qui persiste pendant quelques jours chez cette race d'abeilles (Simon et al., 2001).

La régression de la taille ovarienne est observée chez *Apis cerana* en présence des ouvrières pondeuses (Sakagami, 1959) lesquelles inhibent le développement ovarien chez les autres ouvrières (Dreischer, 1956; Sakagami, 1959; Velthuis et al., 1965; Velthuis, 1970b; Jay et Nelson, 1973; Kasturibai et Chandrashekar, 1975). Chez *Apis mellifica capensis* le taux de 28% des abeilles aboutissant au stade 5 diminue après 13 jours d'orphelinage (Anderson, 1962). Ainsi, la population de pseudo-clone des ouvrières pondeuses, non agressives entre elles (RUTZ et al., 1976), peut atteindre 11 \pm 13 % d'ovaires entièrement actifs (Martin et al., 2002).

Pour notre cas, il est fort probable que les 5% des abeilles ayant un poids ovarien maximal soient les futures pondeuses; les 10% restant, de second rang, peuvent être des candidates de réserves. Le taux de 5% des ouvrières qui développent leurs ovaires en présence de la reine et du couvain, mais sans précision de stade, est signalé par (Kasturibai et Chandrashekar (1975). Ces abeilles sont peut être celles qui peuvent vivre jusqu'à 9 mois (Jean Prost, 1979) et qui ne travaillent pas pendant une bonne partie de leur vie (Louveaux, 1985). Etant donné l'existence d'une corrélation significative entre la quantité de la substance royale des glandes mandibulaires (9-ODA) produite et l'activité ovarienne (Simon et al., 2005), ces abeilles semblent être en mesure d'évaluer les risques de perte de la reine.

La présente catégorie d'abeilles émergentes dans la colonie est-elle en mesure d'évaluer la fertilité de la reine? Dans ce cas, il est vraisemblable que les ouvrières productrices de la phéromone royale soient à l'origine de la décision du remplacement de la reine. L'échappement à l'effet d'inhibition ovarienne chez cette catégorie d'abeilles

s'explique probablement par l'acquisition du pouvoir de production de la phéromone mandibulaire royale. Ce phénomène ne peut être que l'une des réponses aux besoins du moment exigées par l'environnement social pour la survie de la colonie.

Au pire, les abeilles pondeuses apparaissent dans les colonies au bout de 3 à 4 jours d'orphelinage (Ruttner, 1980) car elles doivent subir, sans doute comme les reines, 4 à 5 jours de maturation sexuelle. Elles pondent des oeufs non fécondés n'engendrant que des mâles. L'abeille ouvrière du Cap, *Apis mellifera capensis* est capable de refaire une reine à partir d'un œuf non fécondé qui évolue en reine de remplacement (Louveaux, 1985).

La reine est la seule femelle fertile dans la colonie. Alors pourquoi ce taux d'abeilles proposé pour la ponte ? Nous pensons qu'il s'agit d'un phénomène de compensation et de sélection naturelle. En effet, les ouvrières édifient pendant l'essaimage naturel une à plus de 50 cellules royales (Bertrand, 1977 ; JeanProst, 1979; Louveaux, 1985). L'abeille du Tell, *Apis mellifera intermissa* bâtit plus de 100 cellules royales (Ruttner, 1980). Les reines naissantes se battent à mort. La plus vigoureuse, la plus forte et peut être la plus fertile sera la mère de la colonie. Elle pond, au printemps, 1500 à 2000 œufs par jour (Bertrand, 1977 ; De Meyer, 1984) voire même 3000 œufs par jour (JeanProst, 1979).

Dans la colonie orpheline, il doit y avoir plusieurs ouvrières pondeuses car celles qui développent leurs ovaires possèdent, du moins pour notre cas, un nombre maximal de 20 ovarioles / ovaire.

Le poids des reines, le volume de leurs ovaires et le nombre de leurs ovarioles varient en valeur décroissante avec l'âge croissant des larves prises en élevage (Gelin, 1984). La composition de la gelée royale donnée aux larves, varie pratiquement d'heure en heure. Ce qui semble fixer irrémédiablement le sort futur de la larve vers l'âge de 2 jours et demi (Louveaux, 1985). De plus, le poids des reines, leur fécondité, et la production de miel de leurs colonies décroissent dès que le nombre de reines élevées augmente (JeanProst, 1979). Ainsi, le poids moyen de 186 et 156 mg est obtenu respectivement chez 23 et 44 reines élevées (Koudjil, 1990).

Conclusion sur la biométrie ovarienne

Les résultats révèlent que 20% (1/5) des ouvrières acquièrent un développement de 14 à 20 ovarioles par ovaire pendant les mois de mars et avril. La longueur maximale de l'ovariole ayant 11 follicules atteint $7,09 \pm 1,02\text{mm}$; l'ovocyte basal du 11^{ème} follicule est de $1,57 \pm 0,22\text{mm}$ de long. L'ovaire évolue en six stades successifs. A l'âge adulte de 6 jours, 95% des ouvrières sont au stade 1. Ce taux diminue à 30% à l'âge de 20 jours. Pendant tout le processus de développement ovarien, la différence de la croissance ovocytaire entre les stades successifs était conséquente. Par contre, la différence du poids ovarien n'est observée de manière significative que pendant la 3^{ème} semaine de la vie adulte entre les abeilles du stade 5 et les autres. La catégorie des ouvrières du stade 5, aboutissant à la fin de la vitellogenèse, inhibe le développement ovarien chez les autres ouvrières. 5% (1/20) des abeilles ayant un poids ovarien maximal auraient atteint le stade 6. Elles seraient vraisemblablement les futures pondeuses.

Chapitre III. CONTRÔLE EXPERIMENTAL DE LA CINETIQUE BIOMETRIQUE DE L'OVAIRE PAR L'HORMONE JUVENILE 3 ET LA PHEROMONE DE COUVAIN

I RESULTATS

Les résultats relatifs à l'influence de la phéromone de couvain et de l'hormone juvénile 3 sur l'ovaire sont placés dans le tableau 4.

Traitements	Poids moyen de l'ovaire (mg) ± e.t.		Longueur moyenne de l'ovocyte basal (mm) ± e.t.	
	Controle (n = 20)	Traité (n = 20)	Controle (n = 20)	Traité (n = 20)
Phéromone de couvain 1%				
12 jours	1.75 ± 1.0 ^{d*}	0.43 ± 0.42 ^b	0.45 ± 0.16 ^d	0.24 ± 0.09 ^d
14 jours	2.69 ± 0.6 ^{d*}	0.58 ± 0.17 ^b	0.64 ± 0.23 ^{d*}	0.29 ± 0.2 ^{d*}
16 jours	2.46 ± 0.71 ^a	0.72 ± 0.71 ^b	0.59 ± 0.19 ^d	0.38 ± 0.19 ^d
18 jours	2.35 ± 0.66 ^a	0.66 ± 0.64 ^b	0.55 ± 0.16 ^d	0.25 ± 0.15 ^d
Homone juvenile 3 (1µg)	2.54 ± 0.6 ^a P = 10 ⁻⁹	0.2 ± 0.1 ^c	0.6 ± 0.2 ^d P<0.001	0.098 ± 0.1 ^e
Phéromone de couvain 1% + Homone juvenile 3 (0.5µg)	2.47 ± 0.5 ^a	0.24 ± 0.2 ^c	0.58 ± 0.2 ^d P<0.001	0.12 ± 0.2 ^e
Phéromone de couvain 1% + Homone juvenile 3 (1µg)	2.47 ± 0.5 ^a	0.24 ± 0.13 ^c	0.58 ± 0.2 ^{d*} P = 0.00005	0.05 ± 0.07 ^{e*}

Tab.4 Effet de la phéromone de couvain et de l'hormone juvenile 3 sur le développement ovarien

Les moyennes dans les mêmes lignes suivies par les lettres a, b; d, e sont hautement différentes (P<0.001); a, c; d*,e* sont significativement très hautement différentes (P<0.0001); d* sont significativement différentes (P<0.05); d, ne sont pas significativement différentes (P>0.05).s moyennes dans les mêmes colonnes suivies par les mêmes lettres a, b, c, d, d*, e, e* ne sont pas significativement différentes (P>0.05), mais a* sont significativement différentes (P<0.05), (ANOVA à 1 facteur, n = nombre d'abeilles de l'échantillon, e.t. = écart type).

1. Action de la phéromone de couvain sur le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal

Le traitement des ouvrières orphelines avec la phéromone de couvain à 1% entraîne une régulation du développement ovarien. A l'âge de 12 à 18 jours, pour chaque catégorie d'âge,

le poids moyen de l'ovaire est hautement différent entre les ouvrières traitées et celles non traitées ($P < 0,001$). Parallèlement, la longueur moyenne de l'ovocyte basal n'est pas significativement différente entre les ouvrières traitées et leurs témoins ($P > 0,05$) sauf celles âgées de 14 jours ($P < 0,05$).

Pour toutes les catégories d'âge, les moyennes de la longueur ovocytaire et celles du poids ovarien ne sont pas significativement différentes $P > 0,05$, ni entre les ouvrières traitées ni entre les témoins (sauf à l'âge de 12 à 14 jours pour le poids ovarien, $P < 0,05$) (Tab.4, fig.5, 6).

Cependant, à l'âge adulte de 16 jours, 15% des ouvrières traitées et 20% des témoins aboutissent à la fin vitellogenèse avec un ovocyte basal respectivement égal à $1,57 \pm 0,22$ mm et $1,62 \pm 0,016$ mm de long. Mais leur poids ovarien respectif est d'une différence hautement significative ($0,9 \pm 1$ mg contre $5,37 \pm 1,8$ mg).

A l'âge adulte de 18 jours, il n'y a que 5% des ouvrières traitées et 10% des témoins qui ont leur ovocyte basal de même longueur (1,7 mm) mais de poids ovarien respectif hautement différent (0,1mg contre $6,65 \pm 1,2$ mg).

Les moyennes de la longueur ovocytaire et du poids ovarien des ouvrières non traitées diminuent progressivement durant l'âge de 14 à 18 jours.

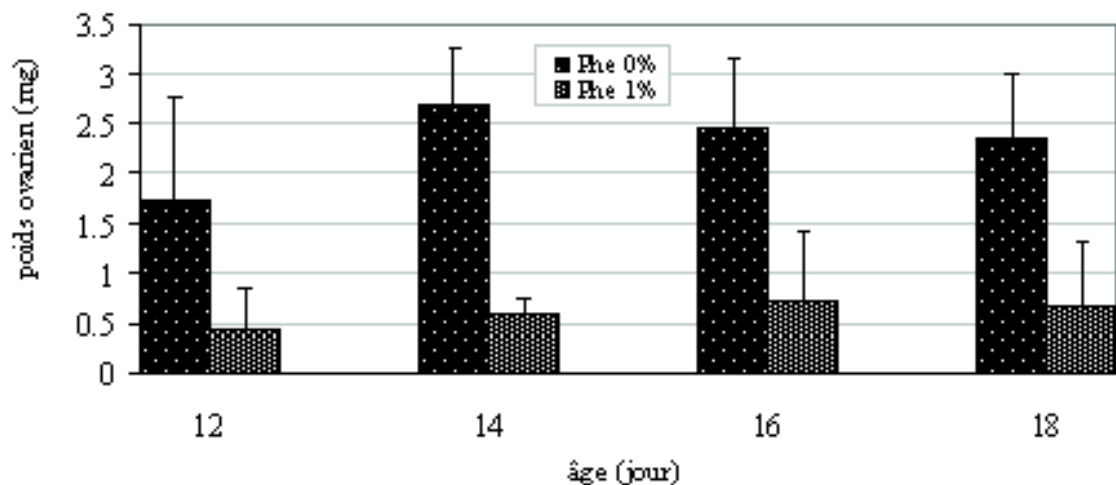


Fig. 5: Poids ovarien (mg) des abeilles ouvrières traitées avec la phéromone de couvain à 1%, (Anova, $n = 20$, moyenne \pm e.t.)

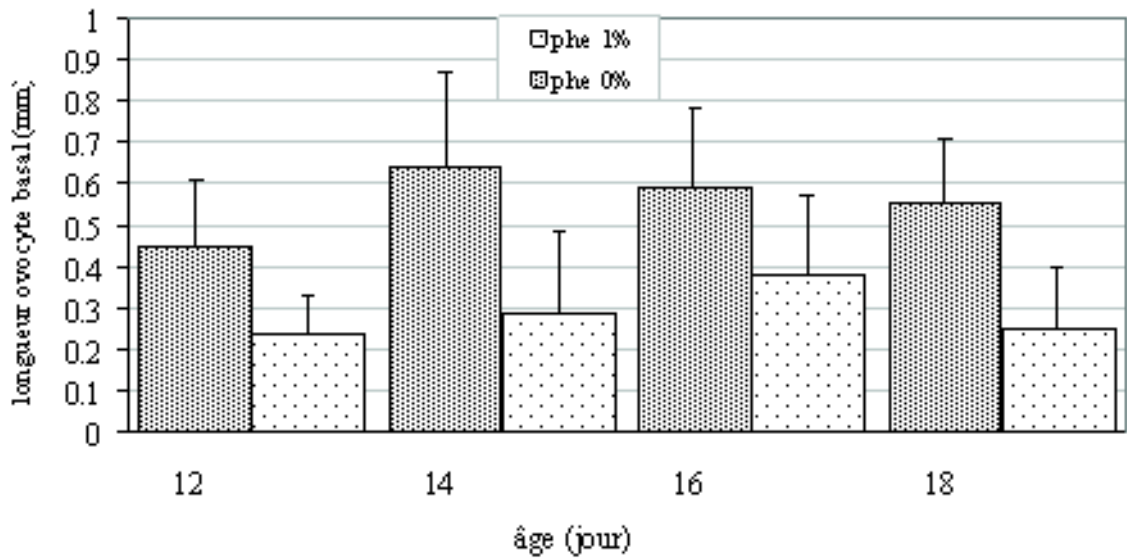


Fig.6: Longueur de l'ovocyte basal (mm) des abeilles ouvrières traitées avec la pheromone de couvain à 1%, (Anova, $n = 20$, moyenne \pm e.t.)

2. Action de l'hormone juvenile 3 sur le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal

L'application topique de l'HJ III à $1\mu\text{g}$, seule, diminue de manière hautement significative le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal en comparaison avec ceux des ouvrières de contrôle. Les ovaires ont un poids moyen de $0,2 \pm 0,1\text{mg}$ contre $2,54 \pm 0,6\text{mg}$, $P = 10^{-9}$; leurs ovocytes basaux se limitent à $0,1 \pm 0,1\text{mm}$ contre $0,62 \pm 0,2\text{mm}$, $P < 0,001$ (Tab.4, fig.7, 8).

Pour la même dose, 5% des ouvrières développent leurs ovaires jusqu'à 1mg sans toutefois aboutir au développement complet de l'ovocyte.

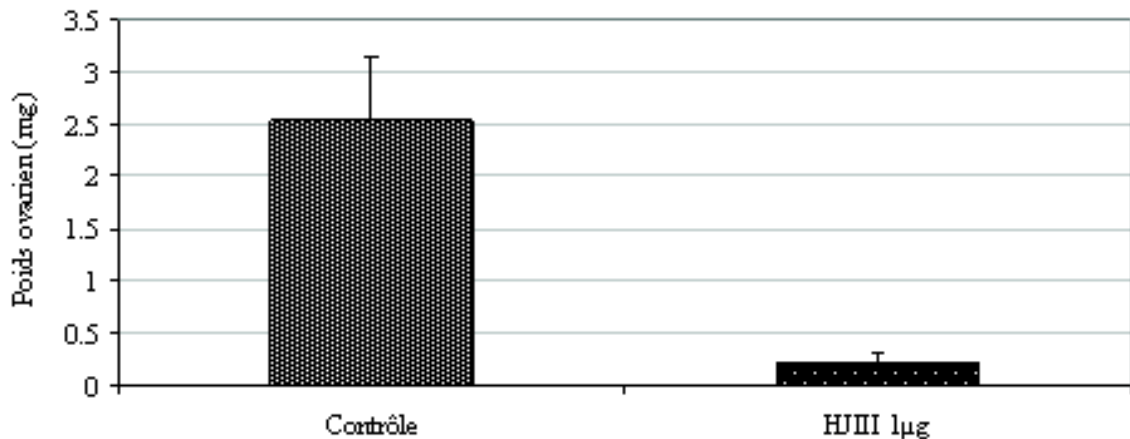


Fig.7 Poids ovarien (mg) des ouvrières traitées avec l'hormone juvénile 3 (HJIII, $1\mu\text{g}$), (Anova, $n = 20$, moyenne \pm e.t.)

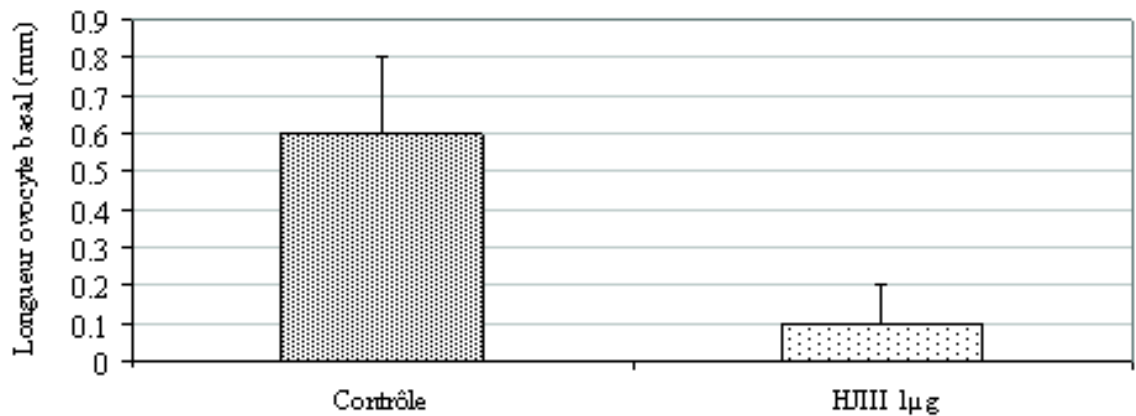


Fig.8 Longueur de l'ovocyte basal (mm) des ouvrières traitées avec l'hormone juvénile 3 (HJIII, 1µg), (Anova, n = 20, moyenne ± e.t.)

3. Action combinée de la phéromone de couvain (Phe) et de l'hormone juvénile 3 (HJIII) sur le poids ovarien et la longueur de l'ovocyte basal

L'application topique de l'HJ III à 0,5µg ou 1µg par ouvrière en présence de la phéromone de couvain à 1% réduit considérablement le poids ovarien et la longueur des ovocytes basaux, et ce, en comparaison avec les ouvrières de contrôle (Tab.4, fig.9, 10).

Le poids moyen des ovaires étant de $0,24 \pm 0,13$ mg contre $2,47 \pm 0,5$ mg, la différence est très hautement significative entre les ouvrières témoins et celles traitées avec les deux doses d'hormone, $P < 0,0001$.

La longueur moyenne respective de l'ovocyte basal est de $0,12 \pm 0,2$ mm et $0,05 \pm 0,07$ mm contre $0,58 \pm 0,2$ mm. La différence est très hautement significative entre les ouvrières traitées avec les deux doses respectives et leurs témoins, $P < 0,001$; $P < 0,0001$. La différence de la longueur ovocytaire pour les deux doses appliquées n'est pas significative $P > 0,05$ (Tab.4, fig.9, 10).

À 0,5µg d'HJ III en présence de la phéromone, 5% des ouvrières développent des ovaires de 1,5 mg et des ovocytes de 1,3 mm de long.

L'application topique de l'HJ III à 1µg en présence de la phéromone à 1% entraîne une inhibition quasi-totale du développement ovarien et une croissance ovocytaire nulle.

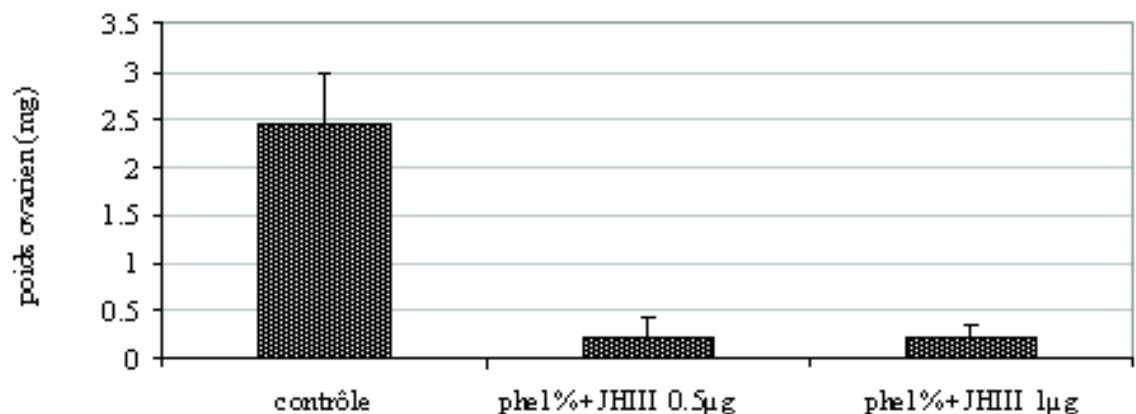


Fig.9 Poids (mg) des ovaires des ouvrières orphelines traitées avec la phéromone de couvain (1%) et l'hormone juvénile 3 (0.5µg et 1µg), (Anova, n = 20, moyenne ± e.t.)

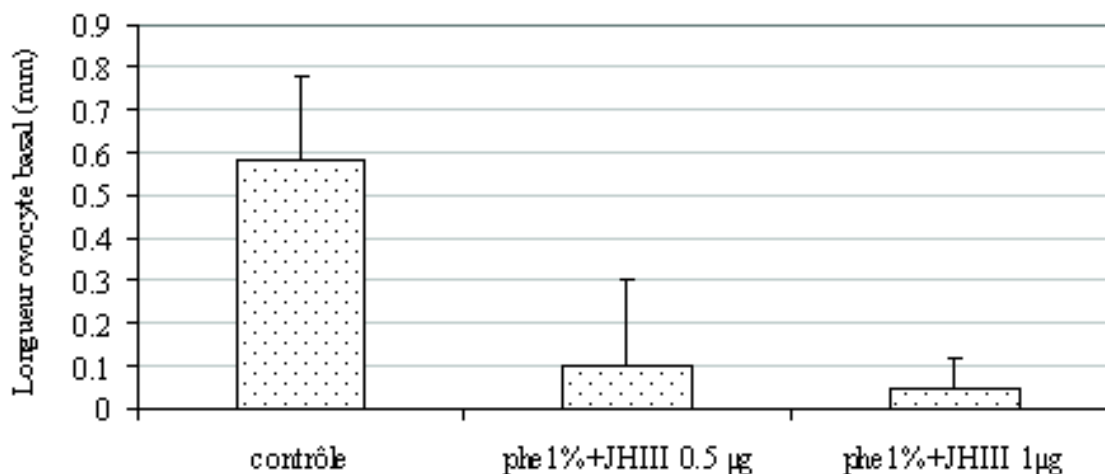


Fig.10 Longueur de l'ovocyte basal (mm) des ouvrières orphelines traitées avec la phéromone de couvain (1%) et l'hormone juvénile 3 (0.5µg et 1µg), (Anova, n = 20, moyenne ± e.t.)

II. DISCUSSIONS

La phéromone de couvain réduit 3 à 4 fois le poids de l'ovaire et 2 fois la longueur de l'ovocyte basal. Nous avons enregistré 5% contre 20% des ouvrières qui ont développé leurs ovaires à l'âge de 14 jours. Selon la classification de HESS (1942) modifiée, ARNOLD et al. (1994) ont signalé 10% contre 49%.

La régression du poids ovarien et de la longueur de l'ovocyte basal, après l'âge de 14 jours, est remarquable. Cette régression s'accroît à l'âge de 18 jours chez les ouvrières traitées. Elle serait provoquée par les futures ouvrières pondueuses sur les autres mais aussi selon MOHAMMEDI et al. (1998) par l'un des composés de la phéromone de couvain, le palmitate d'éthyle.

La quantité de l'hormone juvénile dans l'hémolymphe de l'ouvrière augmente de 0,05 Pmol /µl au 1^{er} jour de la vie adulte jusqu'à plus de 0,2 Pmol /µl au bout de trois semaines (FLURI et al., 1982; ROBINSON, 1987), voire même 25 jours (FLURI et al., 1981). Les nourrices en contiennent 5 à 20 ng/ml (ROBINSON et al., 1998). La quantité serait de 1190GU/ml à 12 jours et 2170 GU/ml à l'âge de 25 jours (FLURI et al., 1981).

L'application topique de l'hormone juvénile trois (HJIII) à 0,5µg par ouvrière en présence de la phéromone de couvain à 1% réduit beaucoup plus le poids ovarien que lorsque cette phéromone est utilisée seule. Les 5% des ouvrières ayant développé leurs ovaires sont celles qui possèdent le plus grand nombre d'ovarioles. Ces ouvrières ont échappé à l'effet d'inhibition ovarienne probablement par l'acquisition du pouvoir de production de la phéromone mandibulaire royale. Ainsi les ouvrières dominantes produisent un signal riche en substance royale (MORITZ et al., 2000). Cette substance domine pendant quelques jours chez l'abeille du Cape (SIMON et al., 2001). L'hormone juvénile, à faible dose, exerce donc un contrôle sur le développement ovarien.

L'hormone juvénile appliquée à forte dose inhibe la synthèse de la vitellogénine (FLURI et *al.*, 1977 ; ENGELS et *al.*, 1990) ; PINTO et *al.*, 2000).

Le pouvoir de l'HJIII, appliquée seule, sur la restriction pondérale de l'ovaire est encore plus grand que celui de la phéromone. De ce fait, tous les ovocytes sont bloqués dans leur début développement.

Après injection de petites quantités de HJIII chez les ouvrières de six jours en présence de la reine, la synthèse de la vitellogénine s'accroît jusqu'à l'âge adulte de 10 jours sans aboutissement à aucun développement ovocytaire (RUTZ et *al.*, 1976).

Ainsi, l'application topique de 1µg de HJIII à l'âge de 11 jours est une quantité suffisamment importante au moment où les abeilles ont déjà atteint leur synthèse maximale en hormone juvénile hémolymphatique pour subir l'inhibition ovarienne.

L'hormone juvénile 3 et la phéromone de couvain sont, dans ces conditions, deux facteurs concomitants d'inhibition ovarienne.

Conclusion sur l'effet de la phéromone de couvain et de l'hormone juvénile 3

Le traitement des abeilles ouvrières orphelines avec la phéromone de couvain à 1%, entraîne une grande diminution du poids ovarien mais sans différence significative de la longueur de l'ovocyte basal entre les ouvrières témoins et celles traitées. Ainsi, 5% des ouvrières traitées peuvent aboutir à la fin du développement ovarien.

Le traitement, à la fois, avec la phéromone de couvain à 1% et l'application topique de l'hormone juvénile 3 (HJIII), révèle une différence de poids ovarien et de longueur ovocytaire très hautement significative entre les ouvrières de contrôle et celles traitées.

Chez les ouvrières traitées avec l'HJIII à 1µg, 5% seulement démarrent le développement de leurs ovaires mais sans toutefois achever la croissance des ovocytes basaux

En plus de la phéromone à 1%, la dose d'HJIII de 0,5µg empêche la maturité ovocytaire et 1µg bloque quasiment sa croissance.

Chapitre IV. STRUCTURE DE L'OVAIRE

La biométrie ovarienne, ayant ses limites, n'a pu déceler avec précision certains stades ovariens. La maturation de l'ovocyte est un processus plutôt physiologique que morphologique. C'est la raison pour laquelle nous avons abordé les chapitres histologie et ultrastructure de l'ovaire. Pour l'étude de la structure de l'ovaire, nous avons pris des échantillons d'abeilles ouvrières âgées de 6 à 20 jours.

Prévitellogenèse : 6 à 8 jours ; Vitellogenèse : 12 à 14 jours ; Maturation : 18 à 20 jours.

I. RESULTATS

1. Evolution des ovogonies et des cellules préfolliculaires dans le germarium

Dans l'extrémité apicale du germarium, les ovogonies arrondies de 16 µm de diamètre ont un aspect clair. Leur noyau arrondi de 7 à 8 µm semble être beaucoup plus clair et possède 1 à 2 nucléoles. A ce niveau, les cellules préfolliculaires d'environ 4 µm de diamètre ont un aspect dense. Elles sont peu nombreuses et dispersées surtout à la périphérie du germarium. De la division d'une ovogonie primaire résulte un cystoblaste qui donne par division mitotique des cystocytes de 6 µm de diamètre. Ces cystocytes présentent un noyau occupant presque tout le cytoplasme. Ils apparaissent moins dense et de plus grande taille que les cellules préfolliculaires. Les cystocytes se différencient en trophocytes et en ovocytes. A la base des cystocytes différenciés apparaît le premier ovocyte de taille plus grande que celle des trophocytes. Cet ovocyte possède une vésicule germinative blanchâtre de 6 à 7 µm et un cytoplasme homogène d'aspect plus clair que celui des trophocytes. Au voisinage du premier ovocyte, les cellules préfolliculaires d'aspect dense deviennent plus nombreuses et plus grandes (PLI-1, annexe).

2. Evolution de l'ovocyte et formation du follicule à la base du germarium

Dans la zone postérieure du germarium s'alignent successivement 8 à 9 ovocytes. En évoluant dans l'ovariole, l'ovocyte devient de plus en plus grand. Les cellules folliculaires s'enchaînent en forme de croissant autour du 9^{ème} ovocyte. Elles enveloppent entièrement le 10^{ème} ovocyte et sa grappe de trophocytes accompagnatrices.

La taille du 1^{er} au 10^{ème} ovocyte double. Leur noyau s'accroît de manière constante et passe de 6 à 12 µm de diamètre (PLI-2, annexe).

Les trophocytes sont en amont, petits et épars. Ils deviennent, en aval, gros et entassés les uns contre les autres au dessus de l'ovocyte. Leur diamètre passe de 6 à 12 µm. Le

noyau des trophocytes du premier follicule atteint 8 µm de diamètre et occupe les 2/3 du cytoplasme (PLI-3 et 4, annexe).

Le premier follicule apparaît à la base du germarium au niveau du 10^{ème} ovocyte.

3. Evolution du follicule dans le vitellarium

Le vitellarium de l'ovariole prend sa limite à partir du 1^{er} follicule constitué. En observation *in vivo*, l'ovariole est rectiligne et les deux premiers follicules sont très petits ; l'ovocyte de forme circulaire mesure 33 µm de diamètre. Le premier follicule pourrait constituer, de ce fait, le stade 1 prévitellogénétique (Fig.11 ; PLI-4, annexe).

A partir du 3^{ème} follicule, apparaissent des constrictions de plus en plus profondes entre l'ovocyte et la grappe de trophocytes (Fig.11 ; PLI-5, annexe). Ce 3^{ème} follicule définit le stade 2. Ainsi, l'ovocyte d'aspect clair de 0,1 mm de long se sépare de la grappe de trophocytes de 0,21 mm de long tout en restant lié par une large constriction. Le cytoplasme de l'ovocyte contient beaucoup de granules denses et une structure d'apparence filamenteuse et peu diffuse.

Les cellules folliculaires sont profondes de 22 µm de long et très serrées entre elles avec des digitations membranaires apicales très peu développées.

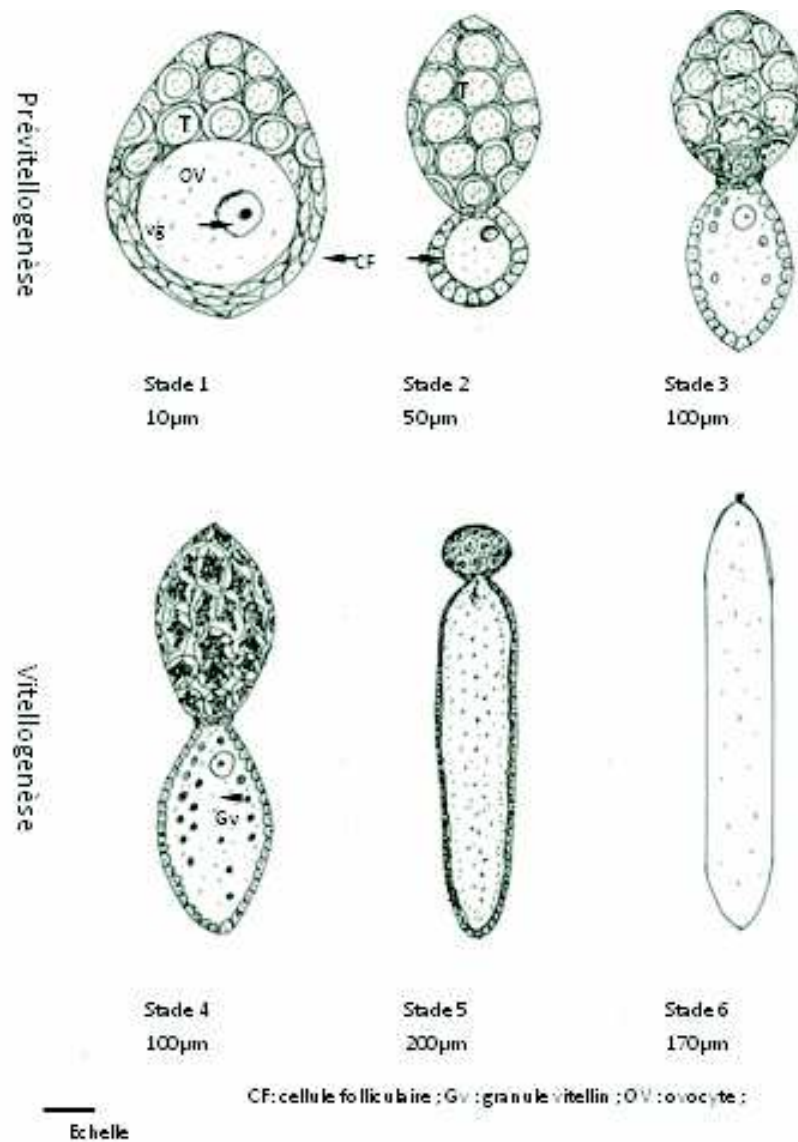


Fig.11: Evolution du follicule basal chez l'abeille ouvrière

(original)

Le diamètre des trophocytes est d'environ 40µm, celui de leur noyau est d'environ 20µm (Fig.11 ; PLI-6, annexe). En prévitellogenèse, le cortex ovocytaire contient de nombreux noyaux accessoires de 4 à 5 µm de diamètre. Les cellules folliculaires demeurent avec une profondeur de 15µm (PLI-7, annexe).

La fin prévitellogenèse a lieu vers le 7^{ème} follicule basal qui définit le stade 3 ; la longueur de la grappe de trophocyte est supérieure ou égale à celle de l'ovocyte (Fig.11).

En coupe semi-fine, apparaissent dans le cytoplasme de l'ovocyte quelques vacuoles d'aspect clair de 7 à 9 µm et une importante quantité de granules denses (PLII-1 et 3, annexe).

Le volume des trophocytes ayant considérablement augmenté s'est multiplié par dix soit un diamètre de 64 µm. Les noyaux des trophocytes prennent une forme étoilée ou échancrée et présentent une structure granulaire dense et variée (PLII-2, annexe).

Les noyaux des cellules folliculaires comportent plusieurs nucléoles (PLII-4, annexe). Les structures cytoplasmiques de l'ovocyte apparaissent denses et vésiculaires. Les vacuoles semblent contenir un matériel hétérogène (PLII-5, annexe).

La vitellogenèse commence probablement vers le 8^{ème} follicule basal qui définit le stade 4. Elle se caractérise par une nette augmentation de la longueur de l'ovocyte par rapport à celle de la grappe de trophocytes laquelle atteint un maximum de 0,4 mm (Fig.11).

Dans le cytoplasme ovocytaire apparaissent des granules vitellins de 7,5 µm de diamètre alors que les granules denses deviennent invisibles au microscope photonique (PLIII-1, annexe). Les granules vitellins sont élaborés au sein des structures vacuolaires.

Les cellules folliculaires de 15 µm de profondeur sont globuleuses bien serrées entre elles et collées contre l'ovocyte ; les digitations paraissent plus importantes dans l'espace intercellulaire entre l'ovocyte et les cellules folliculaires (PLIII-2, annexe).

Les noyaux accessoires nucléolés de 6 µm de diamètre persistent en nombre important dans l'ooplasm. A ce stade de développement, nous avons pu dénombrer 47 trophocytes par follicule.

Vers la fin de la vitellogenèse apparaissent des granules denses dans l'espace intercellulaire entre l'ovocyte et les cellules folliculaires. Ces dernières deviennent aplaties et leur profondeur n'est que de 12µm. Les digitations de la zone périphérique ovocytaire sont très développées.

La fin de la vitellogenèse ou stade 5 a lieu vraisemblablement au 10^{ème} follicule ou 19^{ème} ovocyte basal de l'ovariole. Elle se caractérise par la présence de la membrane vitelline et la saturation de l'ooplasm par les granules vitellins. Ces granules sont au centre de l'ovocyte plus denses et plus gros (7 à 9 µm) que ceux de la périphérie (5 à 7 µm). Certains granules vitellins, du pôle basal de l'ovocyte, ont une structure hétérogène de deux à trois portions adjacentes de couleurs différentes (PLIII-3, annexe).

Les noyaux accessoires de 5 µm de diamètre persistent encore dans l'ooplasm.

La fin de la vitellogenèse de l'ovocyte du 11^{ème} follicule se caractérise par la diminution de la taille des granules vitellins lesquels prennent un diamètre de 1 à 5 µm. L'espace intercellulaire entre l'ovocyte et les cellules folliculaires devient localement plus important. L'épaisseur de ces cellules n'est que de 5 à 8 µm (PLIII-4 et 5, annexe).

Chez l'ovocyte en phase de maturation, les granules vitellins deviennent très fins. Les trophocytes, la vésicule germinative de l'ovocyte, les noyaux accessoires et les cellules folliculaires disparaissent à la fin de ce dernier stade (PLIII-6, annexe).

II. DISCUSSIONS

1. Evolution des ovogonies et des cellules préfolliculaires dans le germarium

Dans l'extrémité antérieure du germarium, des cellules considérées être des ovogonies (VELTHUIS, 1970a ; ENGELS, 1973) sont alignées et gros (GUTZEIT et *al.*, 1993).

Dans la partie postérieure du germarium, la croissance est lente et similaire entre ovocyte et trophocytes. Leurs dimensions ont seulement doublé entre le 1^{er} et le 10^{ème} ovocyte. Durant cette phase de croissance, les trophocytes et le noyau de l'ovocyte, ayant le même diamètre, ont évolué au même rythme. Le même résultat est noté chez la reine d'abeille *Apis mellifica* car toutes les composantes s'accroissent en volume à une vitesse relativement constante jusqu'au 9^{ème} ou 10^{ème} ovocyte (JOSEPH-TORRES, 1980).

2. Evolution du follicule dans le vitellarium

2. 1. Follicule en prévitellogénèse

Dans la partie antérieure du vitellarium correspondant aux sept premiers follicules, la croissance folliculaire demeure constante.

Pendant la croissance de l'ovocyte est plus rapide que celle des trophocytes. La longueur de l'ovocyte s'est multipliée par dix et son noyau a seulement doublé.

Le diamètre des trophocytes et celui de leur noyau ont quintuplé. GUTZEIT et *al.* (1993) ont remarqué cette grande taille du noyau trophocytaire par rapport au volume cytoplasmique.

Chez les deux premiers follicules, les trophocytes sont arrondis. Le pont entre deux cellules folliculaires sœurs est largement ouvert (RAMAMURTY et ENGELS, 1977).

Au niveau du 3^{ème} follicule caractéristique du stade II, la grappe de trophocyte et l'ovocyte restent seulement connecter l'un à l'autre par un large canal cytoplasmique formé d'après ENGELS (1968) par 5 ponts intercellulaires. La grappe de trophocytes est deux fois plus longue que l'ovocyte. La profondeur des cellules folliculaires a diminué de 4µm entre les stades II et III. Ces cellules folliculaires entourant l'ovocyte ne sont pas séparées par des espaces intercellulaires chez la reine d'abeille, *Apis mellifica* (FLEIG et *al.*, 1991).

Les trophocytes augmentent rapidement de volume par la croissance d'endopolyploïde de leurs noyaux (ENGELS, 1968) et deviennent étroitement entassés en prenant des formes polygonales de la même façon que chez la reine d'abeille (RAMAMURTY, 1977) et chez les ouvrières de fourmi *formica ants* (JOHAN BILLEN, 1985).

2. 2. Follicule en vitellogénèse

Dans la partie postérieure du vitellarium, vers le 8^{ème} follicule basal, la vitellogénèse commence. La longueur de l'ovocyte devient nettement supérieure à celle de la grappe de trophocytes correspondante. Cette vitellogénèse est initiée chez la reine d'abeille, *Apis mellifica* quand l'ovocyte atteint 30% de sa longueur finale (FLEIG et *al.*, 1991). Le dénombrement de 47 trophocytes par follicule que nous avons effectué était déjà signalé par PAULCKE (1901) et ENGELS (1968).

Le début vitellogénèse est caractérisé par l'apparition des granules vitellins dans l'ooplasm. Les noyaux accessoires de l'abeille ouvrière sont moins volumineux car ceux des jeunes ouvrières de *Formica* mesurent 10 µm (JOHAN BILLEN, 1985). Leur rôle est inconnu. Néanmoins, la coïncidence de leur volume maximal, en début de ce stade, pourrait avoir un rôle dans le processus de synthèse des granules vitellins.

Les granules denses de l'ooplasme ne sont pas visibles au microscope photonique. Ils pourraient être transformés en réserves vitellines. JOHAN BILLEN (1985) montre que chez *Formica* le nombre de particules vitellines de l'ooplasme s'accroît avec les granules protéiques et les gouttelettes lipidiques en provenance des trophocytes.

La profondeur des cellules folliculaire est réduite d'un tiers. Il s'est produit alors, au moment où commence le dépôt de vitellus, une rétraction et un décollement de l'épithélium folliculaire vis à vis de l'ovocyte créant ainsi selon RACCAUD-SCHOELLER (1980) un espace qui augmente le contact entre l'hémolymphe et l'ovocyte.

La surface de contact entre l'ovocyte et les cellules folliculaires s'accroît graduellement avec la croissance de l'ovocyte comme chez la fourmi ouvrière *Formica ants* (JOHAN BILLEN, 1985). Les cellules folliculaires s'aplatissent dans les régions polaires du follicule (FLEIG *et al.*, 1991).

Jusqu'à la fin vitellogenèse la croissance des trophocytes continue de s'accroître chez la reine *Apis* (JOSEPH-TORRES, 1980) alors que chez l'ouvrière, la grappe est en régression de taille.

La fin vitellogenèse est marquée par la saturation de l'ooplasme en granules vitellins. Ceux du cortex ovocyaire sont de plus petite taille et présentent une structure fractionnée en proportions différentes de densité voire même de couleurs. Ce phénomène caractérise peut être le processus de croissance et de condensation successive du matériel de synthèse du granule vitellin.

La taille des noyaux accessoires commence à diminuer pendant que les digitations se développent de façon notable chez l'ovocyte.

Les trophocytes, pendant la fin vitellogenèse, sont autolysés par leurs propres lysosomes et probablement par ceux des cellules folliculaires entremises. Ce qui expliquerait peut être l'effondrement des trophocytes. Le reste du contenu des trophocytes en dégénérescence est évacué dans l'ovocyte (ENGELS, 1968). Ce processus très rapide est appelé par TELFER (1975) injection terminale.

Le dépôt de granules denses dans l'espace intercellulaire entre l'ovocyte et les cellules folliculaires entraîne la formation de la membrane vitelline (ENGELS, 1973; RAMAMURTY, 1977).

Les cellules folliculaires produisent la membrane vitelline (RACCAUD-SCHOELLER, 1980), le chorion (MARGARITIS, 1985) et les ecdystéroïdes chez *Locusta migratoria* (GOLTZENE *et al.*, 1978), *Nauphaeta cinerea* (ZHU *et al.*, 1983) et *Labidura riparia* (SAYAH *et al.*, 1991).

Au stade VI, l'ovocyte achève sa maturation. Le chorion atteint sa plus grande épaisseur. Les granules vitellins se réduisent en petite taille puis finissent par une dissolution totale au moment de la ponte. La vésicule germinative de l'ovocyte, les noyaux accessoires et les cellules folliculaires disparaissent.

Conclusion sur la structure des stades ovariens

Le 10^{ème} ovocyte et sa grappe de trophocytes entièrement enveloppés par les cellules folliculaires constituent à la base du germarium le premier follicule ou 1^{er} stade

prévitellogénétique. Le 3^{ème} follicule définit le stade 2. Il apparaît, à ce niveau, la première constriction entre la grappe de trophocytes et l'ovocyte lequel contient de nombreux granules denses et noyaux accessoires. Le stade 3 définit la fin prévitellogenèse durant laquelle la longueur de la grappe de trophocyte est approximativement égale à celle de l'ovocyte. Le cytoplasme de l'ovocyte contient quelques vacuoles d'aspect clair et une importante quantité de granules denses. Les noyaux des trophocytes prennent une forme étoilée ou échancrée.

Le début de la vitellogenèse ou stade 4 commence probablement vers le 8^{ème} follicule basal laquelle se caractérise par une nette augmentation de la longueur de l'ovocyte par rapport à celle de la grappe de trophocytes. Dans le cytoplasme ovocytaire apparaissent des granules vitellins au sein des structures vacuolaires alors que les granules denses deviennent invisibles. Les cellules folliculaires sont globuleuses et collées contre l'ovocyte.

La fin vitellogenèse ou stade 5 se caractérise par la présence de la membrane vitelline et la saturation de l'ovocyte par les granules vitellins ; les cellules folliculaires sont aplaties.

La maturation de l'ovocyte ou stade 6, au niveau du 11^{ème} follicule, se caractérise par la présence du chorion et la diminution de la taille des granules vitellins ; l'épaisseur des cellules folliculaires est très fine. Les trophocytes, la vésicule germinative, les noyaux accessoires et les cellules folliculaires disparaissent pendant ce dernier stade.

Chapitre V. CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS

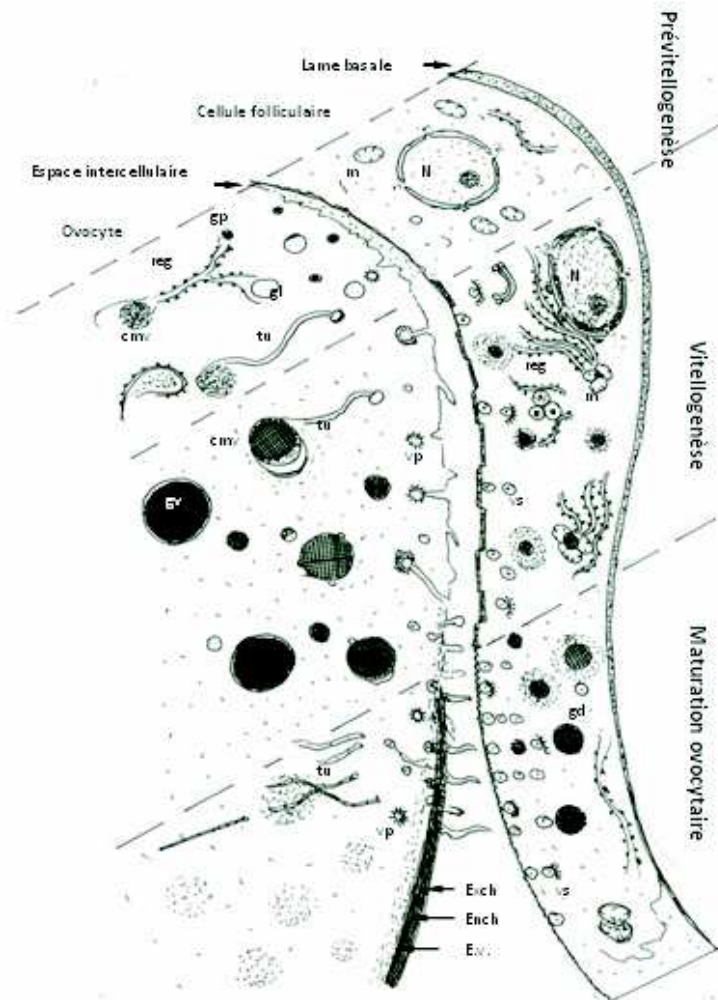
I. RESULTATS

1. Ovaire en début de la prévitellogenèse ou stades 1 et 2

Le 1^{er} follicule constitue le stade 1 dans la partie antérieure du vitellarium dénommée zone de prévitellogenèse. Ce follicule est entouré d'une lame basale de 1µm d'épaisseur.

Les cellules folliculaires périovocytaires, bien pourvues en mitochondries, sont entassées au pôle apical de l'ovocyte lequel est très riche en granules protéiques et en globules lipidiques osmiophiles (PLIV-1, annexe).

Dans l'ooplasme, les cylindres dilatés du réticulum endoplasmique granulaire cernent entièrement des plages de granules denses (PLIV-2, annexe) et décondensent des granules protéiques et des globules lipidiques formant ainsi des corps multivésiculaires (Fig.12 ; PLIV-3, annexe). Les granules protéiques décondensés et limités par une membrane présentent parfois un corps dense résiduel d'aspect annulaire (PLIV-3, annexe).



cmv : corps multivesiculaire ; Ench : Endochorion ; Ench : Exochorion ; EV : Enveloppe vitelline ;
 gd : granule dense ; gl : globule lipidique ; gp : granule protéique ; gv : granule vitellin ; m :
 mitochondrie ; N : noyau ; reg : réticulum endoplasmique granulaire ; tu : tubule ; p : p :

Fig.12: Structure des trois phases de développement du follicule basal (original)

2. Ovaire en fin de la prévitellogénèse ou stade 3

Au niveau du 7^{ème} follicule basal, la longueur de la grappe de trophocytes est supérieure ou approximativement égale avec celle de l'ovocyte. La lame basale demeure un peu moins épaisse et les cellules folliculaires sont assez profondes.

Dans le cortex de l'ovocyte, les noyaux accessoires sont relativement nombreux (PLV-1, annexe). Les tubules engendrent à l'une de leur extrémité un corps multivesiculaire qui correspondrait à un lysosome (Fig.12 ; PLV-2, annexe). Dans une zone de l'ooplasm, les tubules de 0,1 à 0,13 μ m de large et de 1,3 μ m de long sont nombreux.

Les lysosomes pourraient signifier l'ébauche du futur granule vitellin (PLV-3, annexe).

3. Ovaire en début de la vitellogenèse ou stade 4

La longueur de l'ovocyte devient supérieure à celle de la grappe de trophocytes. L'apparition, dans l'ooplasme, de granules vitellins de 1 à 2 μ m de diamètre caractérise le début de la vitellogenèse. De nombreux tubules de forme annulaire sont contigus aux granules vitellins (Fig.12).

L'espace intercellulaire entre l'ovocyte et les cellules folliculaires périovocytaires devient important.

Un matériel dense hémolympatique se dépose sur la face externe de la membrane plasmique de l'ovocyte (1) puis se forme un puits recouvert (2) qui engendre une vésicule de pinocytose liée à la face interne de la membrane plasmique (3) ; cette vésicule se détache (4) et s'intègre dans le jeune granule vitellin (5) (PLVI-1, annexe).

Le pôle apical des cellules folliculaires est riche en mitochondries et possède quelques dictyosomes de l'appareil de Golgi et des fragments de cylindres de REG. Le diamètre des ponts intercellulaires est de 0,3 μ m en moyenne. Le noyau, pourvu de nucléoles, est volumineux. Le glycogène est important (PLVI-2, annexe).

4. Ovaire en fin de la vitellogenèse ou stade 5

La saturation de l'ooplasme par les granules vitellins de 1 à 8 μ m de diamètre et l'apparition de la membrane vitelline caractérisent essentiellement la fin vitellogenèse ; les globules lipidiques sont semi-osmiophiles (PLVII-1, annexe).

Dans certaines zones de l'ooplasme, les granules vitellins et les noyaux accessoires, en régression de volume, sont contigus aux vésicules de sécrétion de 0,03 à 0,08 μ m de diamètre. Ces vésicules synonymes de lysosomes semblent attaquer ce matériel ooplasmique; les globules lipidiques sont totalement non osmiophiles donc pourvus uniquement de lipides saturés (PLVII-2, annexe).

La lame basale est réduite au dixième de son épaisseur initiale.

Les cellules folliculaires sont en pleine activité. Leur nucléoplasme est riche en matériel d'aspect ribosomique. De nombreuses vésicules lysosomiques sont contigues à la membrane nucléaire externe et aux cylindres du réticulum endoplasmique granulaire. Les vésicules de sécrétion sont accompagnées par des fragments de REG jusqu'à la membrane plasmique. Les extrémités des travées parallèles du REG et les mitochondries sont transformées en lysosomes (Fig.12 ; PLVII-3, annexe).

Deux types de lysosomes peuvent être générés: les corps myéliniques et les grosses vésicules lysosomiques d'aspect clair contenant des microfilaments (PLVIII-1, annexe).

Dans le pôle apical des cellules folliculaires, les granules denses sont de plus petite taille. Attaqués par des vésicules lysosomiques, ces granules engendrent des microvésicules de sécrétion de 160 à 330Å de diamètre lesquelles sont contigues à la membrane plasmique du côté de l'ovocyte.

L'espace intercellulaire entre les cellules folliculaire et l'ovocyte est très important.

Dans le cortex de l'ovocyte, les vésicules de pinocytoses sont nombreuses et le glycogène est présent. Ceci peut constituer la réserve glycoprotéique de l'ovocyte et le matériel de synthèse des enveloppes vitellines (PLVIII-2, annexe). Les labyrinthes microvillositaires de l'ovocyte sont occupés par des vésicules d'endocytose contenant des grains de glycogène. Dans le cortex de l'ovocyte, apparaissent des rosettes de glycogène et

des vésicules de pinocytose d'aspect clair ou dense de 0,07 à 0,13 μ m de diamètre (PLVIII-3, annexe).

5. Maturation de l'ovocyte ou stade 6

La fin de la maturation de l'ovocyte est marquée par l'apparition de tubules et la dissolution des granules vitellins (Fig.12 ; PLIX-1, annexe). Les granules qui persistent encore ont un diamètre de 0,1 à 0,4 μ m.

La réserve vitelline apparaît, enfin, sous la forme de fragments de microfilaments et de granules glycoprotéiques. La microvillosité réduite de l'ovocyte s'enfonce dans la membrane vitelline très fine. Le chorion de 0,76 μ m d'épaisseur est composé d'un endochorion et d'un exochorion (PLIX-2, annexe). Les cellules folliculaires en dégénérescence présentent des membranes plasmiques très circonvolutionnées, des cylindres de réticulum endoplasmique granulaire fortement dilatés et de nombreux lysosomes (PLIX-3, annexe).

II. DISCUSSIONS

Pendant la période de la prévitellogenèse, la croissance folliculaire demeure constante. Durant cette phase, les inclusions paraplasmiques figurées de l'ovocyte peuvent avoir une origine trophocytaire. En effet, chez *Apis*, les trophocytes produisent l'acide rubonucléique (ARN), les ribosomes, les mitochondries, les gouttelettes lipidiques et les vésicules qui migrent vers l'ovocyte à travers les canaux circulaires (RAMAMURTY, 1977).

Chez les insectes holométaboles (drosophile, hyménoptères), ce processus de migration se poursuit même pendant la vitellogenèse avec le maintien des noyaux au centre des cellules nourricières par les éléments cytosquelettiques (filaments d'actine ou microtubules) (ZELAZOWSKA et BILI SKI, 2001).

Dans l'ovaire télotrophique, la migration des organites semble se produire principalement pendant la phase prévitellogénétique chez *Sialis mitsuhashii* (MATSUZAKI et ANDO, 1977).

La précision du stade III est, si délicate, qu'une phase critique s'implique entre la maturation et le développement de l'abeille. Ainsi, l'apparition des tubules dans le cortex ovocytaire semble préciser la fin de la prévitellogenèse. Ces tubules interviennent probablement dans la formation des granules vitellins

Chez le Grillon, *Gryllus capitatus*, les polysaccharides hémolymphatiques, sans doute liés à des protéines, pénètrent dans le cytoplasme de l'ovocyte par le biais des vésicules de pinocytose qui déversent leur contenu dans des tubules. Ces tubules servent de voie de cheminement au matériel polysaccharidique qu'ils transfèrent aux granules vitellins en formation (FAVARD-SËNËRO, 1969).

Le processus vitellogénétique peut être initié selon FLEIG et *al.* (1991) quand la longueur de l'ovocyte atteint 30% de sa longueur finale. Les trophocytes très pauvres en réticulum endoplasmique et en appareil de Golgi ne peuvent s'impliquer activement dans la synthèse vitelline (ENGELS, 1973; JOHAN BILLEN, 1985).

Durant la vitellogenèse, la dissolution des réserves lipoprotéiques, au début de cette phase, peut servir à la synthèse vitelline propre de l'ovocyte. La présence d'un résidu de

matériel dense dans les granules protéiques révèle l'utilisation des réserves par le réticulum endoplasmique granulaire. La réduction de la taille des granules protéiques et l'apparition de nombreux lysosomes peuvent être les indicateurs d'un engagement dans la vitellogenèse.

Ainsi, chez la fourmi ouvrière *Formica ants*, l'accroissement des particules vitellines de l'ooplasme s'accomplit avec beaucoup de granules protéiques et de gouttelettes lipidiques (JOHAN BILLEN, 1985).

Le volume de l'ovocyte s'accroît rapidement par le transport de protéines vitellines hétérosynthétiques de l'hémolymphe par capture pinocytosique (ENGELS, 1968).

La présence de deux types de vésicules de pinocytose de différente taille semble conférer une spécialisation dans l'incorporation de matériaux hémolympatiques. Les digitations et les vésicules de pinocytose témoignent donc de l'activité extracellulaire de l'ovocyte. La fusion des vésicules de pinocytose produit des granules vitellins à aspect perforé. Leur tissage se réalise peut être sous l'action d'une enzyme spécifique. Les noyaux accessoires ayant atteint leur taille maximale semblent fournir eux aussi des petites quantités d'ARN. Ainsi, le matériel qui paraît franchir leurs pores nucléolaires serait produit par le nucléole.

A la fin de la vitellogenèse, les granules vitellins et les noyaux accessoires en régression de taille sont solubilisés par les vésicules lysosomiques qui seraient parvenues selon JOSEPH-TORRES (1980) de l'injection terminale des trophocytes lesquels évacuent leur contenu dans l'ovocyte. De plus, les vésicules de sécrétion dans le pôle apical des cellules folliculaires contiennent de la vitellogénine qui est incorporée par l'ovocyte (FLEIG, 1995). La migration de ces vésicules exige des interactions entre les microfilaments et les microtubules (**SUN et SCHATTEN, 2006**). Il résulte de la solubilisation des structures ooplasmiques, l'apparition du glycogène et un matériel granuleux ultrafin.

La couleur noire des granules denses, des granules vitellins, et du matériel hémolympatique est due au traitement des coupes histologiques par le nitrate de plomb. Ce matériel se fixe sur les structures de nature glycoprotéique. S'agissant de lipides saturés, les globules lipidiques non osmophiles ne sont pas denses aux électrons.

Le dépôt des granules denses en une fine ligne dans le cortex ovocytaire peut constituer d'abord la membrane vitelline et éventuellement le chorion. Au moment de la maturation de l'ovocyte, la vésicule germinative, les noyaux accessoires et les granules vitellins, envahis par les vésicules lysosomiques, disparaissent.

Conclusion sur l'ultrastructure des stades ovariens

L'ultrastructure du follicule basal a permis de compléter la détermination de tous les stades ovariens. Durant la fin de la première semaine de la vie adulte de l'abeille ouvrière, les ovocytes basaux des stades 1 et 2 se caractérisent par la présence de nombreuses plages d'inclusions cytoplasmiques cernées par les cylindres dilatés du réticulum endoplasmique granulaire. Ces cylindres décondensent les granules protéiques et les globules lipidiques générant ainsi des corps multivésiculaires.

L'ovocyte basal, au 3^{ème} stade de développement, correspondant à la fin prévitellogenèse se caractérise par l'apparition, dans l'ooplasme, de nombreux tubules dont l'extrémité dilatée constitue un lysosome évoluant en corps multivésiculaires.

Dès le début de la deuxième semaine, la vitellogenèse commence chez certaines ouvrières. Le stade 4 est défini par l'apparition, dans l'ooplasm, des granules vitellins en relation avec les formations tubulaires.

Dès l'âge de 10 jours de la vie adulte, l'ouvrière atteint la fin de la vitellogenèse ou stade V. Ce stade se distingue par la synthèse de la membrane vitelline, la régression de la taille des granules vitellins et des noyaux accessoires.

La maturité de l'ovocyte est atteinte chez les ouvrières vers l'âge adulte de 18 à 20 jours. Elle est définie par la présence du chorion, la dissolution des granules vitellins, la disparition des noyaux accessoires et la dégénérescence totale des cellules folliculaires

Chapitre VI. EVOLUTION DE LA STRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

I- STRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Nous avons analysé l'évolution des adipocytes des bandelettes du tissu adipeux périovarien de l'abeille ouvrière orpheline, *Apis mellifera* en relation avec l'évolution du développement ovarien. Nous avons pris comme référence le tissu adipeux des abeilles ouvrières âgées de 2, 8, 14 et 20 jours de la vie imaginale.

1. Répartition du tissu adipeux

Quatre régions principales de tissu adipeux sont définies dans le corps de l'abeille ouvrière :

- le tissu adipeux le plus antérieur est accumulé dans le thorax de part et d'autre du stomodeum.
- le tissu abdominal périphérique et dorsal est plaqué contre les muscles aliformes.
- le tissu interne ou périviscéral enveloppe le tube digestif et les ovaires. Les bandelettes présentent entre elles de nombreuses anastomoses.
- le tissu adipeux abdominal, périphérique et ventral, est associé au septum neural.

2. Structure histologique du tissu adipeux

L'étude histologique effectuée à partir des coupes semi-fines de bandelettes de tissu adipeux abdominal nous a permis de distinguer trois catégories cellulaires :

- En prévitellogenèse, les adipocytes sont souvent moins nombreux que les oenocytes sur les bandelettes de tissu adipeux observées;
- En vitellogenèse, le nombre d'adipocytes est parfois très élevé par rapport à celui des oenocytes. Les cellules à urate sont rares voire même inexistant sur la plupart des bandelettes observées.

2.1. Les adipocytes

Les adipocytes représentent l'essentiel des bandelettes adipeuses pendant la maturation de l'abeille ouvrière. A l'âge de 2 jours, ces bandelettes sont traversées par des trachéoles de 1µm de diamètre (PLX-1, annexe). Les adipocytes, contiguës à plusieurs Oenocytes, ont une forme très variable. Elles sont riches en globules lipidiques osmiophiles (GLO) de 1 à 5 µm de diamètre. Leur noyau très étoilé est pourvu de plusieurs nucléoles (PLX-2, annexe).

En phase de vitellogenèse, dès le début de la deuxième semaine, les adipocytes ont un diamètre de 45 à 65µm. Leurs globules lipidiques osmiophiles (GLO), concentrés dans la périphérie cellulaire, se maintiennent en nombre assez important (PLX-3, annexe).

Dans certaines cellules, les globules lipidiques de petite taille sont très nombreux (PLX-4, annexe). Le Noyau, avec une morphologie assez constante, reste toujours échanuré ou étoilé avec parfois une digitation assez longue. Son contenu clair est parsemé de matériel dense qui s'étale jusqu'à l'enveloppe nucléaire (PLX-2, 6 et 7, annexe).

Les globules lipidiques osmiophiles (GLO) de coloration verte et de grande taille, de 4 à 8µm de diamètre, sont concentrés autour du noyau. Ceux de petite taille, en mélange avec quelques GL hétérogènes, occupent le cortex cellulaire. Les GL non osmiophiles sont peu nombreux. Certaines cellules adipeuses présentent un aspect plus clair que d'autres et moins chargées en GL Osmiophiles. Ces cellules semblent être en contact avec l'hémolymph. (PLX-4 et 5, annexe). Les granules protéiques (GP) de petite taille, de moins d'un micromètre de diamètre, relativement peu nombreux, occupent également la périphérie du cytoplasme cellulaire (PLX-4, annexe).

Pendant le grand accroissement et vers la fin de la vitellogenèse, le rapport globules lipidiques osmiophiles (GLO) et globules lipidiques Non Osmiophiles (GLNO) est inversé. Ceux Non Osmiophiles sont nombreux par rapport aux globules lipidiques Osmiophiles (PLX-7, annexe) voire même seuls dans certains adipocytes (PLX-6, annexe). Le diamètre des GL Non Osmiophiles varie de 2 à 7 µm dans les adipocytes observés.

Pendant le stade ovocyte mûr, les bandelettes de tissu adipeux reprennent leur forme et leur aspect initial du début vitellogenèse. En effet, la taille des adipocytes et celle de leurs globules lipidiques totalement osmiophiles restent invariables. Cependant le nombre de ces globules apparaît moins important (PLXI-1 et 2, annexe). Le nombre d'Oenocytes par rapport aux adipocytes semble inchangé (PLXI-1, annexe).

2.2. Les Oenocytes

Sont des cellules arrondies ou ovales, de 25 à 30 µm de diamètre, toujours en contact avec les adipocytes (PLX-3 et 7; PLXI-, annexe3). Leur noyau central, circulaire et uniforme, de 11 à 13µm de diamètre, contient une structure dense de forme hétérogène (PLX-2 et 7; PLXI-3 et 5, annexe). L'hyaloplasme contient de nombreux granules denses (PLX-1 et 2, annexe) et, en plus, dans certaines cellules il y a des petits globules d'aspect blanchâtre de 3µm de diamètre (PLXI-3, annexe).

2.3. Les cellules à urate ou à concrétions

Leur cytoplasme est d'apparence plus claire que celui des adipocytes. Il contient des plages de matériel dense de différente taille d'aspect granuleux ; les sphérules denses ont un diamètre de 1 à 5µm et des amas d'aspect blanchâtre de 15 x 15 µm (PLXI-3, annexe).

Dans certaines cellules, les sphérules, plus petites, de 1 à 2µm de diamètre sont claires et verdâtres. Leur fusion semble former de volumineux amas de sphéro cristaux d'aspect blanchâtre (PLXI-4, annexe). Dans d'autres cellules, les sphérules de 2 à 4µm de diamètre présentent un aspect hétérogène (PLXI-5, annexe). Toutes ces structures sont, en fait, des urates accumulés sous forme de concrétions issues du métabolisme purique.

II- ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

A - SYNTHÈSE DES LIPIDES

1. Synthèse des lipides pendant la prévitellogenèse

- Synthèse de type lysosomique et vésiculaire : mode 1

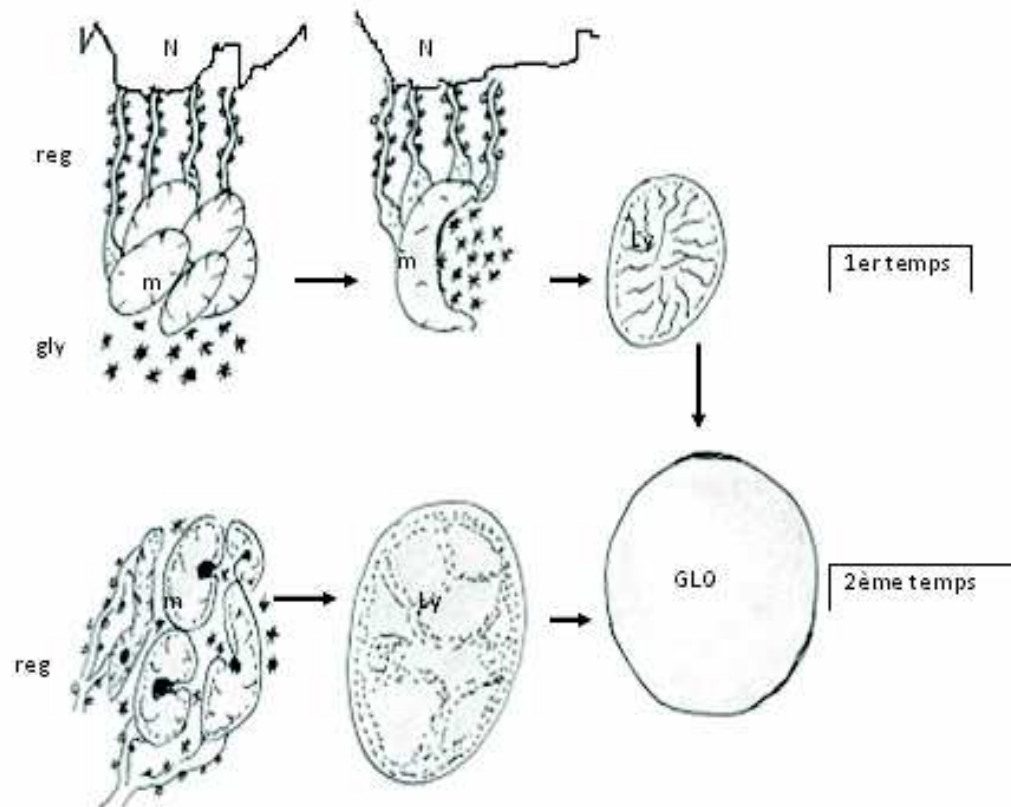
1^{er} temps :

A l'âge de 2 jours après l'émergence des abeilles ouvrières, les adipocytes du tissu adipeux sont très riches en glycogène (PLXII-1, annexe). Le lysosome mitochondrial contigu, d'un côté, à une plage de rosettes de glycogène et, de l'autre, aux strates parallèles de REG lequel est en relation avec le noyau. Dans l'hyaloplasme périnucléaire, les plus petites mitochondries de 0,3 à 0,4 μ m de long et 0,2 μ m de large ont une matrice dense. La fusion entre ces mitochondries constitue un lysosome en forme de cupule. Le lysosome mitochondrial cupuliforme incorpore le glycogène auquel s'ajouteraient les saccules du réticulum endoplasmique dépourvus de leurs ribosomes et les sécrétions probable du noyau ; Ce lysosome se transforme en vacuole puis en petit globule lipidique osmiophile (GLO), limité par l'enveloppe mitochondriale (Fig.13 ; PLXII-2, encart, annexe).

2^{ème} temps :

Le lysosome mitochondrial (Ly) de 1,6 μ m de diamètre et atteignant parfois 3,2 μ m de long subit un éclaircissement et devient un réseau complexe de tubules (PLXII-2, encart, annexe). Les mitochondries (1), par leur sécrétion lysosomale, se transforment en même temps que le glycogène (2) en enclave lipidique (3) qui évoluerait en globule lipidique osmiophile de 2,5 μ m de diamètre (4) (Fig.13 ; PLXII-3, annexe).

Dans l'hyaloplasme, des petites mitochondries constituent le lysosome mitochondrial lequel incorpore des rosettes de glycogène et des saccules de réticulum endoplasmique dépourvus de leurs ribosomes. Ce complexe lysosomique se vacuolise et se transforme en petit globule lipidique (PLXIII-1, annexe) ou en enclave de lipide non saturé (PLXIII-2, annexe).



GLO: globule lipidique osmiophile ; Gly: glycogène; Ly : Lysosome ; m: mitochondrie ;

N : noyau; reg: réticulum endoplasmique granulaire.

Fig.13: Synthèse de lipide pendant la prévitellogenèse

(original)

2. Synthèse des lipides pendant la vitellogenèse

Dès le début de la vitellogenèse, les plages des rosettes de glycogène disparaissent du cytoplasme des adipocytes.

- Synthèse de type lysosomique : mode 2

1^{er} temps :

De larges strates parallèles de REG engendrent des saccules dépourvus de leurs ribosomes lesquels sont contigus au lysosome mitochondrial. Lysosome et saccules en fusion, évoluent en un petit globule lipidique osmiophile de 1µm de diamètre.

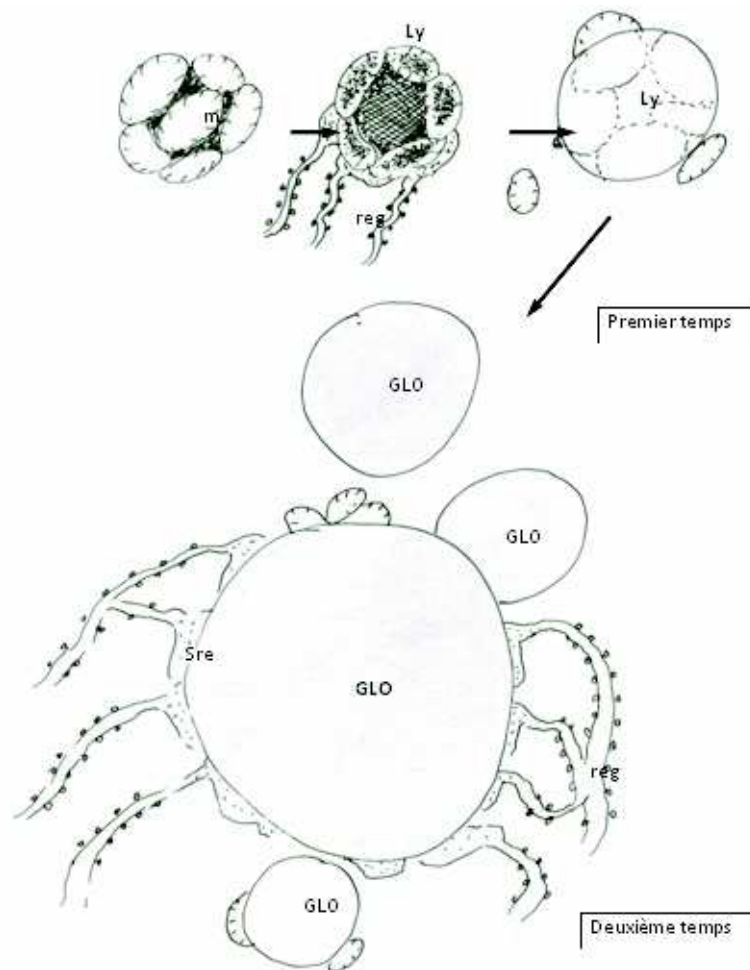
La formation du globule lipidique commence par le groupement et l'agglutination des mitochondries ponctuées de grains denses:

- Au niveau du premier lysosome (Ly1), les mitochondries, à peine reconnaissables, comportent des vésicules plus denses et plus étendues;
- Le deuxième lysosome (Ly2), de forme globuleuse, de 1µm de diamètre, a une apparence claire et filamenteuse. Il se transforme, en conservant sa taille, en globule

lipidique osmiophile entouré de quelques mitochondries peu reconnaissables (Fig.14 ; PLXIV-1, annexe);

2^{ème} temps :

Des states parallèles de cylindres très dilatés de REG achèvent par leurs saccules dépourvus de leurs ribosomes la formation du globule lipidique osmiophile. De plus, les globules, de 0,6 à 4 µm de diamètre, sont enrichis par la fusion des petits globules lipidiques (Fig.14 ; PLXIV-2, annexe).



GLO : globule lipidique osmiophile ; Ly : Lysosome ; m : mitochondrie ; reg : réticulum endoplasmique granulaire. Sre : saccule de réticulum endoplasmique dépourvus de ribosomes.

Fig.14 : Synthèse de lipide non saturé par le complexe mitochondries- réticulum endoplasmique granulaire

(original)

· Synthèse de type lysosomique et vésiculaire : mode 3

1^{er} temps :

Un important réseau de cylindres parallèles de réticulum endoplasmique granulaire (REG), probablement activé par des macromitochondries, engendre des saccules dépourvus de leurs ribosomes qui évoluent en petits globules lipidiques osmiophiles (Fig.15 ; PLXV-1, annexe).

2^{ème} temps :

Parallèlement, de larges saccules de dictyosomes de l'appareil de Golgi, en contiguité avec des fragments de REG dilaté, génèrent des vésicules golgiennes qui enrichissent les mêmes globules lipidiques osmiophiles de 0,3 à 0,5µm de diamètre (Fig.15 ; PLXV-1, annexe).

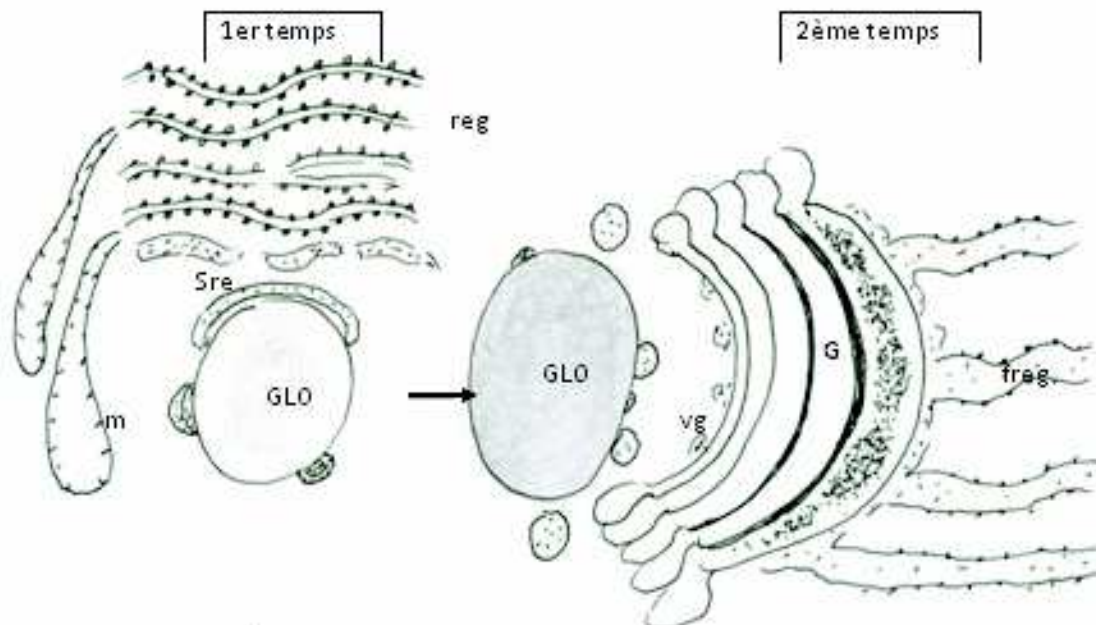
Synthèse de type vésiculaire : mode 4

1^{er} temps :

Les macromitochondries de 0,5µm de diamètre, probablement activées par quelques fragments de réticulum endoplasmique granulaire, sécrètent des séries de vésicules lesquelles se transforment en un corps multivésiculaire. Celui-ci évoluerait en un minuscule globule lipidique osmiophile de 0,37µm de diamètre (GLO1) qui entre en fusion avec un globule de plus grande taille (GLO2). Les sécrétions mitochondriales apparaissent sous forme de vésicules denses (Fig.16 ; PLXV-2 et encart, annexe).

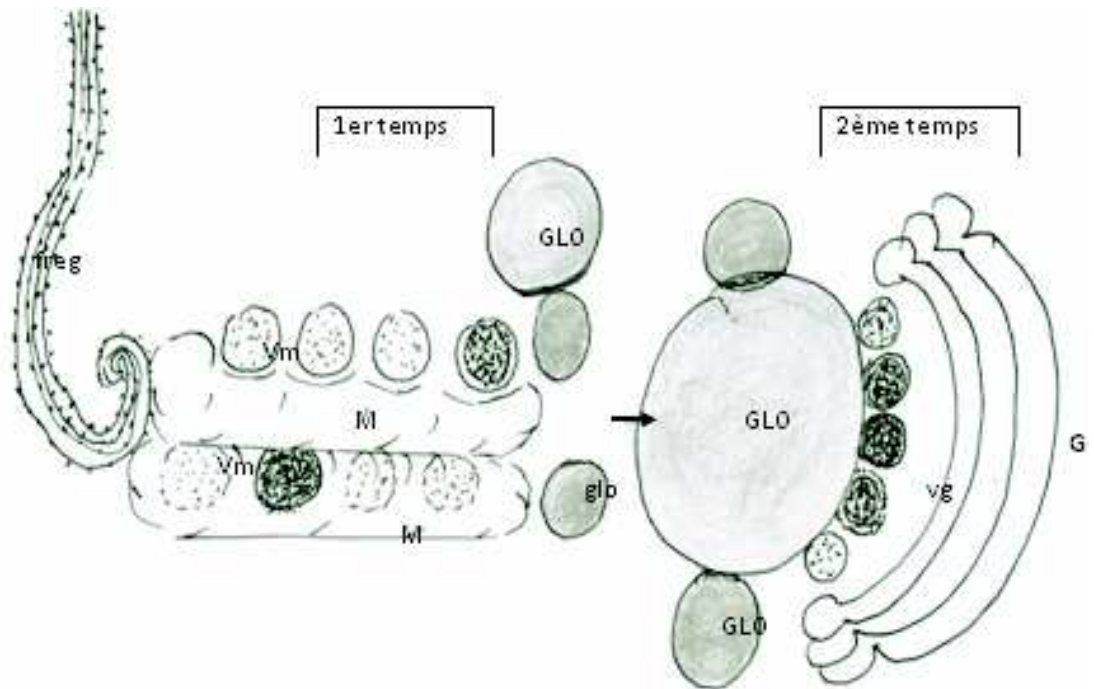
2^{ème} temps :

A proximité des macromitochondries, des dictyosomes de l'appareil de Golgi sécrètent des séries de vésicules golgiennes d'aspect dense qui augmentent le volume du globule lipidique (GLO3) (Fig.16 ; PLXV-2, annexe).



frag : fragment de réticulum endoplasmique granulaire ; G : appareil de Golgi ; GLO : globule lipidique osmiophile ; m : mitochondrie ; reg : réticulum endoplasmique granulaire ; Sre : Saccules de réticulum endoplasmique ; vg : vésicule golgienne.

Fig.15 : Synthèse de lipide non saturé par le complexe mitochondrie, réticulum endoplasmique granulaire et appareil de Golgi
(original)



freg : fragment de réticulum endoplasmique granulaire ; G : appareil de Golgi ; GLO : globule lipidique osmiophile ; M : mitochondrie ; vg : vésicule golgienne ; Vm : vésicule mitochondriale.

Fig.16 : Synthèse de lipide non saturé par le complexe réticulum endoplasmique granulaire, mitochondrie et appareil de Golgi

(original)

· Synthèse de type lysosomique et vésiculaire (endogène et exogène) : mode 5

Les vésicules de pinocytose confluant dans le cortex de l'adipocyte rejoignent le lysosome mitochondrial lequel se transformerait en inclusion paraplasmiqne pouvant être un globule lipidique osmiophile (Fig.17 ; PLXIII-3, annexe).

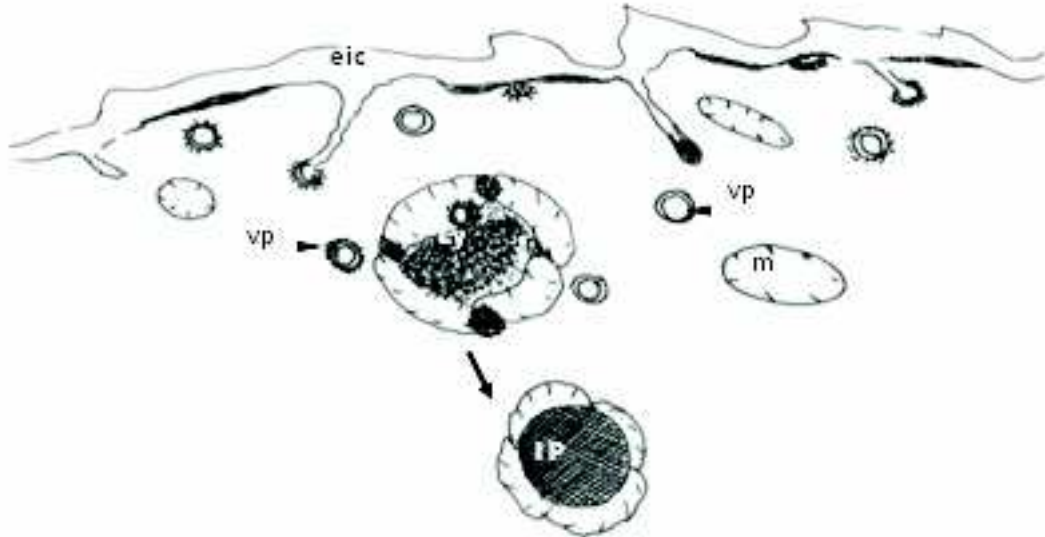
3. Aspect des adipocytes périovariens à la fin de la vitellogenèse

Le noyau de forme très irrégulière possède plusieurs nucléoles et renferme contre sa membrane interne des mottes de chromatine très dense. L'hyaloplasme est riche en mitochondries. Les globules lipidiques non osmiophiles atteignent une taille de 7µm de diamètre. Dans le cortex de l'adipocyte, les granules protéiques sont assez nombreux (PLXVI-1, annexe).

Les travées parallèles des cylindres de réticulum endoplasmique granulaire sont abondantes. Au niveau de leur extrémité, les mitochondries, aussi nombreuses, sont voisines d'un grand nombre de petits granules denses ; les granules protéiques, peu

nombreux, persistent avec un diamètre de 0,2 à 1µm. Il est à noter que les globules lipidiques osmiophiles sont rares (PLXVI-2, annexe).

Les adipocytes sont séparés par une lame basale. Les invaginations de la membrane plasmique sont très développées. La présence des vésicules de pinocytose et de nombreux granules protéiques dans le cortex des adipocytes témoignent encore de l'activité des cellules adipeuses en fin de la vitellogenèse (PLXVI-3, annexe).



Eic : espace intercellulaire ; IP : Inclusion paraplasmiq... ; Ly : Lysosome ; m : mitochondrie ;
vp : vésicule de pinocytose

Fig.17: Synthèse des inclusions paraplasmiques par les mitochondries et les précurseurs hémolymphatiques

(original)

4. Schéma récapitulatif de synthèse des lipides par les adipocytes périovariens

Chez l'abeille ouvrière *Apis*, la synthèse des lipides endogènes s'effectue en 4 modes et en 2 temps :

1^{er} mode : synthèse de type lysosomique et vésiculaire (Glycogène+M+REG+N)

1^{er} temps : Le lysosome mitochondrial cupiliforme incorpore le glycogène auquel s'ajouteraient les saccules du réticulum endoplasmique dépourvus de leurs ribosomes et les sécrétions probables du noyau ; l'ensemble se transforme en globule lipidique osmiophile.

2^{ème} temps : Les mitochondries en fusion incorporent des rosettes de glycogène et des saccules de réticulum endoplasmique. Le lysosome se transforme en vacuole évoluant en globule lipidique osmiophile.

2^{ème} mode : synthèse de type lysosomique (M+REG)

1^{er} temps : Le REG en strates parallèles engendre des saccules, dépourvus de leurs ribosomes, lesquels sont contigus au lysosome mitochondrial. Lysosome et saccules en fusion, évoluent en un petit globule lipidique osmiophile.

2^{ème} temps : Le REG très dilaté, en strates parallèles, achève par ses saccules dépourvus de leurs ribosomes la formation du globule lipidique osmiophile.

3^{ème} mode : synthèse de type lysosomique et vésiculaire (REG+M+G)

1^{er} temps : Le REG, probablement activé par des macromitochondries, engendre des saccules dépourvus de leurs ribosomes qui évoluent en petits globules lipidiques osmiophiles.

2^{ème} temps : Parallèlement, l'appareil de Golgi génère des vésicules qui enrichissent les mêmes globules lipidiques osmiophiles.

4^{ème} mode : Synthèse de type vésiculaire (M+REG+G)

1^{er} temps : Les macromitochondries, vraisemblablement activées par des fragments de REG, sécrètent des vésicules évoluant en petits globules lipidiques.

2^{ème} temps : L'appareil de Golgi achève par ses sécrétions vésiculaires la formation des globules lipidiques.

5^{ème} mode : Synthèse de type lysosomique et vésiculaire (endogène et exogène)

Les vésicules de pinocytose confluant dans le cortex de l'adipocyte rejoignent le lysosome mitochondrial lequel se transformerait en globule lipidique osmiophile.

Signification des abréviations :

G : appareil de Golgi ; **M** : mitochondrie ; **N** : noyau ; **REG** : réticulum endoplasmique granulaire.

DISCUSSIONS

Le processus évolutif du chondriome a été révélé dans la glande prothoracique des larves du ver à soie, *Antheraea pernyi*, au cours du cycle sécrétoire (BEAULATON, 1964).

Chez l'abeille ouvrière *Apis*, pendant la prévitellogenèse, la teneur en glycogène diminue à la suite de son incorporation dans les mitochondries qui se transforment en globules lipidiques. Ce phénomène figuré par des images illustrant la vacuolisation mitochondriale et la transformation du glycogène en structures lipidiques ne semble jamais avoir été montré dans le tissu adipeux des autres insectes.

Selon BREUZET (1990) un acide aminé radioactif injecté dans l'hémolymphe de *Labidura*, en cours de vitellogenèse, est rapidement incorporé aux protéines du tissu adipeux. Ainsi, le matériel synthétisé puis sécrété par le tissu adipeux aurait une origine mixte provenant tant du produit endogène que de précurseurs exogènes.

Chez les abeilles ouvrières qui entrent en vitellogenèse, le glycogène disparaît totalement de l'adipocyte. Les inclusions élaborées ne s'accumulent pas totalement dans le cytoplasme; elles seraient déversées, au fur et à mesure, dans le milieu extracellulaire. On observe d'autre part une intense activité de pinocytose à la périphérie des adipocytes ; les

vésicules confluent vers les lysosomes mitochondriaux. Le produit de synthèse aurait donc une origine mixte.

Dans les adipocytes du tissu adipeux périoarien d'*Apis*, les caractéristiques ultrastructurales des organites associés à la fonction de sécrétion, pendant la vitellogenèse sont comparables à celles décrites chez d'autres Insectes appartenant à des Ordres très variés tels que les Orthoptères : *Gryllus* (FAVARD-SERENO, 1973), *Locusta* (LAUVERJAT, 1977) ; les Blattoptères : *Diploptera* (STAY et CLARK, 1971) et *Nauphoeta* (WUEST, 1978) ; les Coléoptères : *Leptinotarsa* (de LOOF et LAGASSE, 1970) ; les Diptères : *Calliphora* (THOMSEN et THOMSEN, 1974) et *Aedes* (TADKOWSKI et JONES, 1979). Ces caractéristiques se manifestent dès le début de la vitellogenèse par un intense développement du REG qui s'organise en strates parallèles chargées de matériel dense. Simultanément les dictyosomes se multiplient et engendrent des vésicules de sécrétion. Les mitochondries sont particulièrement abondantes chez *Apis*.

En ce qui concerne la synthèse de lipides intracytoplasmiques, il semble logique de penser que la formation des triglycérides d'*Apis* fasse intervenir des lipoprotéines hémolympatiques. Il a été souvent démontré que les protéines vitellines étaient de nature lipoprotéique (ENGELMANN, 1979). Ainsi chez *Blatella* (KUNKEL et PAN, 1976), la fraction lipidique des vitellogénines atteint 15%. Chez *Nauphoeta* (IMBODEN et al., 1987) cette fraction est constituée essentiellement de dérivés de diglycérides.

Divers organites ont été impliqués dans ce processus de synthèse qu'il s'agisse de citernes du réticulum endoplasmique ayant perdu leurs ribosomes (de LOOF et LAGASSE, 1970, Coléoptères) ou de vésicules golgiennes ou peut être de mitochondries chez les hyménoptères et les diptères (MARTOJA, 1976).

Cependant peu de travaux ont été illustrés par des schémas cohérents de synthèse de lipides chez les espèces d'Insectes. Nos observations ultrastructurales de l'adipocyte nous ont permis de définir pour la première fois chez l'abeille *Apis* trois unités cohérentes du processus de synthèse de lipides lesquelles n'ont jamais été démontrées auparavant chez les hyménoptères :

Mitochondrie-REG ; Mitochondrie-REG-noyau ; Mitochondrie-REG-appareil de golgi. Cinq modes de synthèse de lipides sont observés chez *Apis*:

Un type lysosomique ; un type vésiculaires et trois types lysosomique et vésiculaire.

Selon THOMSEN et THOMSEN (1974), chez *Calliphora* l'existence probable d'une connexion entre les saccules du REG et les globules lipidiques est interprétée comme étant un site de synthèse lipidique.

Chez *Apis* nos clichés montrent que ce type de connexion confirme la synthèse lipidique.

L'amas de REG qui surmonte les globules de taille importante correspond probablement à la "coiffe" ou "catalysome" contenant les enzymes (LABOUR, 1974, *Leptinotarsa*). Selon WIGGLESWORTH (1966), les enzymes de la coiffe interviendraient tout autant dans la synthèse des lipides des globules que dans leur remise en circulation ultérieure. Les aspects ultrastructuraux observés dans le tissu adipeux d'*Apis* sont en faveur d'une telle interprétation en ce qui concerne les synthèses de lipides.

Chez *Leucophaera* (GILBERT, 1967), une accumulation de lipides s'effectue simultanément dans l'ovaire et dans le tissu adipeux, au début de la vitellogenèse. Ce n'est que dans la dernière phase de cette période qu'une diminution des lipides du tissu adipeux

est signalée; elle serait associée à un transfert de métabolites du tissu adipeux vers l'ovaire. Les variations lipidiques d'*Apis* sont en accords avec celles de cette espèce.

Chez *Rhodnius* (WIGGLESWORTH, 1966) la microscopie photonique a révélé la présence d'organites associés aux globules lipidiques: "les catalysomes". Ils seraient le siège de nombreuses réactions enzymatiques analogues à celles des mitochondries; l'activité lipasique y serait intense. En effet, chez de nombreux Insectes les lipides de réserves sont accumulés essentiellement sous forme de triglycérides dont la concentration peut atteindre 99% des lipides totaux (BEENAKKERS et *al.*, 1968). Chez les Orthoptères, ces triglycérides ont un rapport acide gras saturé / acide gras insaturé voisin de 0,8 (THOMPSON, 1973).

Chez *Apis*, la relation constante des organites avec les globules lipidiques nous a permis de proposer l'existence d'une activité lipasique à ces niveaux. Ceux-ci interviendraient dans la synthèse des lipides indispensables à la constitution des vitellogénines. Des globules lipidiques sont immédiatement élaborés à côté des organites.

Quant aux phénomènes lytiques, seules les vésicules lysosomiques d'origine golgienne sont impliquées dans les activités de lyse enzymatique du corps gras de *Calpodes* (LOCKE et SYKES, 1975). Chez *Formica*, le contenu des vacuoles d'endocytose est lysé par des hydrolases d'origine golgienne; le phénomène d'autophagie est entraîné par des corps denses d'accumulation enzymatique issue du réticulum endoplasmique et plus rarement du complexe golgien (JEANTET, 1981).

Dans le cas de l'abeille ouvrière *Apis*, le processus de lyse intervient dans trois unités cohérentes. Le lysosome mitochondrial incorpore les vésicules de pinocytoses. Le fonctionnement du système lysosomal est du type MERL: le rôle du réticulum endoplasmique supplante en effet celui de la mitochondrie lors de la formation des vésicules lysosomiques. Le système golgien n'intervient que pendant la phase de la vitellogenèse.

Le noyau peut intervenir également dans le processus de lyse.

Par ailleurs, l'influence très probable qu'exercerait l'ovaire sur l'évolution du métabolisme lipidique du tissu adipeux, chez *Apis*, représente un mécanisme anatomo-fonctionnel. Ainsi, selon BREUZET (1990) la proximité de l'ovaire induit dans le tissu adipeux l'apparition d'un gradient des globules lipidiques: les plages de lipides saturés sont rapidement abondantes dans les adipocytes situés au contact des ovocytes en vitellogenèse.

Conclusion sur la synthèse des lipides

Chez l'abeille ouvrière *Apis*, dès l'émergence, la teneur en glycogène diminue par suite d'incorporation de ce matériel dans les mitochondries contiguës aux extrémités dilatées du REG. Ces mitochondries, en fusion avec des saccules de réticulum endoplasmique dépourvus de leurs ribosomes, se transforment en vacuoles puis en globules lipidiques osmiophiles. Ce phénomène figuré par des images illustrant la vacuolisation mitochondriale et la transformation du glycogène en structures lipidiques ne semble jamais avoir été montré dans le tissu adipeux des autres insectes.

Durant la deuxième semaine, certaines abeilles ouvrières sont en vitellogenèse. Les rosettes de glycogène disparaissent de leurs adipocytes. De nombreuses vésicules de pinocytose sont alors incorporées dans le lysosome mitochondrial. Ainsi, le matériel synthétisé par le tissu adipeux aurait une origine mixte provenant tant du produit endogène que de précurseurs exogènes.

Nos observations ultrastructurales de l'adipocyte nous ont permis de définir pour la première fois chez l'abeille *Apis* trois unités cohérentes du processus de synthèse de lipides lesquelles n'ont jamais été démontrées auparavant chez les hyménoptères : Mitochondrie-REG ; Mitochondrie-REG-noyau ; Mitochondrie-REG-appareil de golgi.

La synthèse des lipides s'effectue en cinq modes dont quatre sont de type endogène lequel se réalise en deux temps : le premier concerne la production des petits globules lipidiques et le second est lié à la formation définitive du globule.

Les globules lipidiques ayant cinq origines différentes sont constitués à partir de :

- Lysosome mitochondrial incorporant du glycogène, saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes et vésicules nucléaires;
- Lysosome mitochondrial et saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes;
- Saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes et vésicules golgiennes;
- vésicules mitochondriales et golgiennes, exclusivement;
- Lysosome mitochondrial et vésicules de pinocytose.

Vers la fin de la vitellogenèse, les ouvrières orphelines accumulent le maximum de matériel vitellin dans leurs ovocytes basaux. Dans l'adipocyte, l'hyaloplasme est très riche en mitochondries. Les travées parallèles des cylindres de réticulum endoplasmique granulaire sont abondantes. Les globules lipidiques non osmiophiles atteignent leur taille maximale alors que ceux de lipidiques osmiophiles sont rares. Les invaginations de la membrane plasmique sont très développées. La présence des vésicules de pinocytose et de nombreux granules protéiques dans le cortex des adipocytes témoignent de l'activité cellulaire même en fin de la vitellogenèse.

B - SYNTHÈSE DES PROTÉINES

L'étude ultrastructurale nous a permis de suivre correctement la cinétique des transformations des adipocytes et notamment de leurs inclusions cytoplasmiques en relation avec les organites. Dès le début de la vitellogenèse, les plages des rosettes de glycogène ont disparu du cytoplasme. Les globules lipidiques osmiophiles atteignent leur taille maximale. Le nombre de mitochondries de grande taille devient considérable. Des relations fonctionnelles entre les globules lipidiques et les organites cellulaires sont mises en place.

1. Modes de synthèse des protéines

La synthèse protéique s'effectue en 5 modes dont 4 sont de type endogène:

- 1^{er} mode : synthèse de type lysosomique et vésiculaire

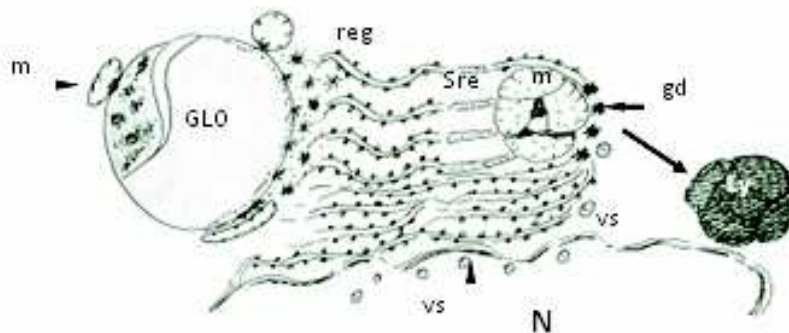
Vers la fin de la prévitellogenèse, le noyau multilobé et riche en matériel d'apparence ribosomique semble plus actif. A sa proximité, existent de fines et nombreuses strates parallèles de REG contigues par leurs extrémités, d'un côté, à un volumineux globule lipidique osmiophile et, de l'autre, à un lysosome mitochondrial.

Les grains denses du REG, les saccules de réticulum endoplasmique dépourvus de leurs ribosomes et les vésicules de sécrétion du noyau enrichissent le lysosome mitochondrial pour une éventuelle formation du granule protéique (PLXVII-1, annexe).

Les observations les plus approfondies montrent que les cylindres parallèles du REG ayant perdu leurs ribosomes, les grains denses et les structures vésiculaires d'origine nucléaire paraissent être en fusion avec l'amas de mitochondries (Fig.18 ; PLXVII-2, annexe).

Dès le début de la vitellogenèse, à proximité du noyau, de fines et nombreuses strates parallèles de REG contigües par leurs extrémités, d'un côté, à un volumineux globule lipidique osmiophile et, de l'autre, à un groupe de mitochondries lesquelles constituent un lysosome évoluant en granule protéique.

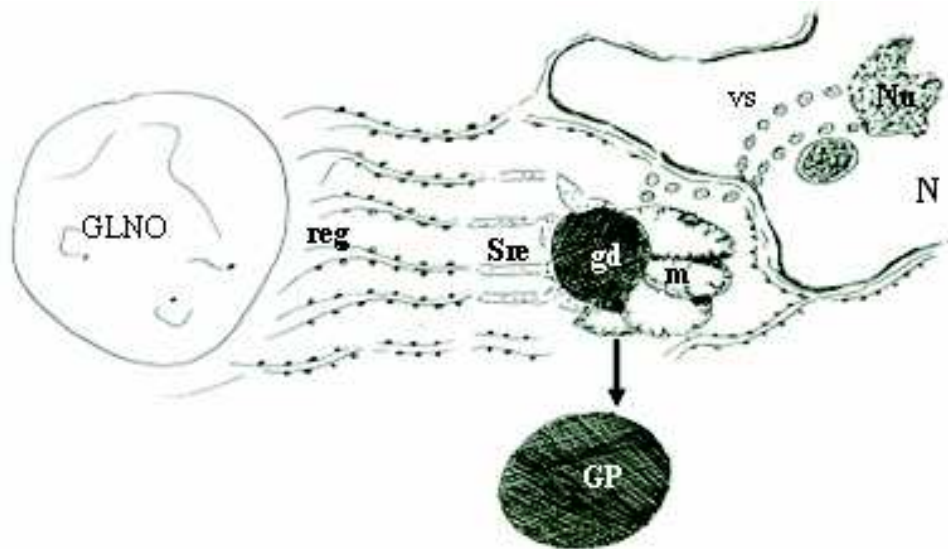
En effet, le noyau très lobé et nucléolé est en phase de sécrétion vésiculaire. Les mitochondries de 0,5 à 0,9 μ m de diamètre sont groupées. Etant en fusion entre elles, il apparaît au niveau de leurs crêtes un matériel vésiculaire opaque aux électrons. Les grains denses du REG, les saccules dépourvus de leurs ribosomes et les vésicules de sécrétion du noyau enrichissent le lysosome mitochondrial. Un granule très dense apparaît dans la zone de contiguïté entre les mitochondries et les saccules réticulaires (Fig.19 ; PLXVIII-1, annexe). Les mitochondries, presque en lyse totale, sont limitées par une enveloppe mitochondriale qui est elle-même en fusion avec la membrane externe des mitochondries voisines (flèche). De larges saccules parallèles de REG dépourvus de leurs ribosomes semblent véhiculer des grains denses au lysosome mitochondrial en évolution en granule protéique (PLXVIII-2, annexe).



GLO : globule lipidique osmiophile ; gd : grain dense ; Ly : Lysosome ; m : mitochondrie ; N : noyau ; reg : réticulum endoplasmique granulaire ; Sre : Saccules de réticulum endoplasmique dépourvus de ribosomes ; vs : vésicule de sécrétion.

Fig.18: Synthèse des protéines à partir des lipides insaturés, des lysosomes mitochondriaux et des sécrétions nucléaires

(original)



GLNO : globule lipidique non osmiophile ; gd : granule dense ; GP : granule protéique ; m : mitochondrie ; N : noyau ; Nu : Nucléole ; reg : réticulum endoplasmique granulaire ; Sre : Saccules de réticulum endoplasmique dépourvus de ribosomes ; vs : vésicule de sécrétion.

Fig.19: Synthèse des protéines à partir des lipides insaturés, des lysosomes mitochondriaux et des sécrétions nucléaires

(original)

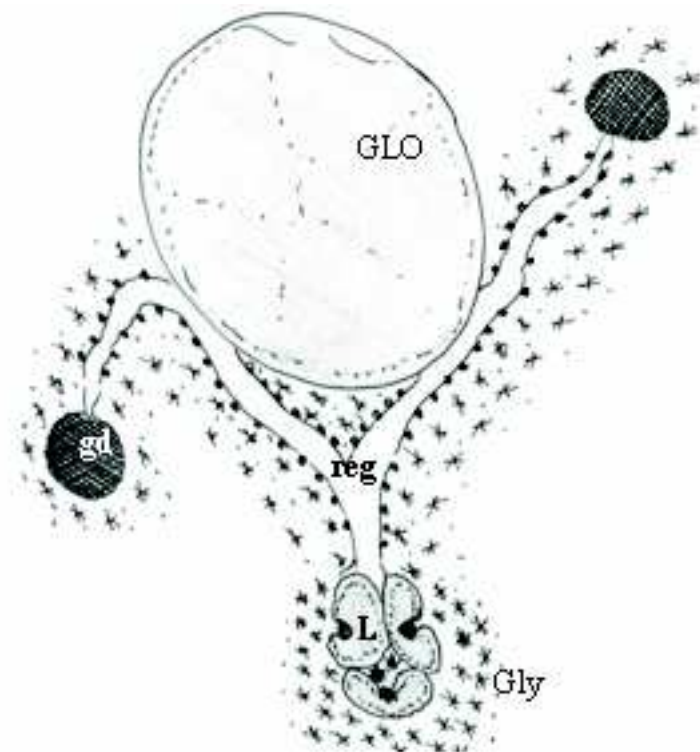
2^{ème} mode : synthèse de type lysosomique

2 jours après l'émergence des ouvrières, dans les adipocytes du tissu adipeux périovarien, le REG, contigu au globule lipidique, élabore des granules denses de nature probablement protéique de 0,16 à 0,33 μ m de diamètre (Fig.20 ; PLXIII-1, annexe). Ces granules denses se trouvent également dans l'hyaloplasme périnucléaire (PLXIII-2, annexe).

Vers la fin de la prévitellogenèse, des fragments du REG sont contigus par leurs extrémités dilatées, d'un côté, au globule lipidique osmiophile et de l'autre aux mitochondries. A la périphérie du globule, au regard des cylindres de REG, apparaissent des grains denses en forme de rosette. A l'intérieur de ces cylindres, il y a un matériel vésiculaire d'aspect floconneux (flèche) (PLXIX-1, annexe). Dans l'hyaloplasme, les grains denses paraissent être en fusion avec les mitochondries en lyse.

Les globules lipidiques en contiguïté avec les mitochondries perdent partiellement leurs lipides insaturés. Devenant semi- osmiophiles, leur diamètre varie de 2,2 à 2,8 μ m. Certaines mitochondries coiffant le globule lipidique osmiophile semblent produire des grains denses, en forme de rosettes, situés à la périphérie du globule. Dans les plages claires, les grains denses de 0,05 à 0,15 μ m de diamètre et les mitochondries semblent être en lyse; les vésicules lysosomiques sont remarquables. Les mitochondries contigues au globule lipidique s'autolysent et génèrent donc des grains denses qui peuvent participer dans la formation ultérieure des granules protéiques (PLXIX-2, annexe).

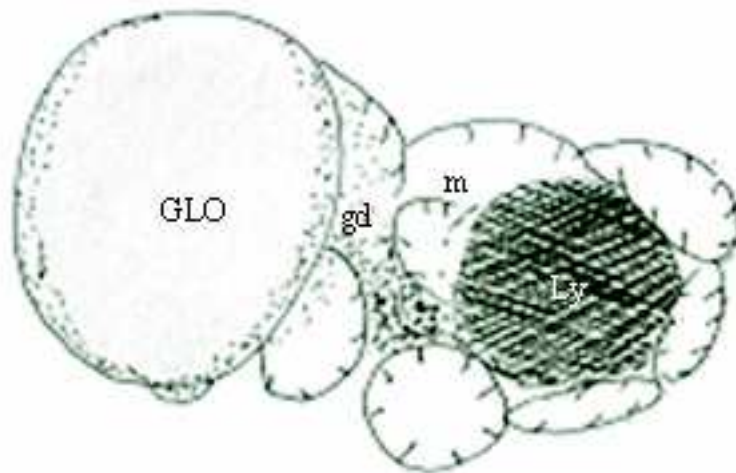
Un amas de mitochondries en lyse, en contiguïté avec un globule lipidique osmiophile, semble produire de grains denses à partir du globule. Le lysosome mitochondrial évoluera en granule protéique (Fig.21 ; PLXIX-3, annexe).



GLO: globule lipidique osmophile; gd : granule dense ; Gly : glycogène ; L : lipide ;
reg : réticulum endoplasmique granulaire.

*Fig.20 : Synthèse des granules protéiques denses à partir
des lipides insaturés par le réticulum endoplasmique granulaire*

(original)



GLO : globule lipidique osmiophile ; gd : grains denses ; m : mitochondrie ; Ly : lysosome mitochondrial.

Fig.21 : Synthèse des protéines par le lysosome mitochondrial et les grains denses d'origine lipidique

(original)

3^{ème} mode : synthèse de type lysosomique et vésiculaire

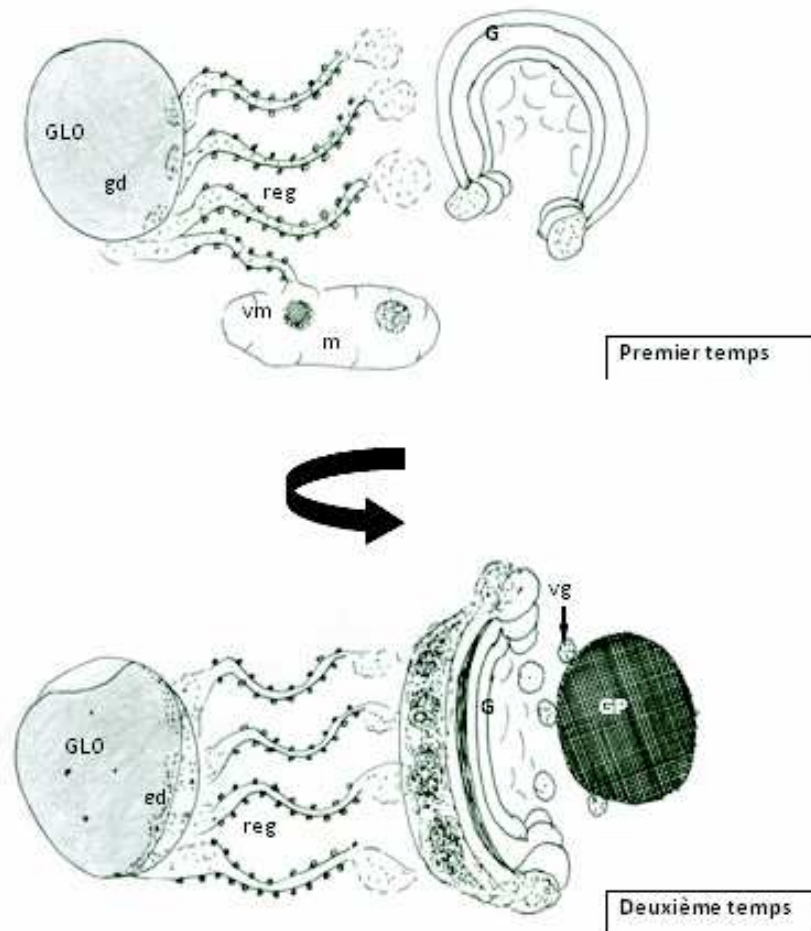
Une macromitochondrie semble activer quelques petites strates de REG parallèlement contigues par leurs extrémités à un volumineux globule lipidique osmiophile. A proximité de larges saccules de dictyosomes de l'appareil de Golgi, une mitochondrie semble initier le processus de formation du granule protéique (Fig.22 ; premier temps, PLXX-1, annexe).

Le processus de migration des lipides insaturés de l'intérieur du globule vers la périphérie serait probablement identique chez les organites impliqués dans la protéosynthèse.

Un matériel finement granuleux paraît être extirpé du globule lipidique osmiophile (flèche) vers l'intérieur du réticulum endoplasmique granulaire (*). Les citernes du REG contiennent un matériel floconneux. Le même matériel fortement osmiophile pourrait être le précurseur des vésicules de transition à contenu dense. Les dictyosomes de l'appareil de Golgi, formé de plusieurs saccules, génèrent des vésicules golgiennes lesquelles fusionnent au granule opaque aux électrons (gd), déjà initié par la mitochondrie (PLXX-1, annexe).

Les premières décondensations du globule entraînent la formation de plages claires de lipide d'où l'appellation de globule lipidique semi osmiophile. Immédiatement à côté du système globule lipidique- réticulum endoplasmique granulaire et appareil de Golgi, des granules protéiques de 0,6 à 0,9 μ m de diamètre sont édifiés ; certains granules en cours de synthèse sont entourés de vésicules golgiennes (*) (Fig.22 ; deuxième temps, PLXX-2, annexe).

Le globule lipidique totalement non osmiophile, contient un résidu granuleux et filamenteux. Les lipides insaturés seraient donc transformés en granules protéiques (PLXX-3, annexe).



G : appareil de golgi ; GLO : globule lipidique osmiophile ; gd : grain dense ; GP : granule protéique ; m : mitochondrie ; reg : réticulum endoplasmique granulaire ; vg : vésicule golgienne ; vm : vésicule mitochondriale.

Fig.22: Synthèse des protéines par le réticulum endoplasmique granulaire, la mitochondrie et l'appareil de golgi à partir des lipides insaturés (original)

4^{ème} mode : synthèse de type vésiculaire

Quelques macromitochondries et saccules de dictyosomes l'appareil de golgi sont connectés à de volumineux globules lipidiques osmiophiles. Ils sécrètent des vésicules dont la fusion engendre des granules protéiques. Ces organites semblent extraire des lipides insaturés sous forme de grains denses. Les plus petites vésicules golgiennes d'aspect dense, de 0,13µm de diamètre, fusionnent entre elles et forment de volumineuses vésicules pouvant atteindre 0,7µm de diamètre. Un granule protéique de 0,9µm de diamètre est immédiatement édifié à proximité de l'appareil de golgi (Fig.23 ; PLXXI-1, annexe).

Le processus de formation de ces granules passe par les étapes suivantes :

Des vésicules golgiennes (vg) fusionnent au granule protéique initialement constitué (GP1); - Sur le granule protéique (GP2) de texture moins dense et de 0,9µm de diamètre, les vésicules golgiennes sont reconnaissables ;

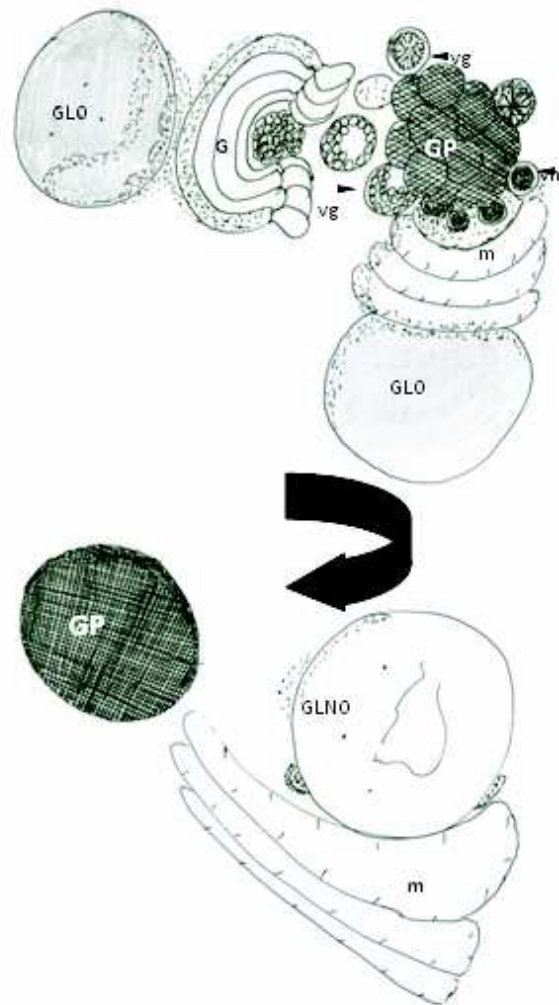
Le granule protéique presque achevé (GP3) a une texture fine et condensée (PLXXI-2, annexe).

Parallèlement, des vésicules mitochondriales denses de 0,26 à 0,4µm de diamètre semblent être en fusion entre elles. Elles évolueraient en granule protéique (PLXXI-3, annexe).

En fin d'extraction des lipides insaturés, il ne reste dans le globule lipidique que des résidus de grains denses et des structures filamenteuses. Jusqu'à ce stade, certaines mitochondries restent encore connectés au globule lipidique totalement non osmiophile (Fig.23 ; PLXXI-4, annexe).

5^{ème} mode : synthèse lipoprotéique de type lysosomique et vésiculaire (endogène et exogène)

Dans le cortex de l'adipocyte, un matériel hémolympatique dense est accumulé entre la lame basale et la membrane plasmique. Des puits recouvert de matériel dense apparaissent dans cette région (flèche pleine). A la périphérie cellulaire, de nombreuses vésicules de pinocytose de 0,1 à 0,2µm de diamètre se trouvent au voisinage de la membrane plasmique et en fusion avec le lysosome mitochondrial. Ces vésicules d'aspect clair sont revêtues de matériel opaque aux électrons. Les matériaux de couleur noire sont dus au produit de fixation de l'acide osmique. Les adipocytes d'*Apis* peuvent donc synthétiser des protéines à partir d'un matériel d'origine exogène (Fig.17 ; PLXIII-3, annexe).



G : appareil de golgi ; GLO : globule lipidique osmiophile ; GLNO : globule lipidique non osmiophile ; GP : granule protéique ; m : mitochondrie ; vg : vésicule golgienne ; vm : vésicule mitochondriale.

Fig.23 : Synthèse des protéines à partir des lipides insaturés par l'appareil de golgi et les mitochondries

(original)

2. Schéma récapitulatif de synthèse des protéines

1^{er} mode : synthèse de type lysosomique et vésiculaire (GL+REG+M+N)

Pendant la prévitellogenèse et la vitellogenèse, le REG est contigu à la fois au globule lipidique (GL) et au lysosome mitochondrial (M) à proximité du noyau (N). Les saccules de réticulum endoplasmique contenant des grains denses et les vésicules de sécrétion du noyau enrichissent le lysosome mitochondrial en état de transformation en granule protéique.

2^{ème} mode : synthèse de type lysosomique (GL+REG+M)

En prévitellogenèse, le REG et les mitochondries, contigus au globule lipidique, génèrent des grains denses qui participeraient dans la formation des granules protéiques.

· 3 ème mode : synthèse de type lysosomique et vésiculaire (GL+REG+M+G)

En vitellogenèse, à proximité de l'appareil de golgi (G), le REG est contigu à la fois au globule lipidique (GL) et à une mitochondrie initiatrice de la synthèse protéique. La mitochondrie (M), les saccules de réticulum endoplasmique contenant des grains denses et les vésicules golgiennes réalisent la formation du granule protéique.

· 4 ème mode : synthèse de type vésiculaire (GL+M+G+REG)

En vitellogenèse, macromitochondries et appareil de golgi, chacun contigu à son globule lipidique, génèrent des vésicules de sécrétion qui engendrent par fusion un granule protéique. Les macromitochondries sont probablement activées par des fragments de REG.

· 5 ème mode : Synthèse lipoprotéique de type lysosomique/vésiculaire (endogène et exogène)

Dans le cortex de l'adipocyte des vésicules d'endocytose sont mises en évidence ; elles contribuent à la fois au métabolisme lipidique et protéique de la cellule adipeuse. Les lipoprotéines d'origine exogène sont incorporées dans l'adipocyte sous forme de vésicules de pinocytose lesquelles fusionnent dans le lysosome mitochondrial. L'évolution de cette structure engendre des inclusions lipidiques et protéiques.

Comme pour la synthèse des lipides, les mêmes unités de synthèse protéique sont définies pour la première fois chez l'abeille *Apis*:

Mitochondrie-REG ; Mitochondrie-REG-noyau ; Mitochondrie-REG- appareil de golgi.

Nous avons observé cinq types de granules protéiques d'origine différente composés de :

- Lysosome mitochondrial, saccules de REG dépourvus de leur ribosomes, grains denses et vésicules nucléaires;
- Lysosome mitochondrial, saccules de REG dépourvus de leur ribosomes et grains denses;
- Mitochondrie initiatrice, saccules de RE contenant des grains denses et vésicules golgiennes;
- Exclusivement de vésicules mitochondriales et golgiennes ;
- Lysosome mitochondrial enrichi de vésicules de pinocytose.

DISCUSSIONS

Les modifications cytologiques du tissu adipeux observées durant l'évolution ovarienne ont permis de définir la première phase reproductrice des ouvrières. Au cours de cette période, les adipocytes se comportent comme des cellules sécrétrices. Les réserves lipidiques et protéiques participent à l'élaboration des protéines vitellines qui sont sécrétées dans l'hémolymphe.

Le tissu adipeux de l'abeille ouvrière *Apis* se différencie de celui des autres Insectes par les modalités d'utilisation des réserves. Dans certains cas les inclusions protéiques, présentes au moment de la mue imaginale, disparaissent dès les premiers jours de la vie adulte avant le début de la vitellogenèse. Leur utilisation pour l'élaboration de

protéines vitellines est proposée chez *Diptera* (STAY et CLARK, 1971) et *Periplaneta* (SUBRAMONIAN, 1973).

Dans le cas de l'ouvrière *Apis*, dès l'émergence, la teneur en glycogène diminue par suite d'incorporation de ce matériel dans les mitochondries contiguës aux extrémités dilatées du REG. Le complexe REG-mitochondries et les sécrétions nucléaires interviendraient dans la formation de granules denses. Ce phénomène figuré par des images illustrant la vacuolisation mitochondriale et la transformation du glycogène pour l'élaboration d'éventuels grains denses ne semble jamais avoir été montré dans le tissu adipeux des autres insectes.

Vers la fin de la prévitellogenèse, les globules lipidiques, contigus à de nombreuses mitochondries et aux extrémités dilatées des petites travées du REG, sont entourés de nombreux grains denses ayant l'apparence de rosettes. Ces grains ressemblent beaucoup à ceux de *Formica*; ils sont essentiellement de nature protéique (JEANTET, 1981).

Au bout d'une semaine après l'émergence, le glycogène et les grains denses disparaissent du cytoplasme chez les abeilles ouvrières qui entrent en vitellogenèse. Les figures d'exocytose sont évidentes sur nos clichés. Donc chez *Apis*, les grains denses sont proposés pour l'élaboration des protéines vitellines.

Les modifications cytologiques du tissu adipeux observées durant l'évolution ovarienne ont permis de définir la seconde phase reproductrice des ouvrières. Au cours de cette période de la vitellogenèse, les adipocytes se comportent comme des cellules sécrétrices. Les réserves lipidiques et protéiques participent à l'élaboration des protéines vitellines qui sont sécrétées dans l'hémolymphe.

Chez de nombreux Insectes, dès le début de la vitellogenèse, le tissu adipeux apparaît dépourvu d'inclusions protéiques: c'est le cas de *Diptera* (STAY et CLARK, 1971), *Gryllus* (FAVARD-SÈNÈRO, 1973), *Locusta* (LAUVERJAT, 1977), *Nauphoeta* (WUEST, 1978) ou *Aedes* (TADKOWSKI et JONES, 1979). Chez *Calliphora* (THOMSEN et THOMSEN, 1974) des inclusions protéiques se présentent sous forme de corps denses auxquels est fréquemment associée une activité phosphatase acide.

La libération des protéines dans le milieu intérieur est implicite: en effet, il a été démontré que les protéines élaborées au cours de la vitellogenèse ne sont jamais accumulées dans l'adipocyte (WYSS-HUBER et LUSCHER, 1972 ; SUBRAMONIAN, 1973) mais qu'elles sont libérées dans l'espace intercellulaire qui est en relation directe avec l'hémolymphe.

Le REG, les mitochondries et les sécrétions nucléaires interviendraient dans la formation des granules denses. Ceux-ci étant situés dans le hyaloplasme périnucléaire, ils correspondent vraisemblablement aux "corpuscules nucléaires" et aux grains protéiques intra-cisternaux décrits successivement chez la reine d'*Apis* (BISHOP, 1958) et chez la reine ailée de *Formica* (JEANTET, 1981).

Contrairement à ce que l'on observe dans le tissu adipeux des espèces mentionnées ci-dessus, celui de l'ouvrière d'*Apis* apparaît riche en inclusions protéiques.

Peu de recherches ont été consacrées à l'évolution des inclusions lipidiques et à leur éventuelle participation à la constitution des vitellogénines. Pourtant il a été souvent démontré que les protéines vitellines étaient de nature lipoprotéique (ENGELMANN, 1979). Ainsi chez *Blattella* (KUNKEL et PAN, 1976), la fraction lipidique des vitellogénines atteint 15%. Chez *Nauphoeta* (IMBODEN et al., 1987) cette fraction est constituée essentiellement de dérivés de diglycérides tels que phosphatidylcholine, phosphatidylsérine et phosphatidyléthanolamine.

Au plan cytologique, quelques travaux, qui font état de modifications morphologiques des globules lipidiques du tissu adipeux, proposent généralement l'existence d'une corrélation certaine entre la réduction de la taille des globules et une augmentation de la concentration en lipides dans les ovocytes; c'est le cas de *Galleria* (DUTKOWSKY et ZIAJKA, 1972), *Periplaneta* et *Nauphoeta* (SAROJINI et CHAKKO, 1975a et 1975b) et d'*Aedes* (RAIKHEL et LEA, 1983). En effet, Chez *Nauphoeta* (SAROJINI et CHAKKO, 1975b), il existerait durant la vitellogenèse une diminution de la concentration en acides gras insaturés dans les adipocytes. Cette diminution serait compensée par une augmentation de la concentration en acides gras saturés.

Ainsi, pendant la vitellogenèse on assiste à un important métabolisme lipidique associé aux synthèses protéiques. L'importance de ce type de métabolisme est objectivée par la modification des constituants de l'adipocyte.

La destinée des globules lipidiques a rarement été suivie à l'échelle ultrastructurale. Leur utilisation pour l'élaboration des inclusions protéiques autre fois envisagée chez les Hyménoptères restait du domaine de l'hypothèse (MARTOJA, 1976). L'existence de relations anatomiques étroites entre les citernes du REG, le globule lipidique et les grains denses, ainsi que l'existence possible d'un important transit de matériel osmiophile dans les citernes de REG au contact des globules lipidiques sont autant de présomptions en faveur de l'hypothèse de la participation des lipides osmiophiles dans l'élaboration des vitellogénines.

Ce schéma structural et fonctionnel du tissu adipeux que nous proposons à l'égard d'*Apis* n'a jamais été envisagé pour d'autres insectes excepté *Labidura* (BREUZET, 1990).

Nos multiples observations quant à la contiguïté des nombreuses mitochondries, du REG et des dictyosomes de l'appareil de Golgi avec les globules lipidiques entourés de structures denses ont suscité également l'hypothèse de l'utilisation des lipides insaturés dans l'élaboration des vitellogénines. Ce schéma de synthèse protéique que nous suggérons aussi pour l'abeille *Apis* n'a jamais été signalé pour d'autres Insectes. Ainsi, les lipides insaturés seraient transférés des globules vers les mitochondries.

L'apparition constante des complexes ORGANITES- GLOBULE LIPIDIQUE - GRAINS DENSES permet de proposer l'existence d'une activité lipasique à ces niveaux.

Les grains denses et les plages claires qui se développent au fur et à mesure que les lipides saturés se substituent aux lipides insaturés pourraient être la conséquence de cette activité enzymatique. Celle-ci interviendrait dans la mobilisation des lipides indispensables à la constitution des vitellogénines.

Les triglycérides sont hydrolysés en diglycérides et acides gras qui, associés à des protéines, constituent la forme circulante des lipides dans l'hémolymphe.

Chez *Apis*, la microscopie électronique nous a permis de mettre en évidence un phénomène analogue dans les globules lipidiques: la disparition des plages de lipides osmiophiles s'accompagne d'une extension des plages de lipides non osmiophiles.

Pour l'interprétation de ces observations, nous retenons la proposition, chez *Labidura*, selon laquelle l'hydrolyse des triglycérides contenus dans les globules lipidiques se manifesterait par une utilisation préférentielle d'acides gras insaturés qui diffuserait dans les saccules du REG (BREUZET, 1990).

Nos images démontrent que les extrémités dilatées du REG renferment des grains denses. La mitochondrie incorpore dans sa matrice les acides gras et se transforme en

grains denses par autolyse. Ce matériel opaque aux électrons se conjuguerait aux futurs granules protéiques en cours de synthèse.

Les lipides saturés ne seraient pas mobilisés et constitueraient les plages claires qui envahissent progressivement les globules lipidiques.

Nos observations micrographiques chez *Apis* nous ont permis donc d'illustrer trois schémas du processus de formation des grains denses protéiques à partir du globule lipidique osmiophile:

1. GLOBULE LIPIDIQUE- REG -GRAINS DENSES;
2. GLOBULE LIPIDIQUE- MITOCHONDRIE-GRAINS DENSES;
3. GLOBULE LIPIDIQUE-REG- MITOCHONDRIE-NOYAU -GRAINS DENSES.

Les aspects ultrastructuraux liés aux phénomènes de protéosynthèse confèrent au tissu adipeux des ouvrières d'*Apis* une originalité certaine. La diversité des affinité tinctoriales des granules protéiques, liée à la variété de composition des ces inclusions, ainsi que les modifications du noyau et du chondriomes coïncidant avec leur apparition ont entraîné de nombreuses hypothèses sur leur origine.

En effet, le mode de formation des inclusions protéiques semble différer dans les divers ordres d'Holométaboles: il met en jeu des phénomènes lytiques, auxquels peuvent s'ajouter une faible participation d'éléments nucléaires chez les Diptères et une pinocytose chez les Lépidoptères (MARTOJA, 1976). Chez les Hyménoptères, les granules protéiques se formeraient sous l'influence du noyau; certaines inclusions peuvent être considérées comme résultant de l'évolution d'une mitochondrie dont la membrane externe constitue la paroi du lysosome (BISHOP, 1923; 1958).

Aucune de ces interprétations n'est complètement à rejeter, puisque de nombreux organites cytoplasmiques sont impliqués dans les mécanismes de formation des granules protéiques. Nous prenons essentiellement ici les travaux relatifs à l'étude ultrastructurale des adipocytes.

Le schéma le plus cohérent de l'évolution d'une vacuole autophagique en granule protéique est décrit dans le tissu de *Calpodes* où se succèdent 3 types de granules d'origine différente (LOCKE et COLLINS, 1965):

- granules d'origine exogène ;
- granules issus des vacuoles autolytiques;
- granules d'origine exclusivement golgienne.

Peu de travaux ont été illustrés par des schémas cohérents de synthèse de lipides chez les espèces d'Insectes.

Notre étude ultrastructurale de l'adipocyte nous a permis de définir cinq origines différentes de synthèse des granules protéiques :

- granules d'origine lysosomique et nucléaire.
- granules d'origine exclusivement lysosomique;
- granules d'origine lysosomique et golgienne ;
- granules exclusivement vésiculaires d'origine mitochondriale et golgienne ;
- granules d'origine mixte endogène et exogène ;

Conclusion sur la synthèse des protéines

Nos observations ultrastructurales de l'adipocyte nous ont permis de définir pour la première fois chez l'abeille *Apis* trois processus de synthèse de protéines lesquels n'ont jamais été démontrées auparavant chez les hyménoptères :

Mitochondrie - REG ; Mitochondrie - REG- noyau ; Mitochondrie - REG- appareil de golgi. En ce qui concerne le mode de formation des granules protéiques dans les adipocytes d'*Apis*, nous en avons observé cinq types d'origine différente:

- Lysosome mitochondrial incorporant des grains denses protéiques, saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes et vésicules nucléaires;
- Lysosome mitochondrial incorporant des grains denses protéiques et saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes;
- Lysosome constitué d'une mitochondrie, de saccules de REG dépourvus de leur ribosomes, des grains denses protéiques et des vésicules golgiennes;
- Exclusivement de vésicules mitochondriales et golgiennes ;
- Lysosome mitochondrial et vésicules de pinocytose.

En prévitellogenèse, la synthèse des protéines s'effectue en 3 modes à prédominance lysosomique. Les protéines sont élaborées à partir des lipides insaturés par les trois organites le REG, la mitochondrie et le noyau.

Durant la première semaine de la vie adulte des ouvrières, les adipocytes du tissu adipeux transforment leurs réserves lipidiques en protéines. Les globules lipidiques, en contiguïté avec les mitochondries et le REG, perdent partiellement leur lipide insaturé lequel se transformerait en grains denses situés à la périphérie du globule. Les amas de mitochondries, les saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes, les grains denses et les vésicules nucléaires constituent le lysosome initiateur du futur granule protéique.

Pendant la deuxième semaine de la vie adulte, certaines abeilles entrent en vitellogenèse. Les précurseurs exogènes et les sécrétions golgiennes renforcent le processus de synthèse protéique lequel s'effectue en cinq modes à prédominance lysosomique vésiculaire. Les globules lipidiques osmiophiles connectés aux organites sont totalement décondensés et transformés en plages claires de lipides non osmiophiles. Ainsi, les lipides insaturés seraient synthétisés en granules protéiques.

C. UTILISATION DES INCLUSIONS CYTOPLASMIQUES ET EXOCYTOSE

1. Utilisation des inclusions cytoplasmiques

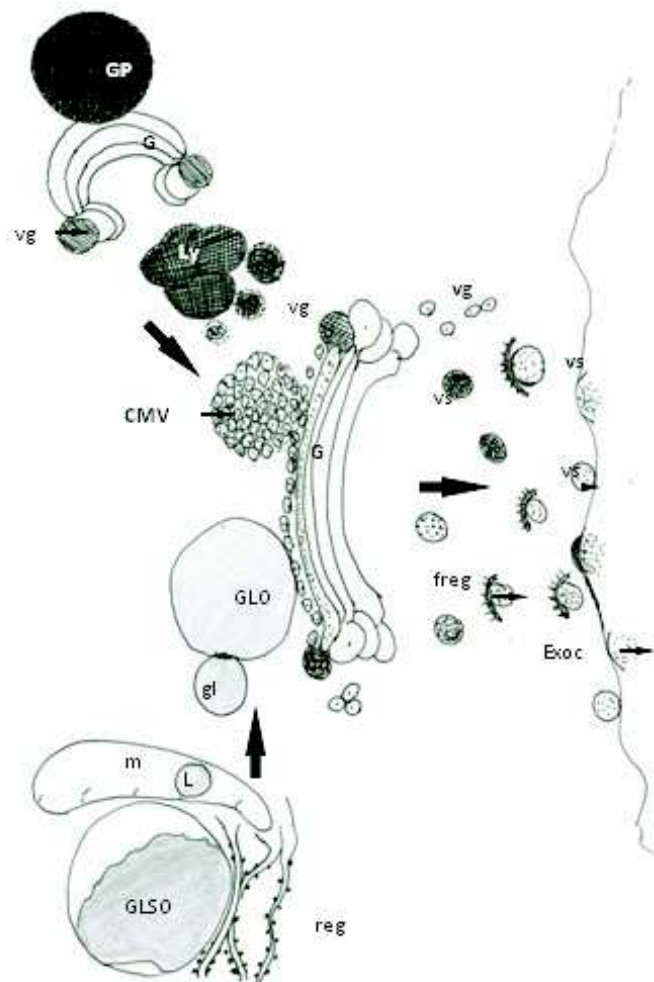
En présence des citernes dilatées du réticulum endoplasmique granulaire (cdREG), les macromitochondries sont contigues aux volumineux globules lipidiques semi- osmiophiles de 1,5 à 2,8 μ m de diamètre. Elles synthétisent des diglycérides et acides gras sous forme de petits globules lipidiques osmiophiles de 0,3 à 0,5 μ m de diamètre. Ces petits globules et les granules protéiques de 0,4 à 0,8 μ m de diamètre en décondensation sont contigus aux saccules de dictyosomes de l'appareil de Golgi lequel génère des vésicules denses. Les vésicules de sécrétion sont chargées de matériel floconneux. Des vésicules semblables au contact de la membrane plasmique sont en exocytose (Fig.24 ; PLXXII-1, annexe).

Donc à la périphérie de l'adipocyte, les figures d'exocytose sont évidentes (flèche). Leurs matériaux de couleur noire sont dus au produit de fixation de l'acide osmique.

Les dictyosomes de l'appareil de golgi (G) et les mitochondries (M) sont connectés au granule protéique (GP). Ces organites produisent des vésicules de sécrétion (VS) lesquelles semblent être accompagnées par des fragments du réticulum endoplasmique granulaire (fREG) jusqu'à la membrane plasmique au contact de l'espace intercellulaire (eic) (PLXXII-2, annexe).

2. Migration des vésicules de sécrétion et exocytose

Les figures des vésicules de sécrétion dans les adipocytes sont évidentes dès le 2^{ème} jour après l'émergence. Ces vésicules de sécrétions (VS) sont contiguës à la membrane cytoplasmique de l'adipocyte. Elles sont nombreuses dans l'espace intercellulaire (PLXXII-3, annexe).



CMV : corps multivésiculaire ; Exoc : Exocytose ; freg : fragment de réticulum endoplasmique granulaire ; G : Appareil de Golgi ; gl : globule lipidique ; GLO : globule lipidique osmiophile ; GLSO : globule lipidique semi-osmiophile ; GP : granule protéique ; L : lipide ; Ly : Lysosome ; m : mitochondrie ; reg : réticulum endoplasmique granulaire ; vg : vésicule golgienne ; vs : vésicule de sécrétion.

Fig.24 : Utilisation des inclusions cytoplasmiques et exocytose

(original)

Dans le cortex de la cellule, les mitochondries sont géantes (M) ; les fragments de réticulum endoplasmique granulaire (fREG) sont contigus aux vésicules de sécrétion (VS). Dans l'espace intercellulaire (eic), ces vésicules sont nombreuses au sein de la microvillosité cellulaire (mvc) (PLXXIII-1, annexe).

La surface de contact entre les vésicules de sécrétion (VS) et le fragment du réticulum endoplasmique granulaire (fREG) est dépourvue de ribosomes (Fig.24).

Le contenu des vésicules d'exocytose (VExoc) déversé dans l'espace intercellulaire (eic) a un aspect cotonneux (PLXXIII-2, annexe).

De nombreuses vésicules de sécrétion de 0,083µm de diamètre se trouvent dans les labryntes péricellulaires (im) et dans la lame basale (PLXXIII-3, annexe). Les vésicules figurées confirment l'extrusion du matériel vitellogénétique dans le milieu extracellulaire hémolympatique.

Donc, pendant la vitellogenèse, une quantité importante de matériaux vitellogénétiques est synthétisée par le tissu adipeux. Ceci est révélé par le développement important des organites liés aux fonctions de synthèse, une libération intense des produits de sécrétion et une diminution conséquente des réserves propres aux adipocytes.

DISCUSSIONS

L'utilisation des lipides du corps gras des Insectes et les données biochimiques montrent l'importance de triglycérides qui sont décomposés par des lipases: les diglycérides et acides gras formés, libérés dans l'hémolymphe se lient à des protéines sous forme de lipoprotéines (JEANTET, 1981).

En effet, dans les adipocytes larvaires et nymphaux de *Formica* (JEANTET, 1981), les étroites relations entre les globules lipidiques de diamètre inférieur à 0,5µm et l'important réseau de REG illustreraient selon BHAKTAN et GILBERT (*Hyalophora*, 1970 in JEANTET, 1981), le rôle joué par les citernes du REG dans la capture des composés lipidiques. Dans le corps gras de *Hyalophora*, ces auteurs ont suivi, par autoradiographie, le trajet d'acides gras marqués avant leur incorporation dans des lipides neutres; l'important marquage au niveau du réticulum endoplasmique laisse penser que les processus d'estérification ont lieu à l'intérieur ou entre les citernes, avant le transfert aux globules lipidiques des composés ainsi synthétisés.

Dans notre cas, la présence du REG et des macromitochondries en contiguité avec les volumineux GL et l'existence des petits voire des minuscules globules lipidiques osmiophiles au contact des macromitochondries confirment la synthèse des diglycérides et acides gras qui vont être libérés dans l'hémolymphe. Dans la synthèse des lipides, les petits globules lipidiques osmiophiles apparaissent toujours les premiers. L'élaboration des inclusions lipidiques s'effectue en deux étapes. Cette conception est en accord avec des données récentes selon lesquelles les acides gras des insectes sont transportés sous forme de diglycérides incorporés à des lipoprotéines (WIGGLESWORTH, 1966).

La contiguité simultanée des corps multivésiculaires de nature protéique et des petits globules lipidiques avec les dictyosomes de l'appareil de golgi confirment le mélange des deux constituants dans les vésicules golgiennes en migration vers le milieu extracellulaire.

La libération dans le milieu extracellulaire du contenu des vésicules a rarement été observée chez d'autres Insectes. Chez *Leptinotarsa* (de LOOF et LAGASSE, 1970), *Calliphora* (THOMSEN et THOMSEN, 1974) ainsi que chez *Locusta* (LAUVERJAT, 1977) cette libération s'effectuerait sous forme "non figurée".

Chez *Apis*, le contenu des vésicules golgiennes se modifie au cours de la migration dans le cytoplasme. Il se décondense et prend un aspect finement granuleux avant d'être expulsé sous cette forme, par exocytose, dans l'espace intercellulaire. L'accompagnement des vésicules golgiennes par les fragments de saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes au niveau de la surface de contact laisse penser que le contenu des saccules renferme des corps denses d'accumulation enzymatique.

Conclusion sur l'utilisation des inclusions cytoplasmiques et exocytose

L'étude ultrastructurale des adipocytes périovocytaires nous a permis de mettre en évidence l'utilisation des inclusions cytoplasmiques et de figurer leur exocytose. En effet, les mitochondries qui seraient activées par le réticulum endoplasmique granulaire synthétisent des petits globules lipidiques osmiophiles contenant des diglycérides et acides gras. L'appareil de Golgi étant contigu à ces nouvelles structures et aux granules protéiques, génère des vésicules de nature lipoprotéique qui sont accompagnées de fragments de REG jusqu'à la membrane cytoplasmique. Le contenu des vésicules de sécrétion est déversé dans le milieu extracellulaire par exocytose.

CONCLUSION GENERALE

Le printemps est la meilleure saison pour le développement ovarien des ouvrières. Le nombre maximal d'ovarioles est obtenu chez 20% des ouvrières aux mois de mars et avril. La longueur de l'ovariole atteint $7,09 \pm 1,02$ mm et celle de l'ovocyte basal correspondant est de $1,57 \pm 0,22$ mm. 5% (1/20) des abeilles ayant un poids ovarien maximal seraient les futures pondeuses d'oeufs. Ces ouvrières productrices de la substance royale, inhibent le développement ovarien chez les autres ouvrières.

La phéromone de couvain assure le contrôle du développement ovarien. Ainsi, 5% (1/20) des ouvrières traitées avec cette phéromone à la dose de 1% aboutissent à la fin de la vitellogenèse. La concomitance de la phéromone de couvain et de l'hormone juvénile à $1\mu\text{g}$ inhibe quasiment l'évolution ovarienne chez la totalité des abeilles. Donc, c'est la dose élevée de l'hormone juvénile qui est responsable du blocage de la croissance ovocytaire.

La biométrie n'a pu montrer avec certitude les limites des stades évolutifs de l'ovaire notamment dans les phases critiques de transition. L'ultrastructure du follicule basal nous a permis de mieux comprendre ce processus de développement. En effet, la fin de la prévitellogenèse de l'ovocyte se caractérise par l'apparition, dans l'ooplasmе, de nombreux tubules dont l'extrémité dilatée constitue un lysosome évoluant en corps multivésiculaires.

Dès le début de la deuxième semaine, la vitellogenèse commence chez certaines ouvrières. Elle est marquée par l'apparition des granules vitellins en relation avec les formations tubulaires. Dès l'âge de 10 jours de la vie adulte, 15% des ouvrières atteignent la fin de la vitellogenèse ou stade V. Ce stade se distingue par la synthèse de la membrane vitelline, la régression de la taille des granules vitellins et des noyaux accessoires.

La maturité ovarienne étant un phénomène purement physiologique n'a pu être mise en évidence par la biométrie. Cette maturité, atteinte chez 5% des ouvrières vers la fin de la 3^{ème} semaine de la vie adulte, est définie, au niveau de l'ovocyte basal, par la présence du chorion, la dissolution des granules vitellins, la disparition des noyaux accessoires et la dégénérescence totale des cellules folliculaires.

Le tissu adipeux assure le métabolisme intermédiaire. Il fournit à l'ovaire les précurseurs vitellogénétiques.

Durant la première semaine de la vie adulte, les abeilles sont en prévitellogenèse. Les adipocytes du tissu adipeux transforment leurs réserves en lipides puis en protéines. Les mitochondries incorporent des rosettes de glycogènes, des saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes et des sécrétions nucléaires. Ce complexe lysosomique se transforme en vacuole puis en globule lipidique osmiophile. Ce phénomène figuré par des images ne semble jamais avoir été montré dans le tissu adipeux des autres insectes.

Les globules lipidiques, en contiguïté avec les mitochondries ou le REG, perdent partiellement leur lipide insaturé lequel se transformerait en grains denses situés à la périphérie du globule. Les amas de mitochondries, les saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes, les grains denses et les vésicules nucléaires constituent le lysosome initiateur du futur granule protéique.

Durant la deuxième semaine de la vie adulte, certaines abeilles ouvrières sont en vitellogenèse. Les rosettes de glycogène disparaissent totalement des adipocytes. Les précurseurs exogènes et les sécrétions golgiennes renforcent le processus de synthèse protéique. Ainsi, le matériel synthétisé par le tissu adipeux aurait une origine mixte provenant tant du produit endogène que de précurseurs exogènes. Les globules lipidiques osmiophiles connectés aux organites sont totalement décondensés et transformés en plages claires de lipides non osmiophiles. Ainsi, les lipides insaturés seraient synthétisés en granules protéiques.

Nos observations ultrastructurales de l'adipocyte nous ont permis de définir pour la première fois chez l'abeille *Apis* trois unités cohérentes du processus de synthèse des lipides et des protéines lesquelles n'ont jamais été démontrées auparavant chez les hyménoptères: Mitochondrie-REG ; Mitochondrie-REG-noyau ; Mitochondrie-REG-appareil de golgi.

La synthèse des lipides et des protéines s'effectue en cinq modes dont quatre sont de type endogène. La synthèse des lipides se réalise en deux temps : le premier concerne la production des petits globules lipidiques et le second est lié à la formation définitive du globule.

Les globules lipidiques et les granules protéiques ont 5 origines différentes :

- Lysosome mitochondrial, saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes et vésicules nucléaires;
- Lysosome mitochondrial et saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes;
- Saccules de REG dépourvus de leurs ribosomes et vésicules golgiennes (+ mitochondrie activatrice du REG lors de la synthèse lipidique et initiateur de la synthèse protéique) ;
- Exclusivement de vésicules mitochondriales et golgiennes (+ fragments de REG activateurs des mitochondries) ;
- Lysosome mitochondrial et vésicules de pinocytose.

L'étude ultrastructurale des adipocytes périovocytaires nous a permis de mettre en évidence l'utilisation des inclusions cytoplasmiques et de figurer leur exocytose. En effet, les mitochondries qui seraient activées par le réticulum endoplasmique granulaire synthétisent des petits globules lipidiques osmiophiles contenant des diglycérides et acides gras. L'appareil de Golgi étant contigu à ces nouvelles structures et aux granules protéiques, génère des vésicules de nature lipoprotéique qui sont accompagnées de fragments de REG jusqu'à la membrane cytoplasmique. Le contenu des vésicules de sécrétion est déversé dans le milieu extracellulaire par exocytose.

Vers la fin de la vitellogenèse, les ouvrières orphelines accumulent le maximum de matériel vitellin dans leurs ovocytes basaux. Les adipocytes deviennent très pauvres en globules lipidiques osmiophiles contrairement à ceux non osmiophiles (lipides saturés) qui atteignent leur taille maximale. Les lipides insaturés seraient donc transformés en protéiques par les organites cellulaires.

PERSPECTIVES

- Impact de l'âge de la reine sur l'évolution ovarienne chez les ouvrières car la présence des futures pondueuses est une charge supplémentaire à la colonie.
- Impact de la variation quantitative de la phéromone de couvain sur la récolte du pollen, la pollinisation et la production de la gelée royale.

- Analyse électrophorétique du tissu adipeux, de l'ovaire et de l'hémolymphe pour la mise en évidence de la vitellogénine et de la vitelline au cours du développement ovarien.
- Régulation des métabolismes lipidique et protéique du tissu adipeux par l'hormone juvénile.
- Analyse immunocytochimique du cerveau pour la mise en évidence de l'allatostatine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDERSON, E., 1962 - The ovary of *Periplaneta Americana*. Abstracts of the 2nd Annual Meeting of the Americana society for cell biology, 2 San Francisco.
- ARNOLD, G., LE CONTE, Y., TROUILLER, J., HERVET, H., CHAPPE, B. and MASSON, C., 1994 - Inhibition of worker honey bee ovaries development by a mixture of fatty acid esters from larvae. *C R Acad Sci Paris*, 317, 511-515.
- BEAULATON, J., 1964 - Evolution du chondriome dans la glande prothoracique du ver à soie Tussor *Antheraea pernyi* Guér. au cours du cycle sécrétoire pendant les quatrième et cinquième stades larvaires. *J. Microscopie*, Vol.3 N°2, pp.167-186
- BEENAKKERS, A. M. T. and GILBERT, L. I., 1968 - The fatty acid composition of the fat body and haemolymph lipids in *Hyalophora cecropia* and its relation to lipid release. *J Insect physiol*, 14, 481-494
- BEHAN, J. and HAGEDORN, H.H., 1978 - Ultrastructural changes in the fat body of adulte femal *Aedes aegypti* in relationship to vitellogenin synthesis. *Cell Tissue res.*, 186,499-506.
- Bertrand D., 1977 « La conduite du rucher ». Ed., Payot, Lausanne, la maison rustique, Paris, 304 p
- BISHOP, G. H., 1923 - Cell metabolism in the Insect fat body. II. *Ibid*, 37: 533-553.
- BISHOP, G. H., 1958 - Nuclear and cytoplasmic changes in fat body cells of the queen bee during metamorphosis. National Institutes of Health. Public Health Service, Washington, pp 501-525.
- BREUZET, M., 1990 - Analyse du tissu adipeux et des ovaires au cours des cycles reproducteurs chez *Labidura riparia* (Insecte, Dermaptère); Contrôles endocrines. Thèse de Doctorat d'état ès Sciences naturelles. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 170p.
- BUTLER, C. G. and FAIREY, E. M., 1963 - The role of the queen in preventing oogenesis in worker honey bees. *J Apic Res* 2 (1) 14-18.
- CLEMENTS, A.M., 1959 – Studies on metabolism of Locust fat body. *J. Exp. Biol.* 36, 665- 675.
- COUBLE, P., CHENN, T.T. and WYATT, G.R. 1979 – Juvenile hormone-controlled vitellogenin synthesis in *Locusta migratoria* fat body : cytological development. *J.Insect Physiol.*, 25, 327-337.
- CREWE, R.M., HASTINGS, H., 1976 - Production of pheromones by workers of *Apis mellifera adansonii*. *J. Apic. Res.* 15, 149-154.
- De Meyer E., 1984 « Guide pratique apicole ». Ed., Européennes apicoles, Bruxelles, 224 p.
- DOMBROSKI, T.C.D., SIMÕES, Z.L.P. and BITONDI, M.M.G., 2003 - Dietary dopamine causes ovary activation in queenless *Apis mellifera* workers. *Apidologie* 34, 281-289

- DORTLAND, J.F. and HOGENESH, Th. 1979 – A fine structural survey of development of the adult fat body of *Leptinotarsa decemlineata*. *Cell tissue Res.*, 201, 423-430.
- DREISCHER, H., 1956 - Untersuchungen über die Arbeitstätigkeit und Drüsenentwicklung alter bestimmter Bienen im weisellosen. *Volk. Zool. J. (physiol)* 66, 429-472.
- DUTKOWSKI, A. B. and ZIAJKA, B., 1972 - Synthesis and degradation of glycerides in fat bodies of normal and ovariectomised females of *Galleria mellonella*. *J Insect physiol*, 18, 1351-1367.
- ENGELMANN, F., 1979 - Insect vitellogenin : Identification, biosynthesis and role in vitellogenesis. *Adv. Insect Physiol.*, 14, 49-108.
- ENGELS, W., 1968 - Extraocytoöcytäre Komponenten des Eiwachstums bei *Apis mellifera*: 1. Trophocytäre RNS-Zufuhr. *Insectes soc.* 15; 271-288.
- ENGELS, W., 1973 - Das Zeitliche und räumliche Muster der Dottereinlagerung in die Oocyte von *Apis mellifera*. *Z. Zellforsch* 142: 409-430.
- ENGELS, W., KAATZ, H., ZILLIKENS, A., SIMÕES, P.Z.L., TRUBE, A., BRAUN, R. and DITTRICH, F., 1990 - Honey bee reproduction: Vitellogenin and caste-specific regulation of fertility. *Advances in invertebrate Reproduction* 5. Elsevier, Amsterdam, 495-502.
- FAVARD-SERENO, C., 1969- Capture de polysaccharides par micropinocytose dans l'ovocyte du Grillon en vitellogenèse. *J. Microscopie* 8, 401-414.
- FAVARD-SERENO, C., 1973 - Terminal differentiation of the adipose tissue in relation to vitellogenesis in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Mol. Biol. Rep.*, 1, 179-186.
- FLEIG, R., 1995 - Role of the follicle cells for yolk uptake in ovarian follicles of the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Int. J. Insect Morphol. and Embryol.* Vol.24 (3) 427-433.
- FLEIG, R., GUTZEIT, H.O. and ENGELS, W., 1991 - Structural organisation of ovarian follicle cells in the cotton bug, *Dysdercus intermedus* and the honeybee *Apis mellifera*. *Cell Tissue Res.* 265: 297-305 pp.
- FLURI, P., SABATINI, A.G., VECCHI, M.A. and WILLE, H., 1981 - Blood juvenile hormone, protein and vitellogenin titers in laying and nonlaying queen honey bees. *J. of apic. resea.* 20 (4), pp. 221-225.
- FLURI, P., WILLE, H., GERIG, L. and LUSCHER, M., 1977 - Juvenile hormone, vitellogenin and haemocyte composition in winter worker honey bees *Apis mellifera*. *Experientia* 32 (9), pp.1240-1241.
- FLURI, P., LUSCHER, M., WILLE, H., GERIG, L. and FLURI, P., 1982 - Changes in weight of the pharyngeal gland and hemolymph titers of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honey bees. *J. Insect physiol.* 28, pp. 61-68.
- Gatineaux M., 1984 - « Essaims, une année prolifique » *Rev. Franc. Apic.*, (433) 373-374.
- Gelin J., 1984 - « Elevage de jeunes reines ». *Rev. Franc. Apic.*, (435) 500-5001.
- GILBERT, L.I., 1967 - Lipid metabolism and function in Insects. *Adv. Insect Physiol.*, 4, 69-211.

- GOLTZENE, F. LAGUEUX, M., CHARLET, M. and HOFFMANN, J.A., 1978 - The follicle cell epithelium of maturing ovaries of *Locusta migratoria*: a new biosynthetic tissue for ecdysone. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 359: 1427-1437.
- GUTZEIT, H.O., ZISSLER, D. and FLEIG, R., 1993 - Oogenesis in the honeybee *Apis mellifera* cytological observations on the formation and differentiation of previtellogenic ovarian follicles. *Roux's Archive Dev. Biol.* 202: 181-191 pp.
- Haccour P., 1984 - « La sultane du désert ». *Rev. Franc. Apic.*, (426) 36-39.
- HESS, G., 1942 - #ber den Einfluss der weisellosigkeit und des Fruchtbarkeits vitamins E auf die ovarien der Bienenarbeierin. *Scweiz Bienen Zeitung* 2: 33-110.
- HILL, L., 1965 – The incorporation of ^{14}C glycine into the proteins of the fat body of the desert locust during ovarian development. *J. Insect Physiol.*, 11, 1605-1615.
- HUANG, Z.Y., OTIS, G.W. and TEAL, P.E.A., 1989 - Nature of brood signal activating the protein synthesis of hypopharyngeal gland in honey bees, *Apis mellifera* (Apidae; Hymenoptera). *Apidologie* 20, pp. 455-454.
- 39- IMBODEN, H., KÖNIG, R., OTT, P., LUSTIG, A., KÄMPFER, U. and LANZREIN, B., 1987 - Characterization of the native vitellogenin and vitellin of the cockroach, *Nauphoeta cinerea*, and comparison with other species. *Insect Biochem.*, 17 (2), 353-365.
- JAY, S.C., 1970 - The effect of various combinations of immature queen and worker Honey bees in colonies with and without queens. *Can. J. Zool.* 48, pp. 169-173.
- JAY, S.C., 1972 - Ovary development of worker honey bees when separated from worker brood by various methods. *Can. J. Zool.* 50, pp. 661-664.
- JAY, S. C. and NELSON, E. V., 1973 - The effects of laying worker honeybees *Apis mellifera* and their brood on the ovary development of other worker honeybees. *Can. J. Zool.* 51, pp. 629-632.
- Jeanne F., 1985 « Quelques considérations sur l'élevage de reines ». *Rev. Abeilles et fleurs* (348) 6-8.
- JeanProst P., 1979 « Apiculture ». Ed., Baillière, Paris, 497p.
- JEANTET, A.Y., 1981- Principaux aspects de l'accumulation de composés minéraux et de réserves organiques par un insecte social, *Formica polyctena* F. Implications physiologiques et écotoxicologiques. Thèse de Doctorat d'état ès Sciences Naturelles. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 140 p.
- JOHAN BILLEN, J., 1985 - Ultrastructure of the worker ovarioles in *formica ants* (Hymenoptera, Formicidae). *Int J Insect Morphol And Embryol* 14 (1) 21-32.
- JOSEPH-TORRES, J., 1980 - Astereological Analysis of Development Eggs Chambers in the Honey bee Queen, *Apis mellifera*. *Cell. Tissue Res.* 208, 29-33.
- KASTURIBAI, A. R. and CHANDRASHEKAR, REDDY C., 1975 - Ovary development and egg laying in *Apis cerana indica* workers. *J. Apic. Res.* 14 (3/4), pp. 149-152.
- Koudjil M., 1990 « Etude de la race locale d'abeilles, *Apis mellifera intermissa* et essai d'élevage de reines dans la région de Chlef ». Thèse magister, Inst. Nat. Agr. El-harrach, Alger, 140 p.

-
- KUNKEL, J.G. and PAN, M.L., 1976 - Insect vitellogenins: comparative properties and specific uptake. *A. Zool.*, 10, p 513.
- LABOUR, G., 1974 - Etude ultrastructurale de l'évolution du tissu adipeux au cours du développement larvaire et nymphal chez le Doryphore. *Ann. Soc. Entomol. Fr.*, 10, 943-958.
- LAUVERJAT, S., 1977 - L'évolution post-imaginale du tissu adipeux femelle de *Locusta migratoria* et son contrôle neuroendocrine. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 33, 13-34.
- Le CONTE, Y., MOHAMMEDI, A. and ROBINSON, G.E., 2001 - Primer effects of a brood pheromone on honey bee behavioural development. *Proc. R. Soc. Land B* 268, pp. 163-168.
- LE CONTE, Y., ARNOLD, G., TROUILLER, J., MASSON, C., CHAPPE, B. and OURISSON, G., 1989 – Attraction of the parasitic mite Varroa to the drone larvae of honeybees by simple aliphatic esters. *Science (Am Associ For the Advancement of science)* 245, 638-639.
- LOCKE, M. and COLLINS, J.V., 1965 - The structure and formation of protein granules in the fat body of an Insect. *The journal of cell Biology*, 26, 857-884.
- LOCKE, M. and SYKES, A.K., 1975 - The role of the Golgi complex in the isolation and digestion of organelles. *Tissue and Cell*, 7, 143-158.
- LOOF (de), A. and LAGASSE, A., 1970 - Juvenile hormone and the ultrastructural properties of the fat body of the colorado Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, Say., *Z. Zellforsch.*, 106, 439-450.
- Louveaux J., 1985 « Les abeilles et leur élevage ». Ed., OPIDA, Echauffour, 265 p.
- MARGARITIS, L.H., 1985 - Structure and physiology of the eggshell, in: Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Vol 1 Embryogenesis and reproduction. (KERKUT, G.A. and GILBERT, L. J., Eds) pp. 154-230 EXFORD.
- MARTIN, S., WOSSLER, T., and KRYGER, P., 2002 - Usurpation of African *Apis mellifera scutellata* colonies by parasitic *Apis mellifera capensis* workers. *Apidologie* 33, 215- 232.
- MARTOJA, R., 1976 - Le corps gras ou tissu adipeux des Insectes. Cours. Université Pierre et Marie Curie. Paris VI, pp. 403-432.
- MARTOJA, R. et MARTOJA M., 1967 - Initiation aux techniques d'histologie animale. Ed. Masson, Paris, 346 p.
- MATSUZAKI, M., and ANDO, H., 1977 - Ovarian structures of the adult alderfly, *Sialis mitsuhashii* Okamoto (Megaloptera : Sialidae). [Int. J. Insect. Morphol. and Embryol.](#) 6 (1) 17-29.
- MOHAMMEDI, A., CRAUSER, D., PARIS, A and LE CONTE Y., 1996 - Effect of a brood pheromone on honey bee hypopharyngeal glands. *C. R. Acad . Sci.* 319, pp. 769-772.
- MOHAMMEDI, A., PARIS, A., CRAUSER, D. and LE CONTEY., 1998 - Effects of aliphatic esters on Ovary development of queenless bees, (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* 85, 455-458.
-

- MORITZ, A. SIMON U.F. and CREWE, R.M., 2000 - Pheromonal contest between honeybee workers. *Naturwissenschaften* 87, 395-397.
- MORITZ, R.F.A., MICHAEL, H., LOTTORFF, G., and CREWE, R.M., 2004 -Honeybee workers (*Apis mellifera capensis*) compete for producing queen-like pheromone signals. *Proc. R. Soc. Lond. B.* (suppl) 271, pp. 98-100.
- PANKIW, T., WINSTON, M.L. and ROBINSON, G.E., 1998 - Queen mandibular gland pheromone influences worker honey bee (*Apis mellifera* L.) foraging ontogeny and juvenile hormone titers. *J. Insect.physiol.* 44, pp. 685-692.
- PAULCKE, W., 1901 - Ueber die Differenzierung der Zellelemente im ovarim die Bienenkönigin (*Apis mellifica*). *Zool. Jahrb Anat. Otol.* 14: 177-202.
- PINTO, L.Z., BITONDI, M.M.G. and SIMÕES, Z.L.P., 2000 - Inhibition of vitellogenin synthesis in *Apis mellifera* workers by a juvenile hormone analogue, Pyriproxyfen. *Journal of Insect physiology.* 46, pp.153-160.
- RACCAUD-SCHÖLLER, J., 1980 - Les insectes, physiologie, développement. Ed. Masson pp, 195-207. Paris.
- RAIKHEL, A. S. and LEA, A. O., 1983 - Previtellogenic development and vitellogenin synthesis in the fat body; selective degradation of Golgi complex and secretory cells. *Tissue and Cell* 15, 281-300.
- RAMAMURTY, P.S., 1977 - Unusual intertrophocytic position of follicle cells in the nurse chamber of the honeybee queen ovary *Apis mellifica*. *Apidologie*, 8(2), pp. 205-216.
- RAMAMURTY, P.S. and ENGELS, W., 1977 - Occurrence of intercellular bridges between follicle epithelial cells in the ovary of *Apis mellifica* queens. *J. cell. Sci.* 24, pp.195-202.
- REYNOLDS, E.S., 1963 – The use of lead citrate of high pH an an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17, 208 - 211.
- ROBINSON, G.E., 1987 - Regulation of honey bee age polyethysm by juvenile hormone. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 20, pp. 329-338.
- ROBINSON, G.E., WINSTON, M.L., HUANG, Z. and PANKIW, T., 1998 - Queen mandibular pheromone influences worker honey bee (*Apis mellifera* L.) foraging ontogeny and juvenile hormone titers. *J. Insect Physiol.* 4 (7-8), pp. 685-692.
- Ruttner F., 1980 « L'abeille du Tell et son utilisation dans l'apiculture moderne ». *Cah. Rech. Spec. Apic., CURER/ONRS, Constantine*, n° E11, 33-37.
- RUTTNER, F., KOENINGER, N. and VEITH, H. J., 1976 - Queen substance bei eierlegenden Arbeiterinnen der Honigbienene (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* 63, p. 434.
- RUTZ, W., GERIG, L., WILLE, H. and LUSCHER, M., 1976 - The function of juvenile hormone in adult worker honey bees *Apis mellifera*. *J. insect physiol.* 22, pp. 1485-1491.
- SAKAGAMI, S. F., 1959 - Arbeits teilung in einen weisellosen bienen volkchen. *Z.Bienenforsch.* 4, pp. 186-193.
- SAKAGAMI, S. F. and AKAHIRA, Y., 1958 - Comparison of ovarian size and number of ovarioles between the workers of japanese and European honey bees studies on the japanese honeybee, *Apis indica cerana* Fabr. *Kontyû* 26: 103-109.

- SAROJINI, S. and CHAKKO, T. V., 1975a - Incorporation of acetate-1- ^{14}C into lipids of the ovaries and the fat body of the cockroach, *Periplaneta americana* (Linn.) during oocyte development. *Indian J. Exp. Biol.* 13, 306-307.
- SAROJINI, S. and CHAKKO, T.V., 1975b - Variations in the lipid content of the fat body in the viviparous cockroach *Nauphoeta cinerea* (Olivier) with reference to the ovarian cycle. *Indian J. Exp. Biol.*, 13, 308-309.
- SAYAH, F. BLAIS, C., BREUZET, M. and KARLINSKY, A. 1991 - Ecdysteroids during the gonadotrophic cycle of the *Labidura riparia* female (Dermaptera). *Invertebrate Reproduction and Development* 19: 3, 185-192.
- SHIGEMATSU, H., 1958 - Synthesis of blood protein by the fat body of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Nature*, 183, 880-882.
- SIMON, U.E., MORITZ, R.F.A. and CREWE, R.M., 2001 - The ontogenetic pattern of mandibular gland components in queenless worker bees (*Apis mellifera capensis* Esch.). *J. Insect Physiol.*, 47, pp. 735-738.
- SIMON, U.E., MORITZ, R.F.A. and CREWE, R.M., 2005 - Reproductive dominance among honeybee workers in experimental groups of *Apis mellifera capensis*. *Apidologie* 36, 413-419.
- STAY, B. and CLARK, J.K. 1971- Fluctuation of protein granules in the fat body of the viviparous cockroach, *Diploptera punctata*, during the reproductive cycle. *J. Insect Physiol.*, 17, 1747-1762.
- SUBRAMONIAN, T., 1973 - Incorporation of ^{14}C leucine into the fat body of the cockroach, *Periplaneta americana* during oocyte development. *J. Insect Physiol.* 19, 2209-2213.
- SUN, Q.Y. and SCHATTEEN, H., 2006 - Regulation of dynamic events by microfilaments during oocyte maturation and fertilization. *Reproduction* 131, 193-205.
- TADKOWSKI, T.M. and JONES, J.C., 1979 - Changes in the fat body and oocytes during starvation and vitellogenesis in mosquito *Aedes aegypti* (L.). *J. Morphol.*, 159, 185-204.
- TARPY, D.R., and GILLEY, D.C., 2004 - Group decision making during queen production in colonies of highly eusocial bees. *Apidologie* 35, 207-216.
- TELFER, W.H., 1975 - Development and physiology of the oocyte-nurse cell syncytium. *Adv. Insect Physiol.* 11, 223-319.
- TELFER, W.H. and WILLIAMS, C.M., 1953 - Immunological studies of Insect metamorphosis. I. Qualitative and quantitative description of the blood antigens of the *Cecropia* silkworm. *J. Gen. Physiol.*, 36, 389-413.
- THOMPSON, S.N., 1973 - A review and comparative characterization of the fatty acid composition of seven Insect orders. *Comp. Biochem. Physiol.*, 45B, 467-482.
- THOMSEN, E. and THOMSEN, M., 1974 - Fine structure of the fat body of female *Calliphora erythrocephala* during the first egg-maturation cycle. *Cell Tiss. Res.*, 152, 193-217.
- TROUILLER, J., ARNOLD, G., LE CONTE, Y. and MASSON C., 1991 - Temporal pheromonal and kairomonal secretion in the brood of honeybees. *Naturwissenschaften* 78, 368-370.

- VELTHUIS, H.H.W., 1970a - Ovarian development in *Apis mellifera* worker bees. *Entomol. Exp. Appl.* 13: 377-394.
- VELTHUIS, H.H.W., 1970b - Queen substances from the abdomen of the honeybee queen. *Z. vergl. Physiol.* 70, pp. 210-222.
- VELTHUIS, H.H.W., 1987 - Caste differentiation and egg laying in the highly social bees. Ed, Rembold, *chemistry and biol. of soci. insects*, München, pp. 263-264
- VELTHUIS, H.H.W., VERHEIJEN, F.J. and GOTTENBOS, A. J., 1965 - Laying worker honeybee similarities to the queen. *Nature*, 207 (5003), pp.1314.
- VELTHUIS, H.H.W., CLEMENT, L.J., MORSE, R.A. and LAIGO, F.M., 1971 – The ovaries of *Apis dorsata* from the Philippines. *J. apic. res.* 10 (2), pp. 63-66.
- VERHEIJEN-VOOGD, C., 1959 - How worker bees perceive the presence of their queen. *Vergl. Physiol.* 41: 527-582.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1966 - "Catalysomes", or enzymes cap on lipid droplets: anintracellular organelles. *Nature*, 210, p.759.
- WUEST, J., 1978 - Histological and cytological studies on the fat body of the cockroach, *Nauphoeta cinerea* during the first reproductive cycle. *Cell. Tiss. Res.*, 188, 481-490.
- WYSS-HUBER, M. and LUSCHER, M., 1972 - *In vitro* synthesis and release of proteins by fat body and ovarian tissue of *Leucophaera maderae* during the sexual cycle. *J. Insect Physiol.*, 18, 689-710.
- #ELAZOWSKA, M. and BILISKI, S.M., 2001 - Ultrastructure and function of nurse cells in *phthirapterans*. Possible function of ramified nurse cell nuclei in the cytoplasm transfer. [*Arthropod Struc Develop*](#) _ [30 \(2\)](#)) 135-143.
- ZHU, X.X., GFELLER, H. and LANZREIN, B., 1983 - Ecdysteroids oogenesis in the ovoviviparous cockroach, *Nauphoeta cinerea*. *J. Insect. Physiol.*, 29: 225-235.

Annexes

PLANCHE I STRUCTURE HISTOLOGIQUE DE L'OVAIRE

Evolution des ovogonies et des cellules préfolliculaires dans le germarium

Fig.1 - Coupe longitudinale d'un ovariole. Noter dans le germarium, la présence d'ovogonies, de cystoblastes (cyb) et des cellules préfolliculaires (cpf) (x 400). Ov : ovocyte.

Fig.2 - Coupe longitudinale d'un ovariole. Noter l'alignement des ovocytes (ov) accompagnés de leurs trophocytes (t) (x 400). Cpf : cellules préfolliculaires.

Fig.3 - Coupe longitudinale d'un ovariole. Remarquer l'alignement des trophocytes (t) au dessus de l'ovocyte (ov) (x 400). Ft : filament terminal.

Follicules en prévitellogenèse dans le vitellarium

Fig.4 - Coupe longitudinale d'un ovariole. Le premier follicule constitue le premier stade évolutif de l'ovaire ; l'ovocyte (ov) et sa grappe de trophocytes (t) sont enveloppés par l'épithélium folliculaire (cf) (x 400).

Fig.5 - Coupe longitudinale d'un ovariole au premier stade de développement. Follicule basal constitué de l'ovocyte (ov) des cellules folliculaires (cf) et des trophocytes (t). Noter la succession des follicules en chapelet (x 400) vg: vésicule germinative.

Fig.6 - Follicule basal au deuxième stade de développement. Noter l'étranglement (flèches) entre l'ovocyte et sa grappe de trophocytes (x 400) cf : cellule folliculaire ; nt : noyau trophocytaire ; ov : ovocyte ; t : trophocyte ; vg : vésicule germinative.

Fig.7 - Follicule en prévitellogenèse. Noter la présence de nombreux noyaux accessoires (na) dans le cortex ovocytaire (x 400) cf : cellule folliculaire ; nt : noyau trophocytaire ; ov : ovocyte ; t : trophocyte.

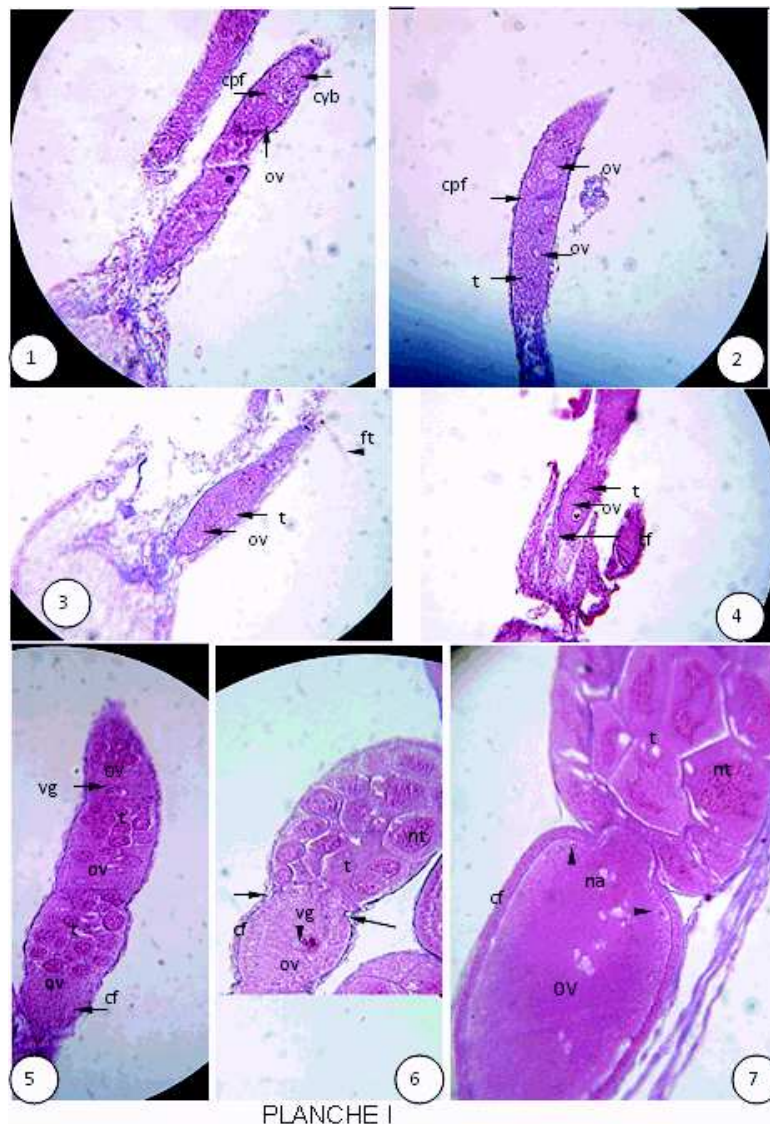


PLANCHE II STRUCTURE HISTOLOGIQUE DE L'OVAIRE

Follicules en prévitellogénèse dans le vitellarium

Fig.1- Coupe transversale d'un follicule. Noter l'importance de la profondeur des cellules folliculaires (cf) périovocytaires (ov) (x 1000) gd : granule dense ; gp : gaine péritoniale ; va : vacuole.

Fig.2 - Coupe transversale au niveau de la grappe de trophocytes. Noter la grande taille des trophocytes (t) et l'échancrure de leurs noyaux (nt) (x 1000) cf : cellule folliculaire.

Fig.3 - Coupe longitudinale d'un follicule. Noter l'abondance des granules denses (gd) dans l'ooplasm (x 1000) cf : cellule folliculaire ; gp : gaine périonocytique ; ov : ovocyte ; t : trophocyte ; va : vacuole ; vg : vésicule germinative.

Fig.4 - Follicule en fin de la prévitellogenèse. Noter les noyaux des cellules folliculaires (ncf) périovocytaires (x 800) cf : cellule folliculaire.

Fig.5 Coupe longitudinale d'un follicule en fin de la prévitellogenèse ou stade 3. Noter la diminution de la profondeur des cellules folliculaires (cf) et la présence des structures vacuolaires (va) dans l'ooplasm (x 400) ov : ovocyte.

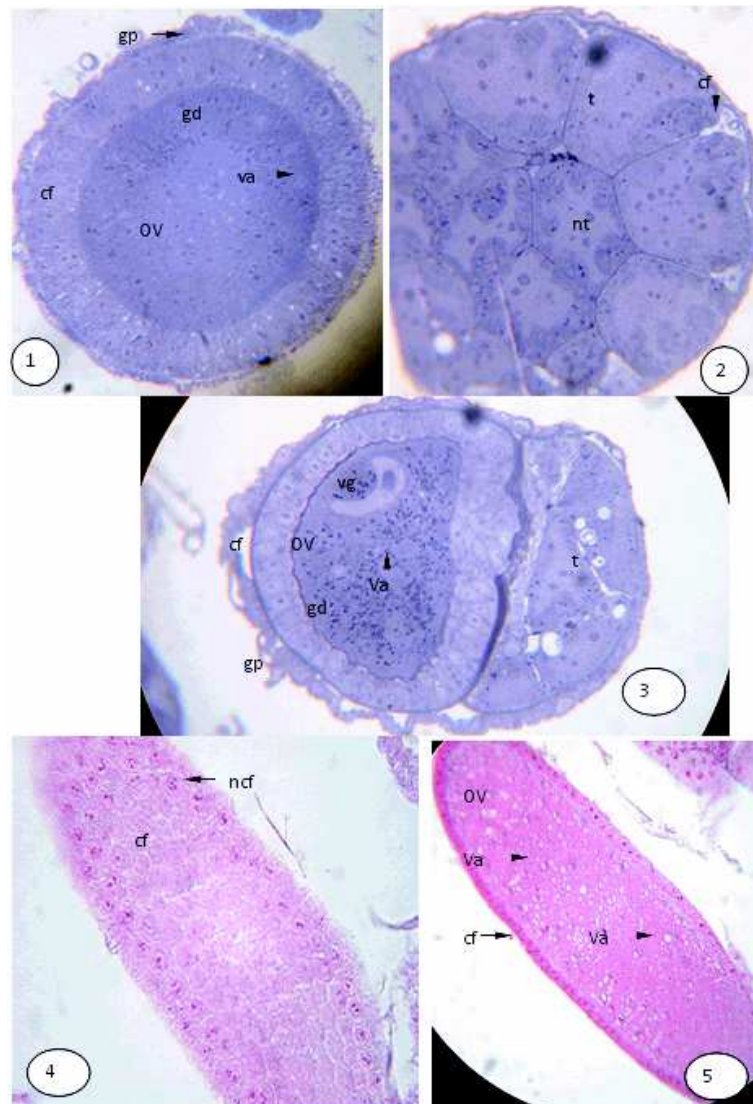


PLANCHE II

PLANCHE III STRUCTURE HISTOLOGIQUE DE L'OVAIRE

Follicules en vitellogenèse dans le vitellarium

Fig.1 - Coupe longitudinale d'un follicule en début de la vitellogenèse. Noter la présence des granules vitellins (gv) (x 400) cf : cellule folliculaire ; ov : ovocyte.

Fig.2 - Coupe transversale d'un follicule en début de la vitellogenèse. Noter les premiers granules vitellins (gv) élaborés dans le cortex ovocytaire. Noter l'importance de l'espace intercellulaire (eic) entre l'ovocyte (ov) et l'assise de cellules folliculaires (cf) périovocytaires (x 1000).

Fig.3 - Coupe longitudinale d'un follicule en fin de la vitellogenèse. Noter la saturation de l'ooplasmе en granules vitellins (gv) et leur hétérogénéité (x 400) cf : cellule folliculaire.

Fig.4 - Follicule en fin de la vitellogenèse. Noter la présence de la membrane vitelline (mv). (x 400) cf : Cellule folliculaire ; gv : granule vitellin.

Fig.5 - Follicule en fin de la vitellogenèse. Noter le début de la dégénérescence des trophocytes (t) (x 400) cf : cellule folliculaire ; gp : gaine péritoniale ; gv : granule vitellin.

Fig.6 - Ovocyte en phase de la maturation. Le vitellus (v) est représenté par une structure granuleuse très fine. Noter la dégénérescence totale des cellules folliculaires (cf) et leur séparation de l'ovocyte (x 1000) ch : chorion ; Tr : trachiole

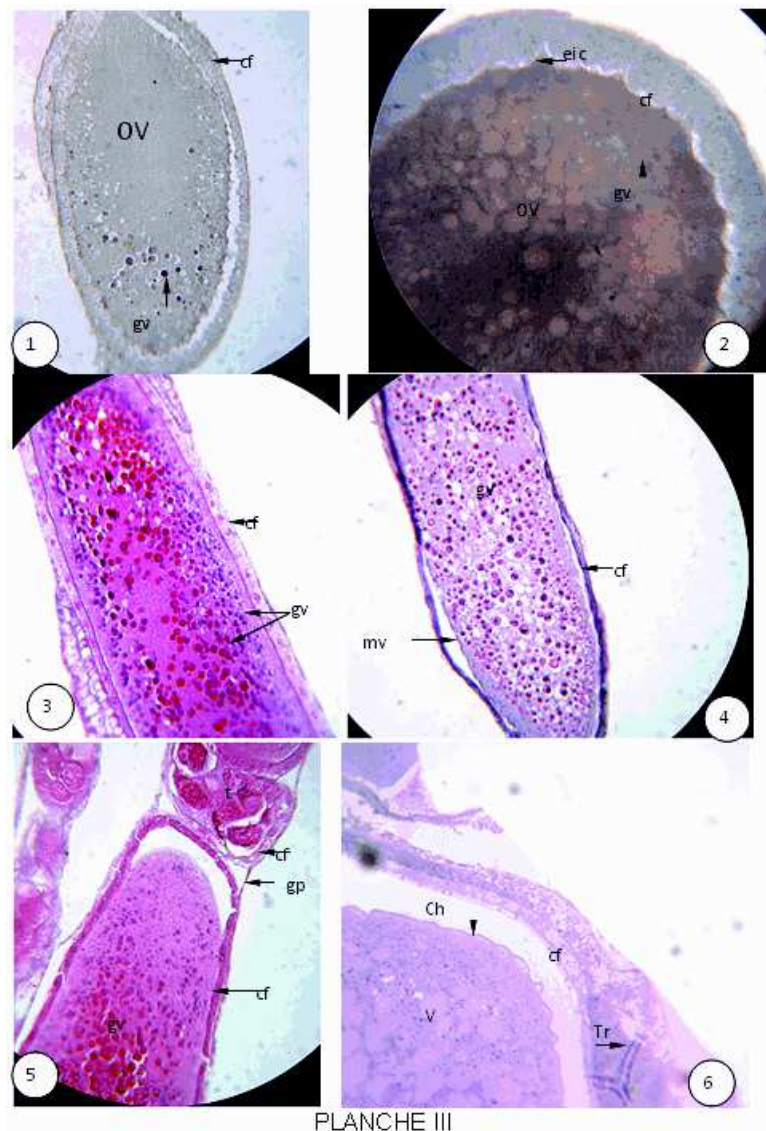


PLANCHE III

PLANCHE IV CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS

Début prévitellogénèse

Fig.1 - Aspect général d'un follicule en coupe sagittale à la limite de la partie antérieure du vitellarium.

Le pôle apical ovocytaire est enveloppée de cellules folliculaires (CF). Ces cellules périovocytaires sont limitées extérieurement par la lame basale (Lb). Dans l'ovocyte, les globules lipidiques (GL) et les granules protéiques (GP) sont très nombreux (x 6000).

Fig.2 - Aspect d'une zone au centre de l'ovocyte montrant des plages de granules cernées par le réticulum endoplasmique granulaire.

Dans le cytoplasme apparaissent quelques cylindres parfois dilatés du réticulum endoplasmique granulaires (cdREG) qui cernent des pages de granules denses et des granules protéiques (GP). CA : corps annulaire ; c REG : cylindre du réticulum endoplasmique granulaire ; GLO: globule lipidique osmiophile ; GLSO: globule lipidique semi-osmiophile ; (x 30 000).

Fig.3 - Détail d'une zone corticale ovocytaire montrant la contiguité du réticulum endoplasmique granulaire avec les inclusions paraplasmiques.

Le cylindre dilaté du réticulum endoplasmique granulaire (cdREG) élabore, par décondensation des granules protéiques (GP) et des globules lipidiques osmiophiles (GLO) de nombreuses microvésicules formant ainsi un corps multivésiculaire (CMV). Les granules protéiques ainsi décondensés montrent l'invagination de leur membrane (mGP) et leur résidu dense (rdGP). Ly: lysosome (x 30 000).

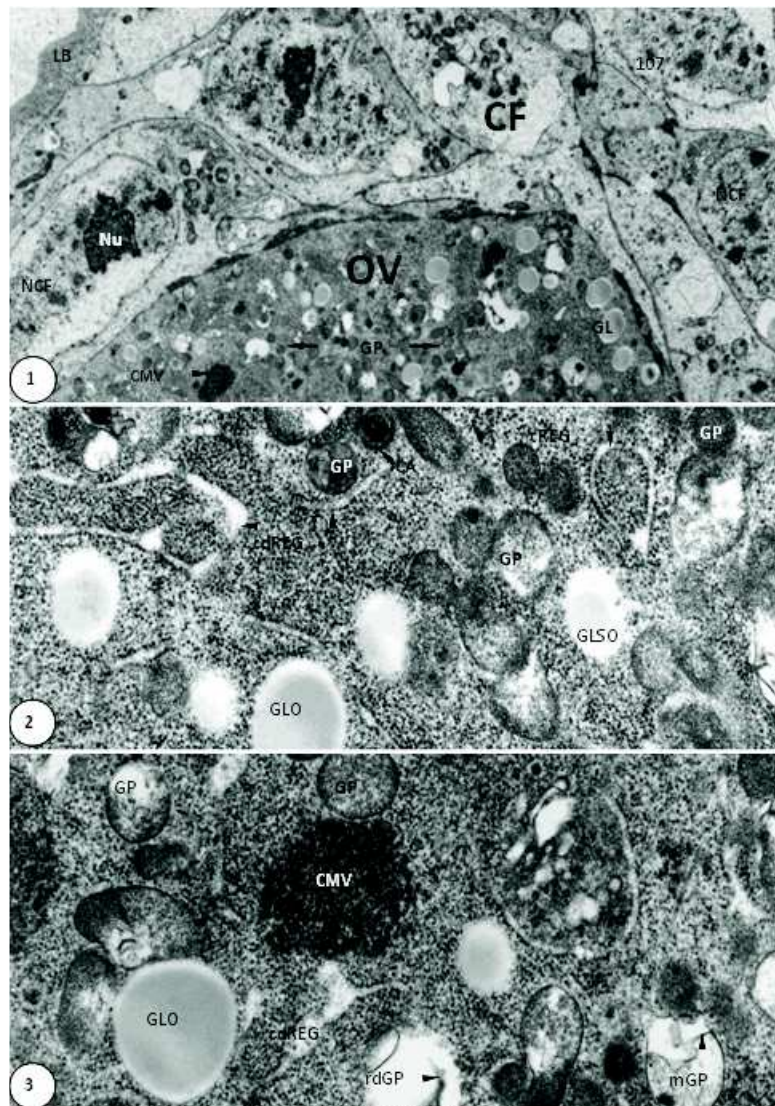


PLANCHE IV

PLANCHE V CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS

Fin prévitellogénèse

Fig.1 - Aspect général d'un follicule montrant une zone du cortex de l'ovocyte entouré de cellules folliculaires.

Les cellules folliculaires (CF) périovocytaires sont couvertes par une lame basale (Lb) et un endothélium (End). Leur pôle apical est riche en mitochondries. Dans le cortex de l'ovocyte (OV) apparaissent de nombreux noyaux accessoires (NA). NCF : Noyau de la cellule folliculaire ; Nu : Nucléole (x 6000).

Fig.2 - Détail du cortex de l'ovocyte (OV) et du pôle apical des cellules folliculaires (CF) périovocytaires.

Dans la partie apicale des cellules folliculaires, le réticulum endoplasmique granulaire (fREG) est fragmenté et rare. Dans l'ooplasme apparaissent un important réseau de tubules (Tu) et de nombreux lysosomes (Ly). Des microvillosité ovocytaires (MO) se développent dans l'espace intercellulaire entre les cellules folliculaires et l'ovocyte (x 20 000) VP: vésicule de pinocytose.

Fig.3 - Détail des tubules dans une zone ovocyttaire (x 30 000).

Les tubules (Tu) sont composés par de nombreux microtubules. Certains tubules sont contigus par l'une de leur extrémité au corps multivésiculaire (CMV) ou au lysosome (Ly) (x 30 000). GLO: globule lipidique osmiophile.

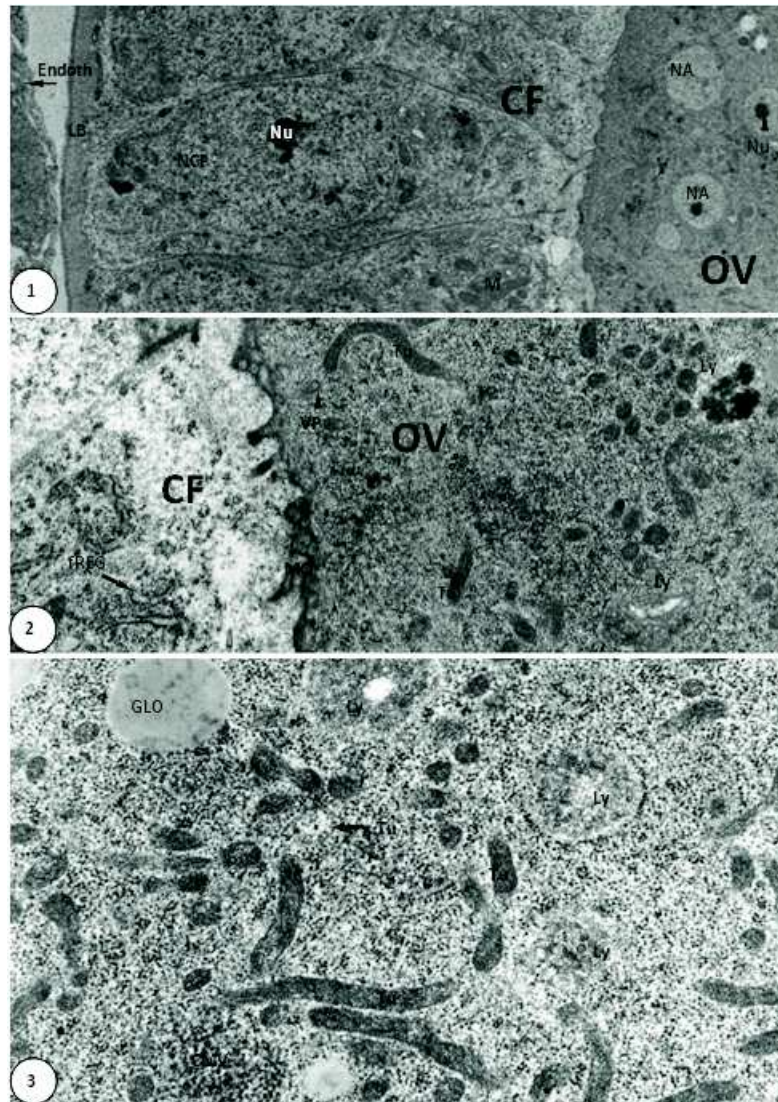


PLANCHE V

PLANCHE VI CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS

Début vitellogenèse

Fig.1 - Processus de la pinocytose et de la formation des granules vitellins dans le cortex ovocytaire.

- Le processus de pinocytose s'effectue de la façon suivante :
 - dépôt d'un matériel dense sur la face externe de la membrane plasmique de l'ovocyte (1) ;
 - formation d'un puits recouvert de matériel dense (2) ;

-
- formation de deux types de vésicules de pinocytose (VP) l'une d'aspect dense (3), l'autre d'aspect clair (4) ;
 - Le processus de formation des granules vitellins s'effectue de la façon suivante :
 - Près de la membrane plasmique, dans le cortex ovocytaire, les vésicules de pinocytose (VP) se rassemblent, se condensent et forment des jeunes granules vitellins (jGV) ayant l'aspect d'un corps multivésiculaire ;
 - Les granules vitellins en formation sont entourés de tubules (Tu) donnant l'aspect de croissant ;
 - les premiers granules vitellins (GV) ont une texture perforée.

L'espace intercellulaire (eic) entre les cellules folliculaires (CF) et l'ovocyte (OV) est important. La microvillosité ovocytaire (MVO) est développée (x 20 000).

Fig.2 - Pôle apical des cellules folliculaires périovocytaires.

Le noyau des cellules folliculaires (NCF) est bien développé. Les nucléoles sont nombreux (Nu). Dans le pôle apical des cellules folliculaires, les lysosomes (Ly) et les mitochondries (M) sont nombreux. Le réticulum endoplasmique granulaire fragmenté (fREG) est peu développé. Les cellules folliculaires sont liées entre elles par des ponts intercellulaires (pic). GLy : glycogène ; eic : espace intercellulaire ; OV : ovocyte (x 14 000).

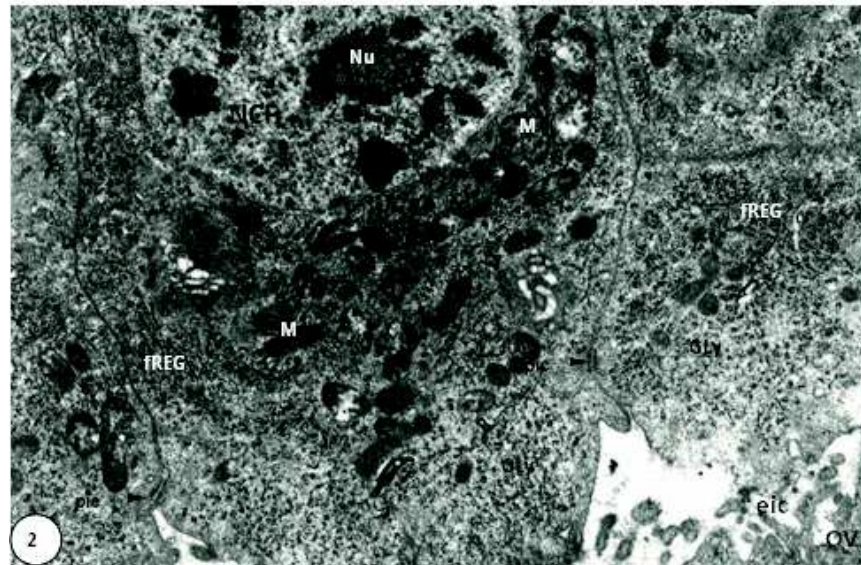
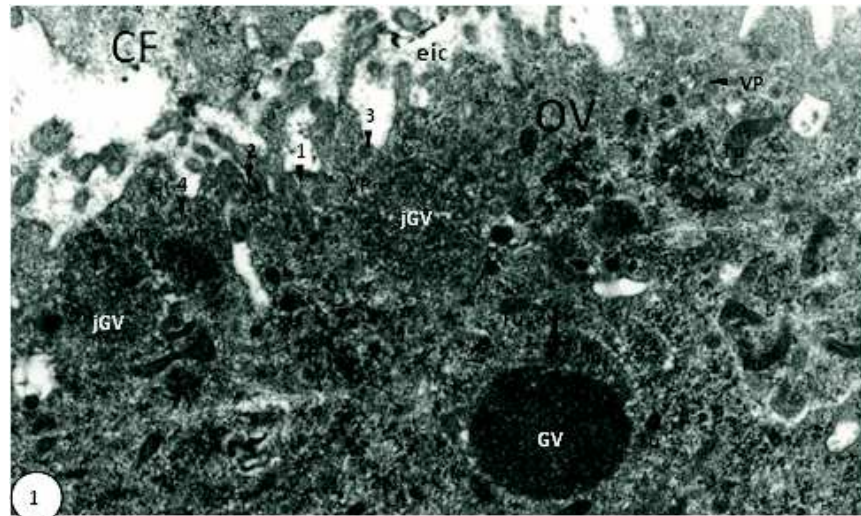


PLANCHE VI

PLANCHE VII CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS

Fin vitellogenèse

Fig. 1 - Aspect des granules vitellins mûrs et ceux en cours de formation.

Le granule vitellin (GV) mûr est constitué d'un matériel granuleux ultrafin.

Certaines fractions de globules lipidiques semi osmiophiles (GLSO) et des corps vésiculaires denses sont en fusion avec le granule vitellin en cours de formation (x 14000).

Fig.2 - Granules vitellins et noyau accessoire en régression de taille.

Dans des plages claires de nombreuses vésicules lysosomiques (VL) sont contiguës aux granules vitellins (GV) ; il s'en détache un matériel granuleux très fins.

Le noyau accessoire (NA) pourvu d'un nucléole (Nu) dense est aussi envahi par des vésicules lysosomiques. Les gouttelettes lipidiques sont totalement non osmiophiles (GLNO) (x 14 000).

Fig.3 - Cellules folliculaires en phase de production des vésicules de sécrétion.

Dans des zones cytoplasmiques périnucléaires des cellules folliculaires, des groupes de mitochondries en fusion (M), en contiguïté avec les extrémités des travées parallèles de cylindres du réticulum endoplasmique granulaire (REG), se transforment en vacuoles mitochondriales autophagiques (Ly). Leur contenu peut être des granules denses très fins ou un granule dense (gd) sont souvent de grande taille. Les vésicules de sécrétion (VS) d'aspect clair mais contenant un grain dense sont accompagnées jusqu'à la membrane cytoplasmique par un petit fragment de REG (x 14 000). NCF : noyau de la cellule folliculaire ; Nu : nucléole ; LB : lame basale.

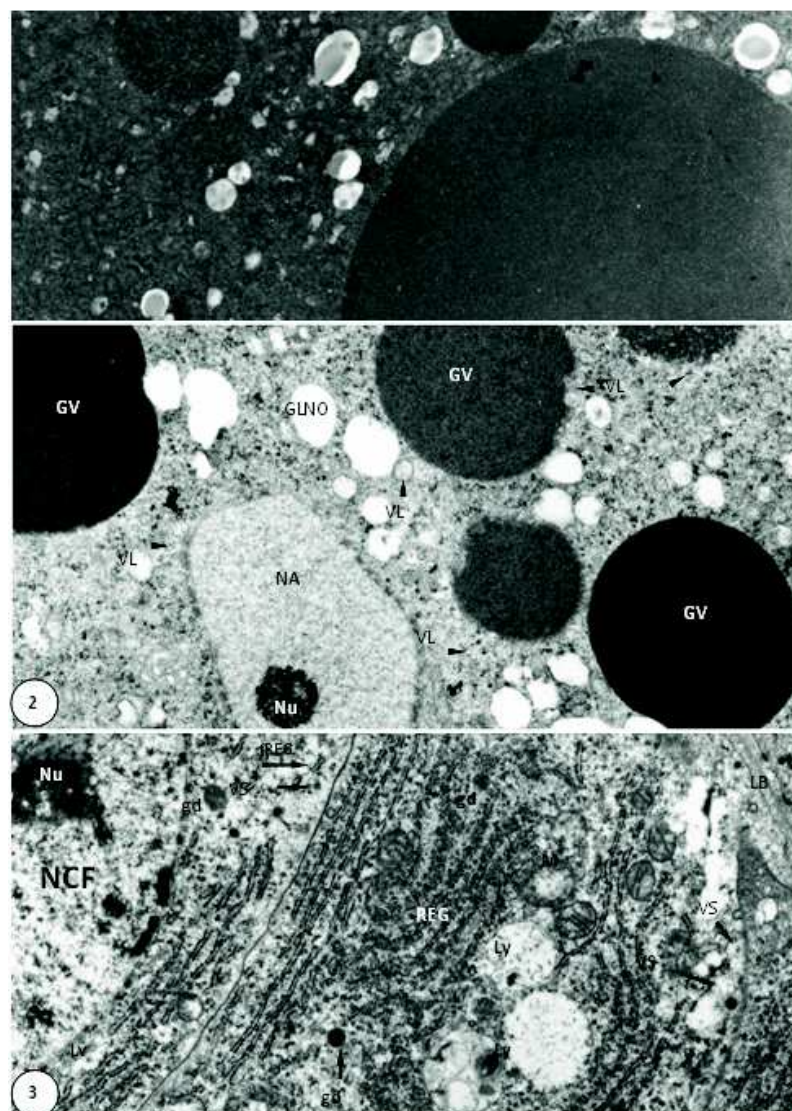


PLANCHE VII

PLANCHE VIII CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS

Fin vitellogenèse

Fig.1 - Mitochondries en lyse et lysosomes dans une zone périnucléaire d'une cellule folliculaire.

Dans une zone cytoplasmique périnucléaire, de nombreuses mitochondries sont en lyse (M). Celles contiguës aux cylindres de réticulum endoplasmique granulaire (REG) sont en état de lyse (Ly) ou en état de corps myélinique (CMy) ou transformées en granule dense (gd). La lyse d'un groupe de mitochondries peut engendrer une grande vacuole lysosomale limitée par une membrane mitochondriale (mM) (x 40 000). gd : grain dense ; mf : microfilament ; NCF : noyau de la cellule folliculaire ; rGLy : rosette de glycogène.

Fig.2 - Détail de la structure du pôle apical d'une cellule folliculaire : Sécrétions folliculaires et pinocytose ovocytaire.

Dans le pôle apical de la cellule folliculaire (CF), les granules denses (gd) entourés de vésicules lysosomales (VL) ont une taille plus petite. La lyse de ces granules génère des vésicules de sécrétion (VS) contenant chacune un grain dense. L'espace intercellulaire (eic) entre l'ovocyte et les cellules folliculaires est très large par endroit. La microvillosité ovocytaire (mvo) est importante. Dans le cortex de l'ovocyte (OV), il y a deux types de vésicules de pinocytose (VP) : vésicule claire et vésicule dense (x30 000).

Fig.3 - Détail du cortex ovocytaire et du pôle apical de la cellule folliculaire.

Dans le pôle apical des cellules folliculaires (CF), les vésicules de sécrétion (VS) se trouvent contre la membrane plasmique et dans les vésicules d'endocytose (VE) souvent enclavées dans les labryntes de l'ovocyte (OV). Dans le cortex ovocytaire, les vésicules de pinocytose (VP) sont cernées de plage claire. L'espace intercellulaire (eic) entre les cellules folliculaires et l'ovocyte est comblé de matériel hémolympatique dense (x 60 000). MVO: microvillosité ovocytaire; rGLy: rosette de glycogène.

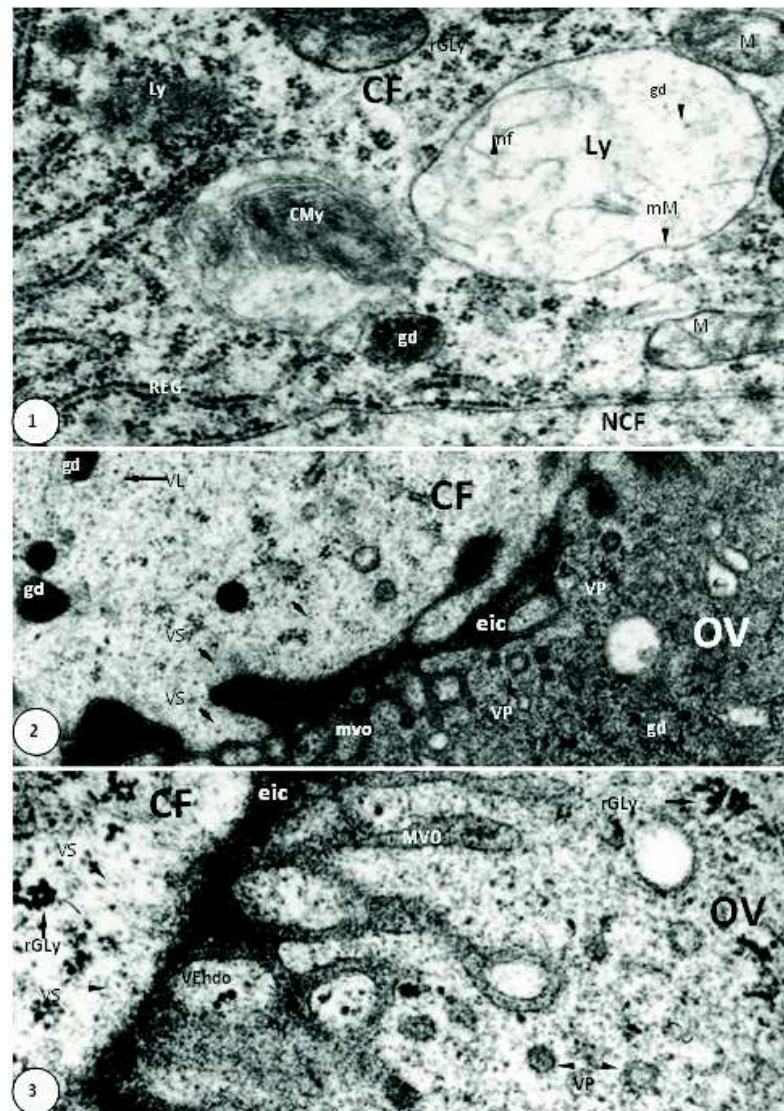


PLANCHE VIII

PLANCHE IX CARACTERISATION ULTRASTRUCTURALE DES STADES OVARIENS

Ovocyte mûr

Fig.1 - Détail de la dissolution des granules vitellins dans une zone centrale de l'ovocyte.

Les granules vitellins (GV) prennent l'aspect d'un corps multivésiculaire dont la périphérie est filamenteuse. Il résulte de leur dissolution l'apparition de longs tubules (Tu) contigus à une structure filamenteuse (fv) probablement de nature vitelline (x 30 000).

Fig.2 - Détail d'une zone corticale d'un ovocyte mûr chorionné.

Une couche mince et dense du chorion d'une structure identique à celle des labryntes microvillositaires constitue l'endochorion (EndoCH). L'exochorion (ExoCH) est plus épais

et moins dense que l'endochorion. La membrane vitelline (mv) d'une structure fine et dentelée supplante la membrane plasmique ovocytaire. Un matériel filamentueux vitellin (mfv) se détache des granules vitellins (GV) sous l'action des enzymes. Des grains d'aspect glycogénique (rGLy) apparaissent dans des plages claires de nature probablement enzymatique (x 60 000).

Fig.3 - Aspect ultrastructural de certaines cellules folliculaires en dégénérescence.

La membrane cytoplasmique est circonvolutionnée (MCI). Certains lysosomes sont entièrement cernés par des cylindres du réticulum endoplasmique granulaire (REG). Les corps lysosomiques sont assez nombreux (Ly). De nombreux réticulum endoplasmique granulaire apparaissent être fragmentés et dissociés (fREG) (x 30 000).

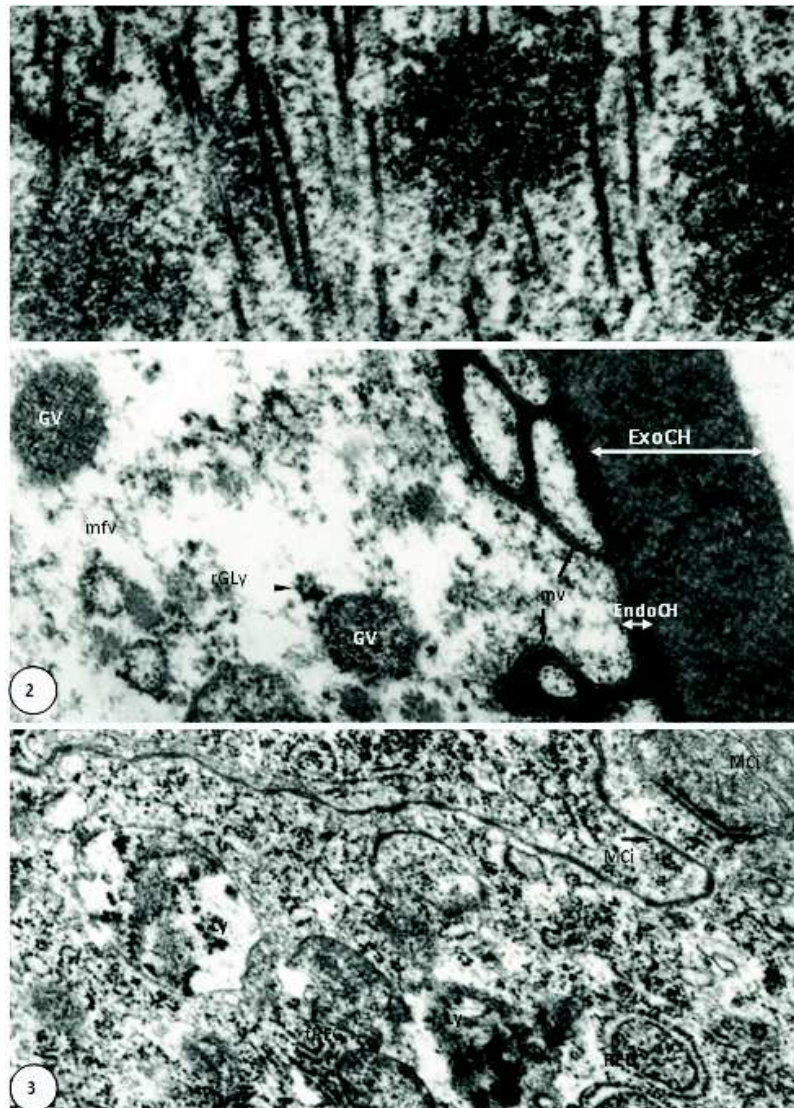


PLANCHE IX

PLANCHE X ASPECTS HISTOLOGIQUES DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

-COUPES SEMI-FINES COLOREES PAR LE BLEU DE TOLUIDINE-Bandelettes de tissu adipeux aux stades de prévitellogenèse et de vitellogenèse

Fig.1 - Bandelettes de tissu adipeux montrant les adipocytes (Ad) entourés de plusieurs Oenocytes (Oe) au stade de maturation de l'abeille ouvrière. Noter les nombreux globules lipidiques osmiophile (GLO) (x 1000). N : noyau ; Tr : trachéole.

Fig.2 - Bandelettes de tissu adipeux au stade de maturation de l'abeille ouvrière. Noter les granules denses (gd) et le noyau circulaire des oenocytes (Oe) et le noyau échancré des adipocytes (Ad) (x 1000). N : noyau.

Fig.3 - Bandelettes de tissu adipeux et Oenocytes au stade de la vitellogenèse. Oenocytes (Oe) peu nombreux par rapport aux adipocytes (Ad) ; les globules lipidiques osmiophiles (GLO) sont concentrés dans le cortex de l'adipocyte (x 400).

Fig.4 - Bandelettes de tissu adipeux au stade de la vitellogenèse. Apparition des globules lipidiques d'aspect hétérogène (GLSO). Certains sont totalement non osmiophiles (GLNO). Noter la petite taille des granules protéiques (GP) à la périphérie de l'adipocyte (Ad) (x 1000). Eic : espace intercellulaire.

Fig.5 - Bandelettes de tissu adipeux au stade de la vitellogenèse. Noter l'importance numérique des globules lipidiques non osmiophiles (GLNO) pendant le petit accroissement ovocytaire (x 1000). Ad : adipocyte ; GLO : globule lipidique osmiophile.

Fig.6- Bandelettes de tissu adipeux au stade de la fin vitellogenèse : les globules lipidiques sont totalement non osmiophiles (GLNO) (lipides saturés) (x 1000). Ad : adipocyte ; N : noyau ; Nu : nucléole.

Fig.7 - Bandelettes de tissu adipeux au stade de la fin vitellogenèse : dans les adipocytes (Ad), les globules lipidiques sont rares ; les granules protéiques (GP) de très petite taille sont nombreux (x 1000). GLO : globule lipidique osmiophile ; GLNO : globule lipidique non osmiophile ; N : noyau ; Oe : oenocyte ; Tr : trachéole.

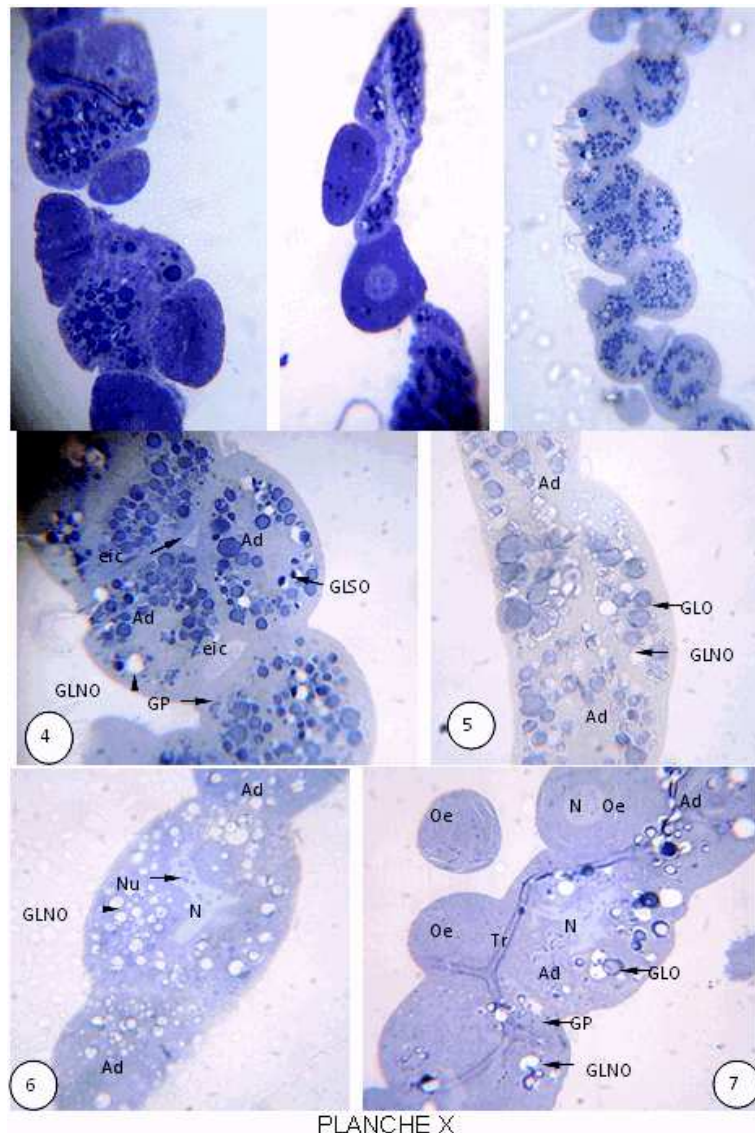


PLANCHE XI ASPECTS HISTOLOGIQUES DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

- COUPES SEMI-FINES COLOREES PAR LE BLEU DE TOLUIDINE

-Bandelettes de tissu adipeux et des cellules à urate au stade ovocyte mûr

Fig.1 -Bandelettes de tissu adipeux au stade ovocytes mûrs. Les globules lipidiques (GLO) dans le cortex de l'adipocyte (Ad) sont totalement osmiophiles (x 400). Oe : oenocyte.

Fig.2 -Bandelettes de tissu adipeux au stade ovocytes mûrs. La structure de l'adipocyte (Ad) est comparable à celle du début vitellogenèse. La taille des globules lipidiques osmiophiles (GLO) est très variable (x 1000). GP : granule protéique ; N : noyau ; Oe : oenocyte

Fig.3 - Cellules à urate ou à concrétions (Cu). Noter les concrétions d'aspect blanchâtre entourées de structures granuleuses denses (x 1000). Oe : oenocyte

Fig.4 - Cellules à urate ou à concrétions (Cu). Noter les sphérules d'aspect vert clair à la périphérie de la cellule (x1000). Oe : oenocyte

Fig.5 - Cellules à urate ou à concrétions (Cu). Noter l'aspect hétérogène des sphérules (x 1000). Oe : oenocyte.

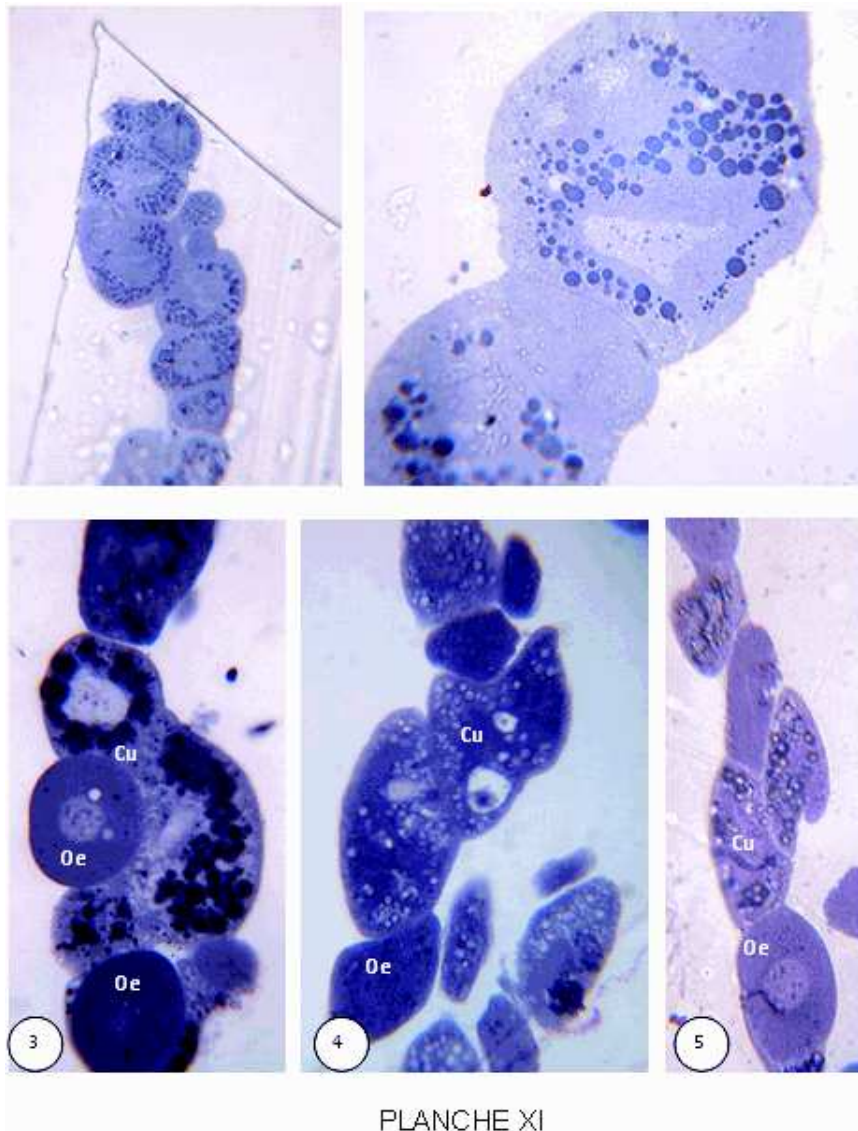


PLANCHE XII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse des lipides endocellulaires à l'âge adulte de 2 jours

Fig.1 - Détail d'une zone hyaloplasmique très riche en rosettes de glycogène.

Noter l'étendu de plages des rosettes de glycogène (rGLy). Dans la nappe de rosettes apparaissent des petites plages claires contenant des grains de glycogène (gGLy) (x 40 000). M: mitochondrie

Fig.2 - incorporation du glycogène par les mitochondries qui se transforment en vacuole lipidique.

Une structure dense d'apparence ribosomique est entassée contre la membrane interne du noyau (N). Dans le hyaloplasme périnucléaire, un important réseau de cylindres dilatés de réticulum endoplasmique granulaire (cdREG) est contigu par son extrémité à des mitochondries (M) souvent cupiliformes. Ces mitochondries constituant un lysosome (Ly) incorporent des rosettes de glycogène (rGLy) et des saccules de réticulum endoplasmique dépourvus de leurs ribosomes (x 30 000).

Le contenu matriciel des mitochondries en lyse (Ly) se transforme en un réseau filamenteux puis en globule lipidique osmiophile (GLO) (encart, x 6 000). GLSO : globule lipidique semi osmiophile.

Fig.3 -Détail de la transformation du glycogène en enclave lipidique.

Remarquer la lyse des rosettes de glycogène (rGLy) au contact des vésicules lysosomiques (VL) sécrétées par la mitochondrie elle-même en lyse (M).

Noter la transformation du glycogène et de la mitochondrie en enclave lipidique (L) puis en globule lipidique osmiophile (GLO) (x 60 000).

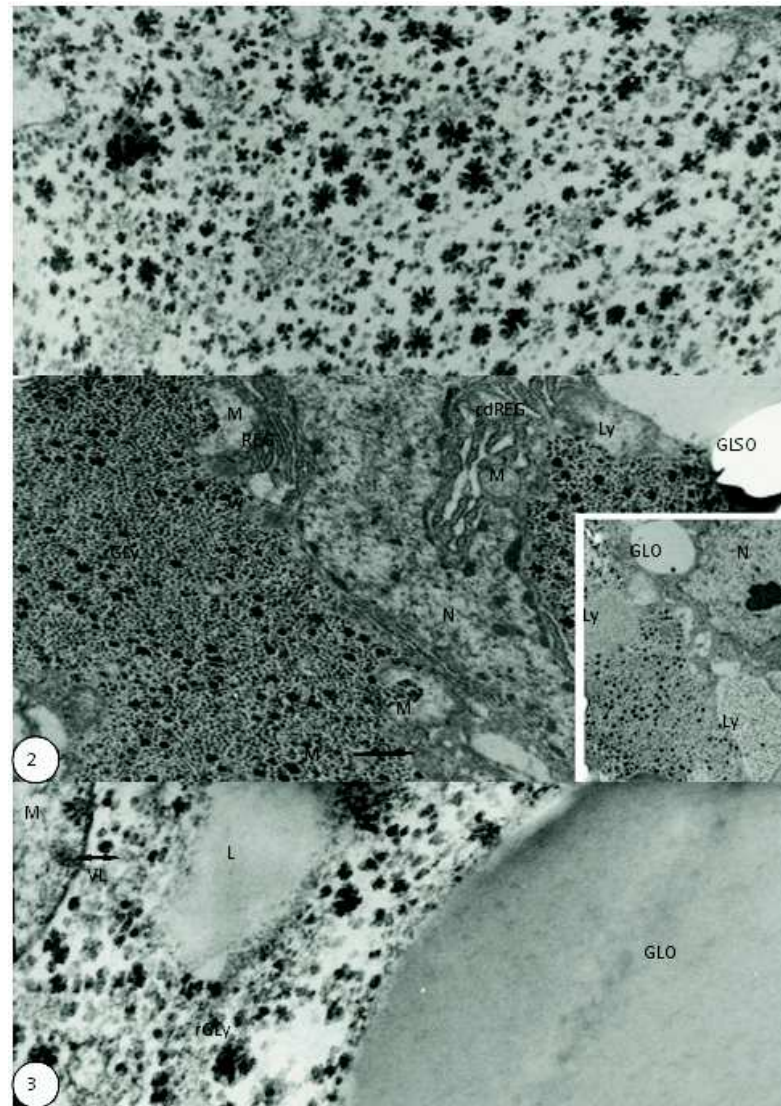


PLANCHE XII

PLANCHE XIII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse lipoprotéique endocellulaire pendant la prévitellogenèse, à l'âge adulte de 2j

Fig.1 - Transformation des lysosomes mitochondriaux en enclaves lipidiques.

Noter la contiguïté des extrémités dilatées des cylindres du réticulum endoplasmique granulaire (cdREG) avec les lysosomes mitochondriaux (Ly), les enclaves lipidiques (L) et les granules denses (gd). Noter la fusion des rosettes de glycogène (rGLy) avec le lysosome. Remarquer l'élaboration des lipides au sein du lysosome (x 30 000). Eic : espace intercellulaire ; VExo vésicules d'exocytose.

Fig.2 - Détail d'un noyau actif et d'une zone hyaloplasmique périnucléaire de l'adipocyte.

Noter la lyse des fragments de réticulum endoplasmique granulaire (fREG), leur incorporation dans la vacuole mitochondriale (Ly) et l'apparition des enclaves lipidiques (L). Noter la contiguité des extrémités des strates de cylindres dilatés du réticulum endoplasmique granulaire (cdREG) aux granules denses (gd) et aux rosettes de glycogène (rGLy). Noter la présence de mottes de chromatine contre la membrane interne du noyau (N) (x 40 000).

Synthèse lipoprotéique à partir des précurseurs endocellulaire et extracellulaire pendant la vitellogenèse

Fig.3 - Aspect ultrastructural d'une zone corticale d'un adipocyte : synthèse des inclusions cytoplasmiques à partir des précurseurs hémolymphatiques.

Noter le matériel dense dans les invaginations de la membrane cytoplasmique (flèche), la présence des vésicules de pinocytose (VP) notamment en contiguité avec le lysosome mitochondrial (Ly). Remarquer le matériel très dense au sein de la structure lysosomique (*). Les labyrinthes de la microvillosité (mv) sont profonds dans le cortex adipocytaire (x 20 000). GP: granule protéique; GL: globule lipidique; LB: lame basale; M: mitochondrie.

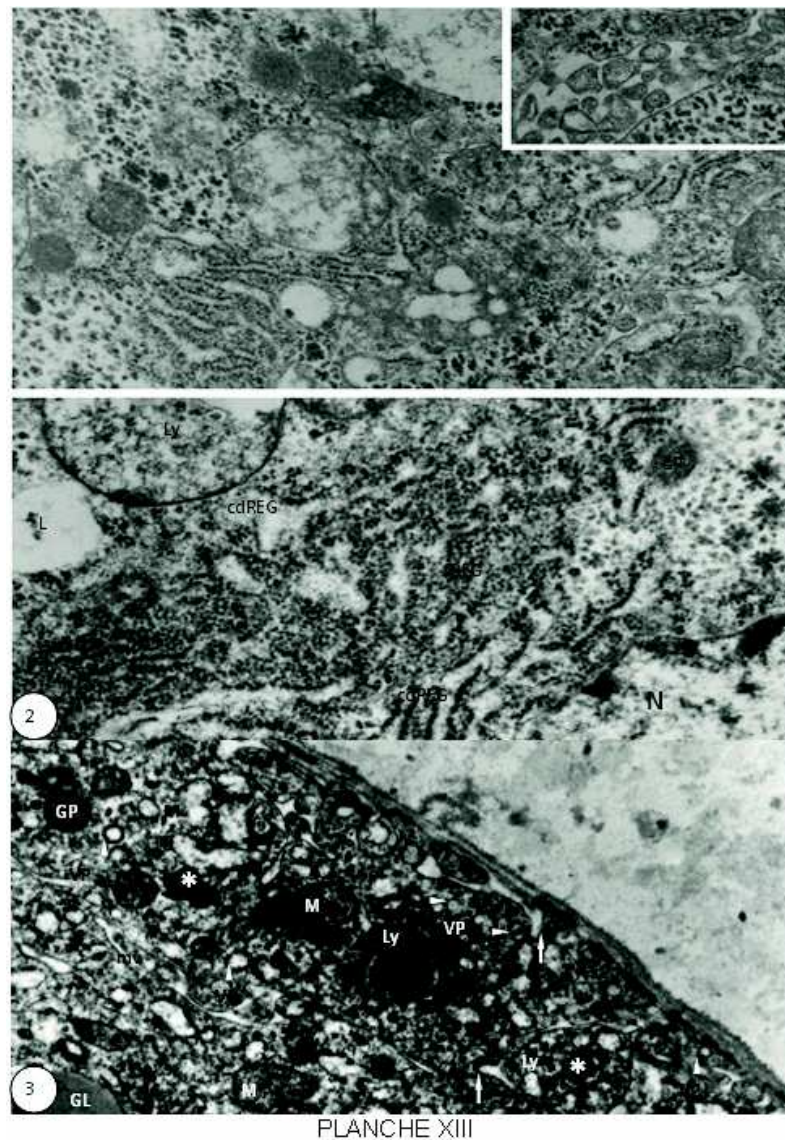


PLANCHE XIV ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse des lipides endocellulaires pendant la vitellogenèse

Fig.1 - Synthèse de lipides par lyse mitochondriale et saccules du réticulum endoplasmique dépourvu de leurs ribosomes.

Au sein d'un groupe de mitochondries en lyse (Ly1), apparaissent des petits granules denses (gd). Le lysosome mitochondrial (Ly2) est contigu avec des cylindres très dilatés de réticulum endoplasmique granulaire (cdREG) ; le centre du lysosome presque circulaire est peu clair. A sa périphérie, les granules denses sont plus épais.

Noter la lyse des mitochondries en fusion avec des saccules du réticulum endoplasmique dépourvus de leurs ribosomes.

Le lysosome (Ly3) est d'un aspect globuleux et presque homogène ; il se transformerait en globule lipidique osmiophile (GLO) (x 20 000). M : mitochondrie.

Fig.2 - Synthèse de lipides par le réticulum endoplasmique granulaire et fusion des petits globules lipidiques.

Noter la fusion des petits globules lipidiques osmiophiles (GLO) avec le volumineux globule cerné par les strates de cylindres dilatés du réticulum endoplasmique granulaire (cd REG) (x 20 000). Ly : lysosome ; M : mitochondrie.

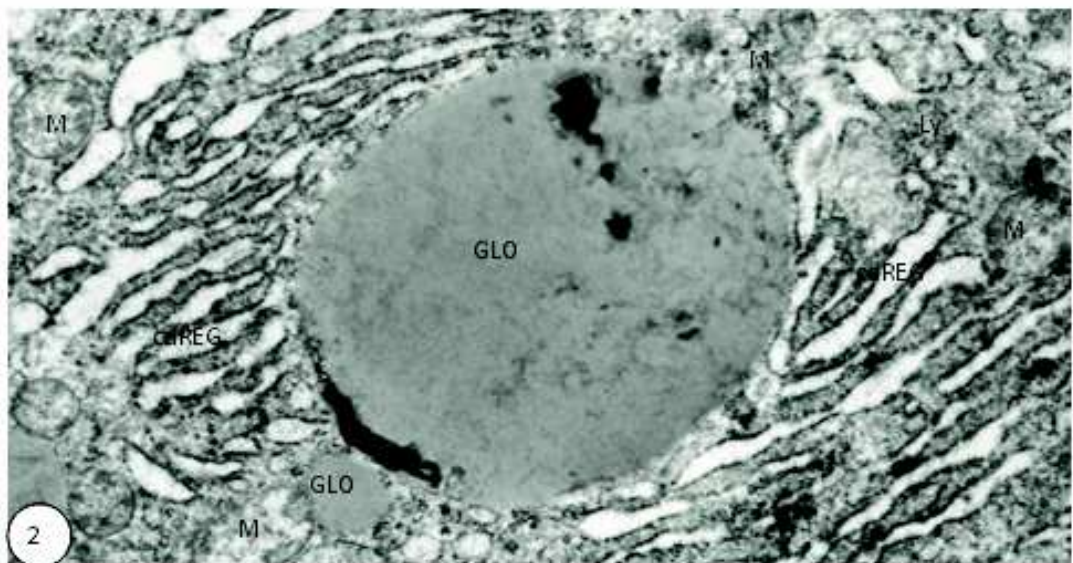
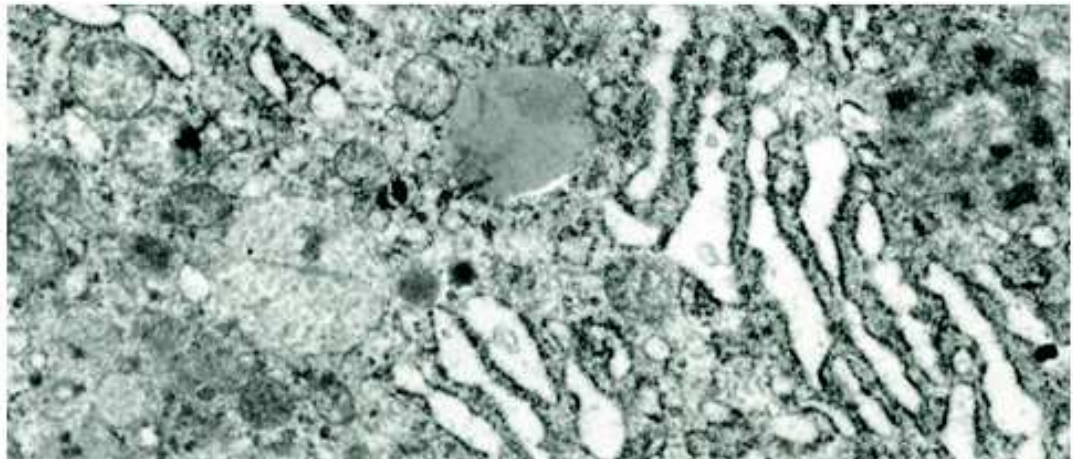


PLANCHE XIV

PLANCHE XV ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse des lipides endocellulaires pendant la vitellogenèse

Fig.1 -Synthèse des globules lipides par les travées du réticulum endoplasmique granulaire (REG) et l'appareil de golgi (G).

Entre un réseau de réticulum endoplasmique granulaire fragmenté (fREG) et une série de dictyosomes de l'appareil de Golgi (G) transite un matériel dense vésiculaire (vREG).

Les globules lipidiques (GL) sont élaborés avec les vésicules golgiennes (VG) et les saccules du réticulum endoplasmique dépourvu de leurs ribosomes (sRE).

Noter la fusion des saccules réticulaires et des vésicules golgiennes aux petits globules lipidiques. Remarquer la contiguïté des mitochondries (m) avec les globules lipidiques (x 30 000).

Fig.2 - Synthèse des globules lipidiques par les mitochondries (M) et l'appareil de golgi (G).

Noter la contiguïté des fragments du réticulum endoplasmique granulaire (fREG) avec les macromitochondries (M) et la transformation des vésicules mitochondriales (Vm) en minuscule globule lipidique (gl). Remarquer la fusion des vésicules golgiennes (vg) et des petits globules lipidiques avec le volumineux globule (GL) (x 30 000).

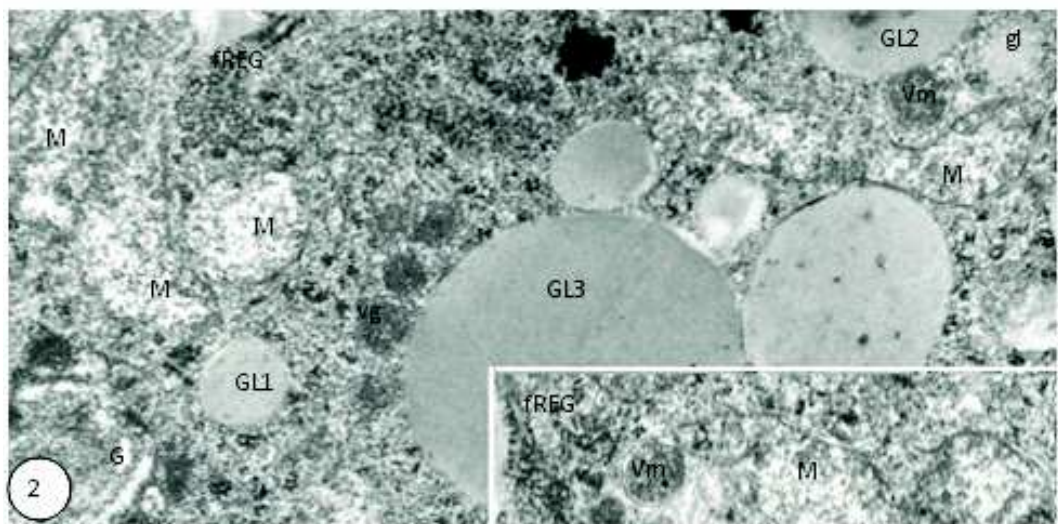
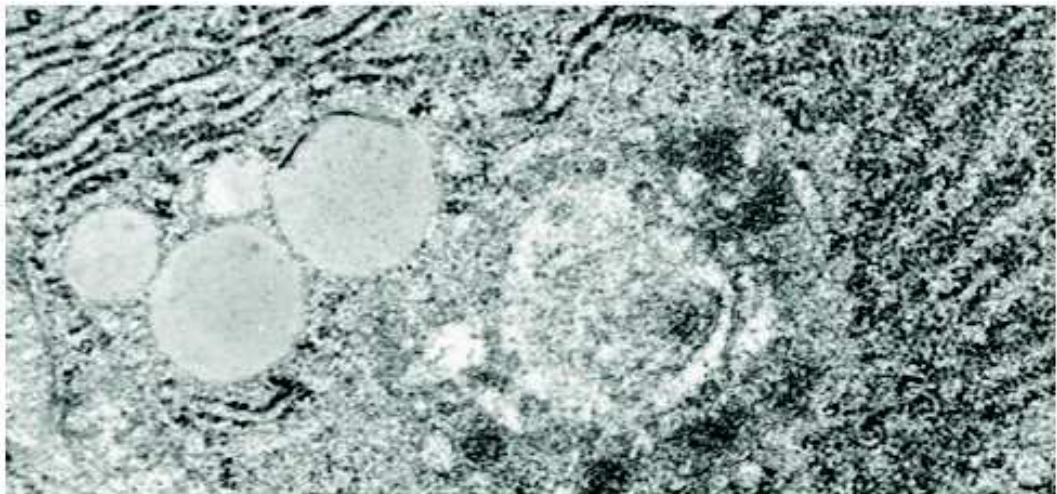


PLANCHE XV

PLANCHE XVI ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Aspect des adipocytes périovariens vers la fin de la vitellogenèse

Fig.1 - Aspect général d'un adipocyte en fin de la vitellogenèse.

L'adipocyte volumineux renferme des globules lipidiques non osmiophiles (GLNO) de plus grande taille. Le noyau (N) très ramifié contient plusieurs nucléoles (Nu). L'enveloppe nucléaire est entachée de matériel dense. Le réticulum endoplasmique granulaire (REG) et les mitochondries (M) sont abondants. Dans le cortex de l'adipocyte, les invaginations de la membrane cytoplasmique (mp) sont très développées. Au sein de ce système membranaire, les granules denses (gd) parfois contigus à des mitochondries sont nombreux (x 4000). eic: espace intercellulaire; LB: lame basale; Oe: oenocyte.

Fig.2 - Aspect ultrastructural d'une zone d'un adipocyte.

Noter l'abondance des mitochondries et des travées parallèles du REG (x 14 000).

De très nombreuses travées parallèles de cylindres du réticulum endoplasmique granulaire (REG) occupent l'hyaloplasme. Leurs extrémités souvent élargies sont contiguës à de nombreuses mitochondries (M). Les granules denses (gd) sont peu nombreux. Les granules protéiques (GP) sont rares. Les globules lipidiques inexistant (x 14 000).

Fig.3 - Aspect ultrastructural d'une zone périphérique de deux adipocytes.

Les espaces entre la lame basale (LB) et les adipocytes (Ad1, Ad2) sont remplis de matériel dense hémolymphatique. Entre les labyrinthes de la membrane plasmique (mp) existent des granules protéiques (GP), des mitochondries (M) et du réticulum endoplasmique granulaire (REG). Le lysosome mitochondrial (Ly) génère un matériel très dense (*) probablement de nature protéique. Noter l'absence de globules lipidiques (x 20 000).

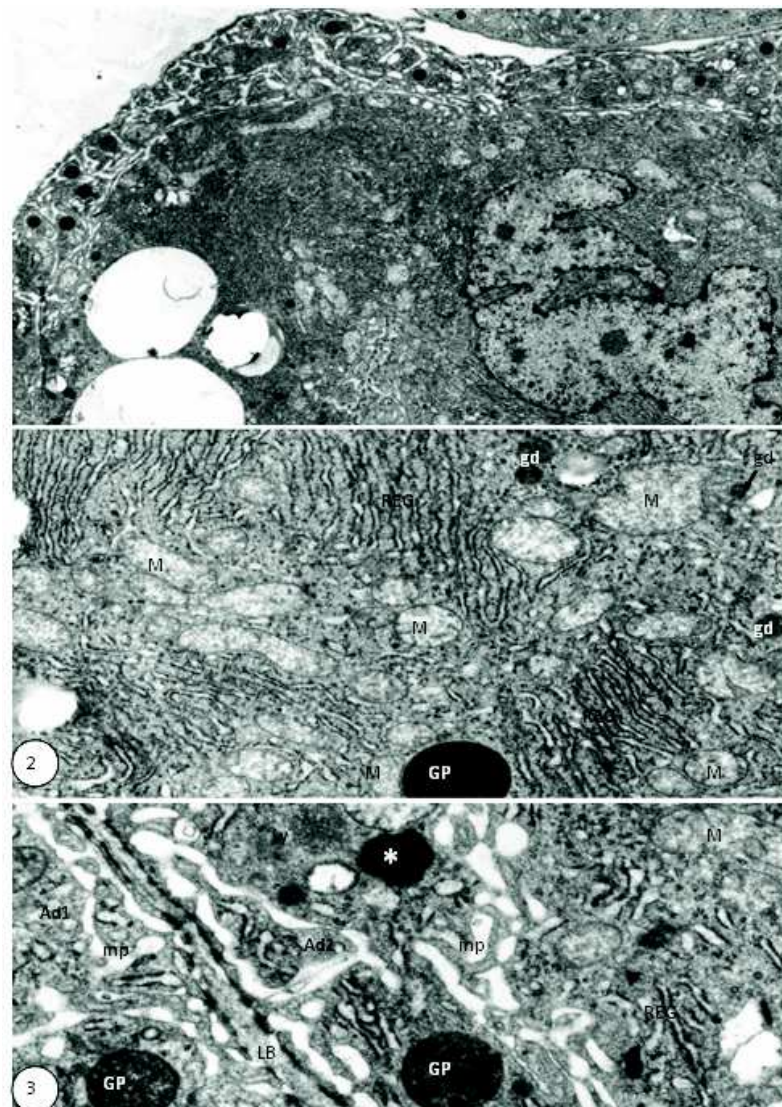


PLANCHE XVI

PLANCHE XVII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse de protéines sous forme de grains denses pendant la prévitellogénèse à l'âge adulte de 8 jours

Fig.1 - Synthèse des protéines par les mitochondries et le réticulum endoplasmique granulaire à la périphérie du noyau.

Noter la présence des mottes de chromatine contre la membrane nucléaire interne et remarquer la contiguïté tangentielle des strates parallèles du réticulum endoplasmique granulaire (REG) avec le noyau (N).

Noter la contiguïté des mitochondries (M) au globule lipidique osmiophile (GLO) et aux extrémités du réticulum endoplasmique granulaire. Remarquer les grains denses (gd) à la périphérie du globule et à l'extrémité du REG et au contact du lysosome mitochondrial (Ly) (x 20 000). sRE : saccule de réticulum endoplasmique.

Fig.2 - Mise en place d'un amas de mitochondries, de grains denses et des sécrétions nucléaires pour une éventuelle synthèse protéique.

Noter la connexion du lysosome mitochondrial (Ly) avec les strates du réticulum endoplasmique granulaire (REG), les grains denses (gd) et les vésicules de sécrétion nucléaire (VS). Les grains denses seraient élaborés par le REG à partir des lipides osmiophiles (x 60 000). N : noyau ; sRE : saccules du réticulum endoplasmique.

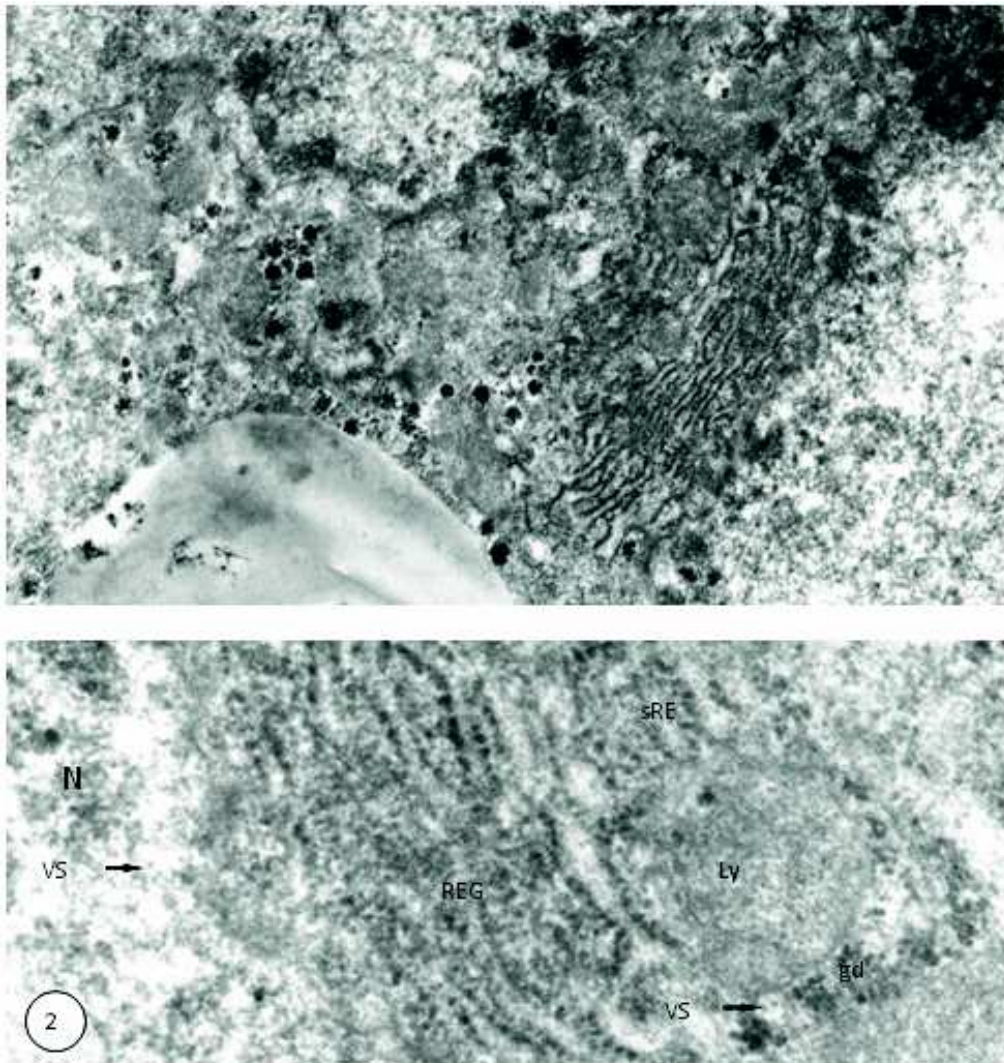


PLANCHE XVII

PLANCHE XVIII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse des protéines pendant la vitellogenèse

Fig.1 - formation des granules protéiques par les mitochondries, les saccules du réticulum endoplasmique du REG et les sécrétions nucléaires.

Les extrémités des travées parallèles du réticulum endoplasmique granulaire (REG) sont contiguës d'un côté avec le globule lipidique non osmiophile (GLNO) et de l'autre côté avec un groupe de mitochondries (M). Un amas de matériel dense probablement de nature protéique (gp) est édifié sur les crêtes mitochondriales. Autour des nucléoles (Nu) existent des vésicules nucléolaires (VN) contenant un grain dense. Le même matériel est présent à

l'intérieur et à l'extérieur de l'enveloppe du noyau (N) (x 16 000). mf : matériel filamenteux ; sRE : saccule du réticulum endoplasmique.

Fig.2 - Détail du lysosome mitochondrial évoluant en granule protéique.

Le groupe de mitochondries en lyse (Ly) est cerné par une membrane mitochondriale. Remarquer les grains denses (gd) dans les saccules du réticulum endoplasmique (sRE) contigu au lysosome. Noter la fusion des mitochondries voisines (M) avec le lysosome (flèche) (x 40 000). G : appareil de golgi ; GLO : globule lipidique osmiphile ; GP : granule protéique ; vg : vésicules golgiennes.

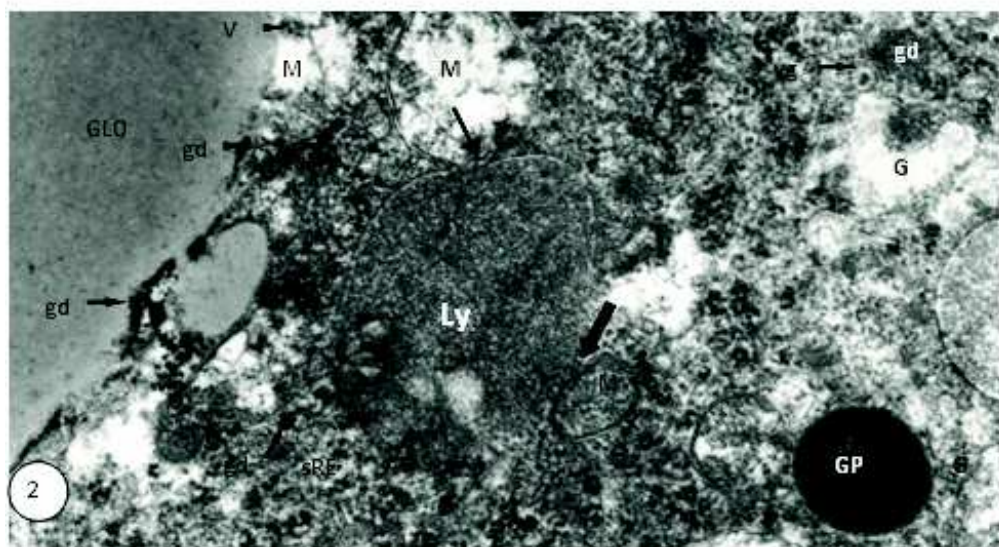
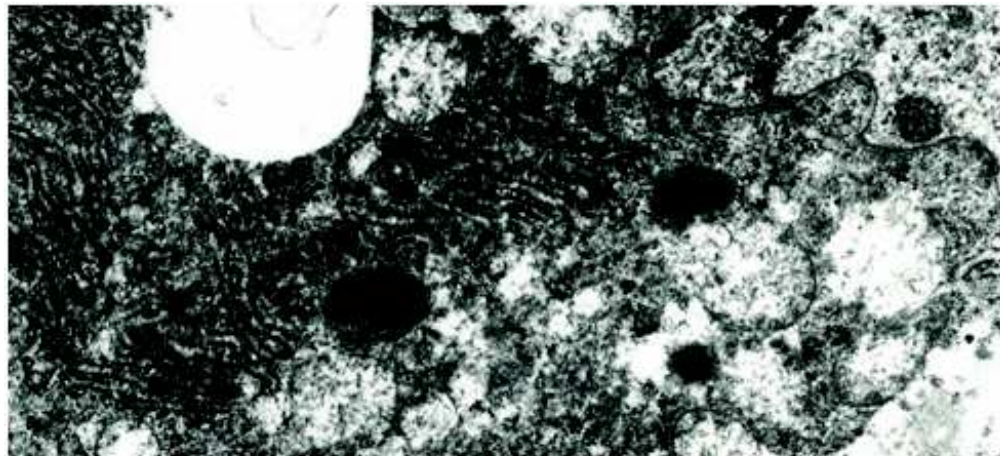


PLANCHE XVIII

PLANCHE XIX ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse des protéines sous forme de grains denses pendant la prévitellogenèse à l'âge adulte de 8 jours.

Fig.1 - Synthèse des protéines à partir des lipides insaturés par le réticulum endoplasmique granulaire.

Les grains denses (gd) se trouvent en face des extrémités dilatées du réticulum endoplasmique granulaire (cdREG) en contiguïté avec le globule lipidique semi osmiophile (GLSO).

Les grains denses seraient transformés par le réticulum endoplasmique granulaire à partir des lipides insaturés sous l'action des enzymes (x 40 000). M : mitochondrie ; VL : vésicule lysosomique.

Fig.2 - Synthèse des protéines à partir des lipides osmiophiles et lyse mitochondriale.

Noter les nombreuses mitochondries (M) en relation avec les globules lipidiques semi osmiophiles (GLSO). Remarquer la présence des grains denses (gd) et la lyse des mitochondries dans les plages claires (x 20 000). VL : vésicule lysosomique.

Fig.3 - Synthèse de protéines à partir des lipides insaturés et lyse mitochondriale.

Les mitochondries en lyse sont contigues au globule lipidique osmiophile (GLO). Noter la migration des grains denses (gd) du globule vers les mitochondries (x 40 000).

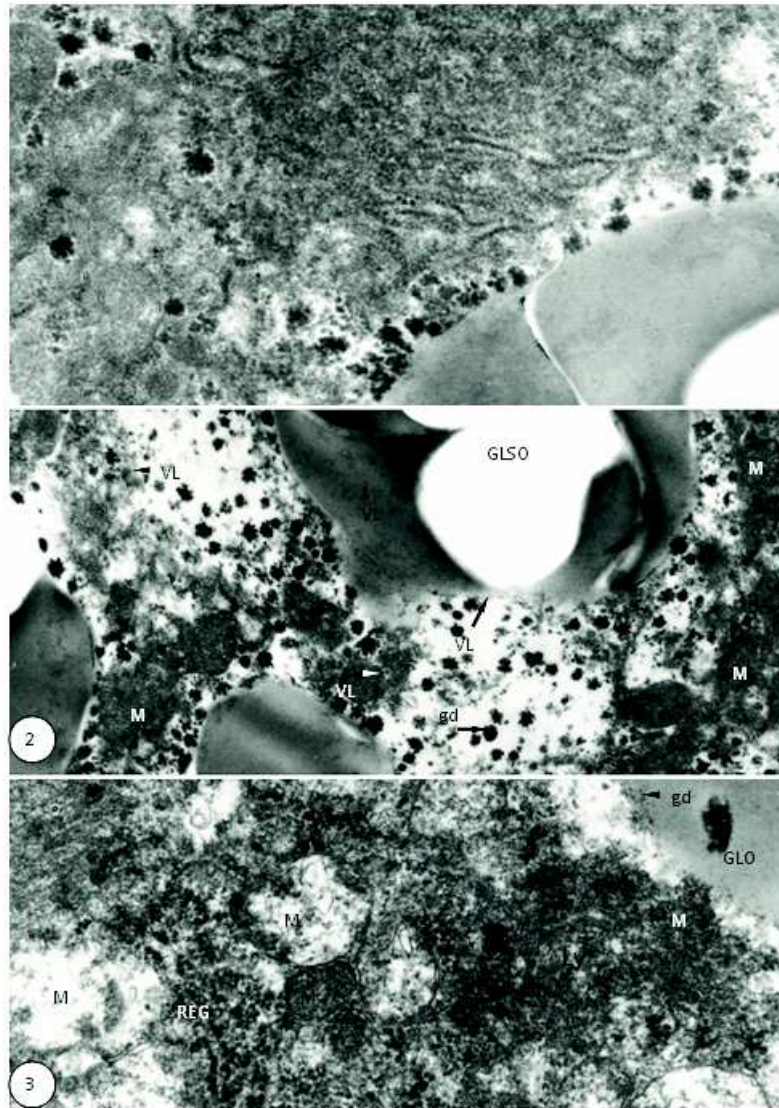


PLANCHE XIX

PLANCHE XX ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse des protéines pendant la vitellogenèse

Fig.1 - Contiguïté du réticulum endoplasmique granulaire avec le globule lipide osmiophile et la mitochondrie à proximité de l'appareil de golgi.

Les cylindres du réticulum endoplasmique granulaire (REG) sont perpendiculairement contigus au globule lipidique osmiophile (GLO). Les dictyosomes de l'appareil de golgi (G) sont nombreux et épais. Un matériel dense (gd) transite entre le REG et la mitochondrie par l'intermédiaire de saccules dépourvus de leurs ribosomes (sRE). Sur les mitochondries apparaissent des vésicules (+) et des grains denses (gd, encart). Noter les grains ultrafins

à la périphérie du globule lipidique (flèche) et le matériel granuleux d'aspect floconneux à l'intérieur des cylindres du REG (*) (x 60 000). Vg : vésicule golgienne.

Fig.2 - Relations de contiguïté entre globule lipidique, réticulum endoplasmique granulaire, mitochondrie et appareil de golgi.

Les relations de contiguïté entre globule lipidique semi osmiophile (GLSO), réticulum endoplasmique granulaire, mitochondrie et appareil de golgi sont bien établies.

Noter la migration des structures microvésiculaires (V) depuis le globule lipidique vers le REG. Remarquer l'apparition des grains denses (gd) à la périphérie du globule lipidique et sur les mitochondries (M) ainsi que la fusion des vésicules golgiennes (vg) au granule protéique (GP) (x 40 000).

Fig.3 - Utilisation totale des réserves de lipides insaturés dans l'élaboration des protéines.

Le globule lipidique est devenu totalement non osmiophile (GLNO); il ne contient que des lipides saturés et quelques résidus de grains denses (gd) et de matériel filamenteux (mf). Noter la contiguïté du réticulum endoplasmique granulaire (REG) et des mitochondries (M) avec le globule lipidique. Noter l'élaboration des grains denses et des granules protéiques (GP) à côté du globule lipidique non osmiophile (x 30 000). G : appareil de golgi ; GLO : globule lipidique osmiophile.

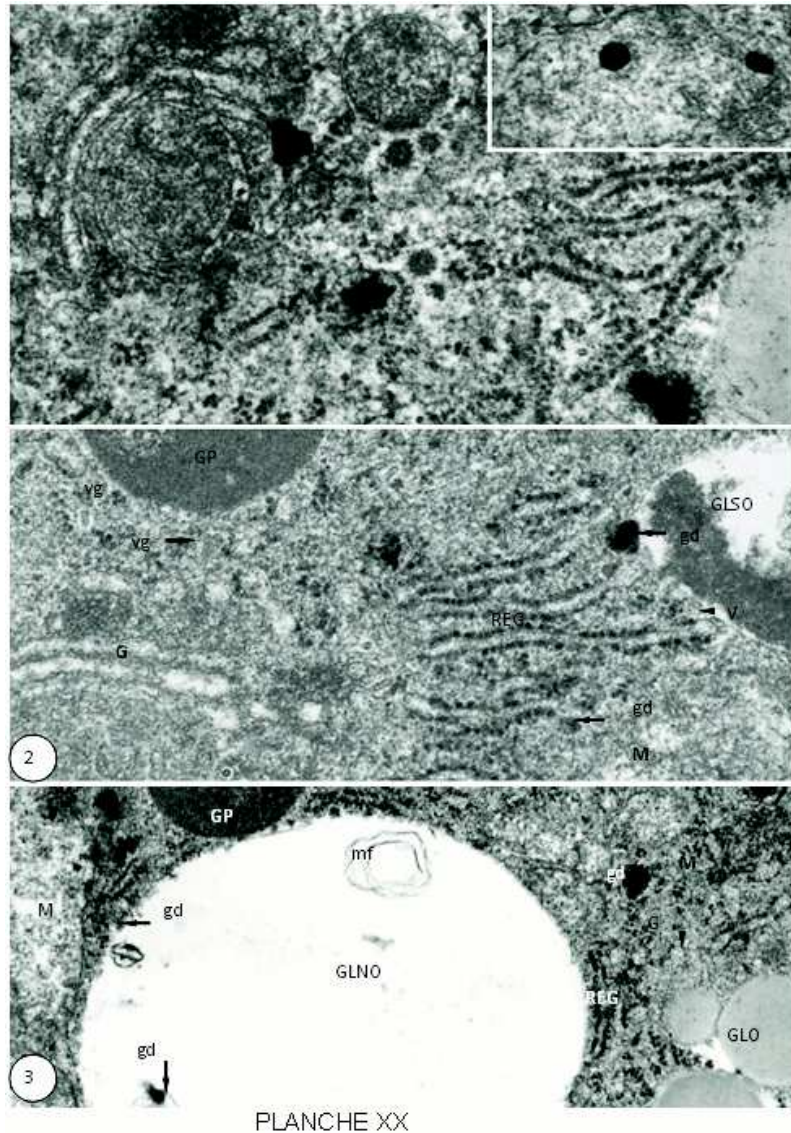


PLANCHE XXI ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Synthèse des protéines pendant la vitellogenèse

Fig.1 - Synthèse protéique à partir des lipides osmiophiles (lipides insaturés).

Les mitochondries (M) et les dictyosomes golgiens (G) sont contigus aux globules lipidiques osmiophiles (GLO). Noter les grains denses (gd) à la périphérie des globules et remarquer la fusion des vésicules golgiennes (vg) aux granules protéiques (x 30 000) fREG : fragment de réticulum endoplasmique granulaire.

Fig.2 - Synthèse protéique par sécrétion de vésicules golgiennes.

Les granules protéiques en cours d'élaboration sont cernés par des saccules golgiens (G). Noter la fusion des vésicules golgiennes aux granules protéiques (GP) à différents stades de leur formation (x 30 000).

Fig.3 - Détail des vésicules mitochondriales en fusion.

En contiguité avec un globule lipidique osmiophile (GLO), quelques mitochondries génèrent des vésicules (Vm) qui semblent être en fusion entre elles (x 30 000). gd : granule dense.

Fig.4 - Détail d'un globule lipidique ayant perdu son lipide osmiophile (lipide saturé).

Le globule lipidique est totalement non osmiophile (GLNO) ; il ne contient que des lipides saturés. Noter les résidus de granules denses (gd) et de matériel filamenteux (mf) dans le globule. Les mitochondries (M) sont contiguës au globule lipidique entouré de matériel dense (x 30 000).

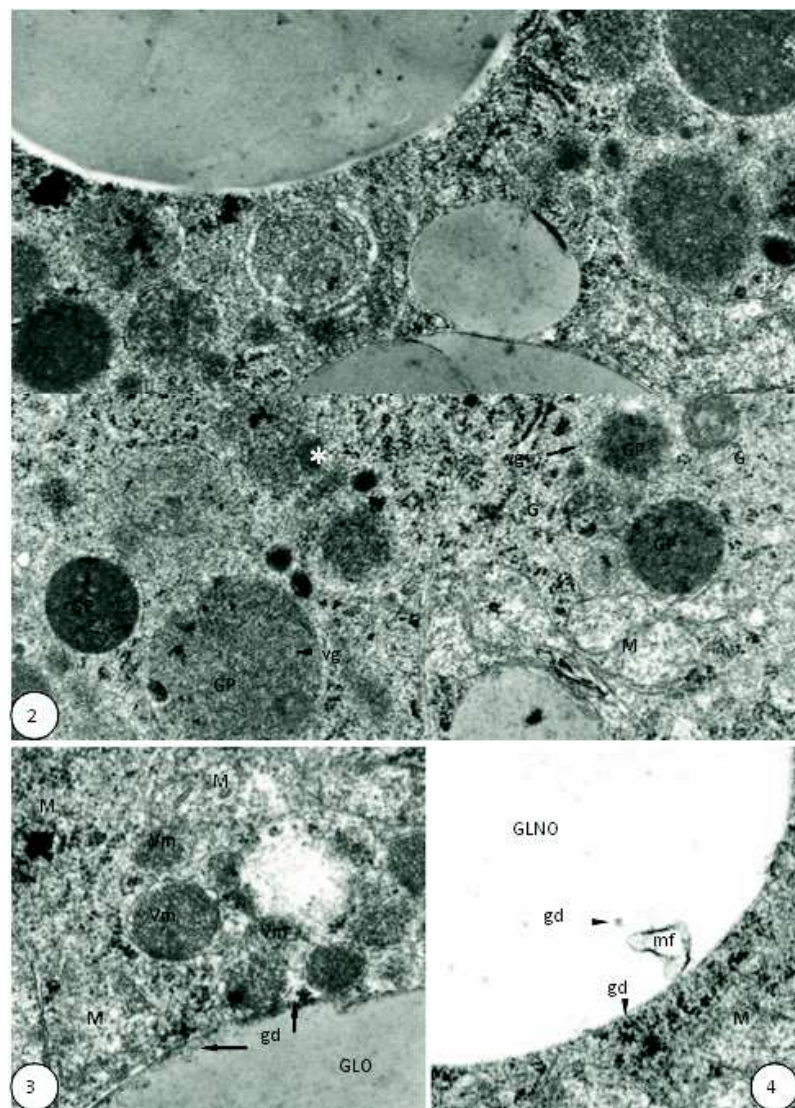


PLANCHE XXI

PLANCHE XXII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Utilisation des inclusions cytoplasmiques

Fig.1 - Utilisation des lipides insaturés par les macromitochondries et élaboration des vésicules de sécrétion de nature lipoprotéique par l'appareil de golgi. Evidence de l'exocytose.

Les macromitochondries (M) sont contiguës au globule lipidique semi osmiophile (GLSO). Les dictyosomes de l'appareil de golgi (G) sont en contact des granules protéiques (GP) et des petits globules lipidiques osmiophiles. Le contenu des vésicules de sécrétions (VS) déversé dans l'espace intercellulaire (eic) est mis en évidence par les vésicules d'exocytose (VExoc) (x 30 000). Cmv : corps multivésiculaire ; GL : globule lipidique ; mf : matériel filamenteux ; fREG : fragment de réticulum endoplasmique granulaire ; vg : vésicule golgienne.

Fig.2 - Production des vésicules de sécrétion par l'appareil de Golgi et les mitochondries à partir des granules protéiques.

Les dictyosomes de l'appareil de golgi (G) et les mitochondries (M) sont connectés au granule protéique (GP). Ces organites produiraient des vésicules de sécrétion (VS) lesquelles semblent être accompagnées par des fragments du réticulum endoplasmique granulaire (fREG) jusqu'à la membrane plasmique au contact de l'espace intercellulaire (eic) (x 40 000).

Fig.3 - Evidence des vésicules de sécrétion dans les adipocytes au 2^{ème} jour après l'émergence.

Les vésicules de sécrétions (VS) sont contigues à la membrane cytoplasmique de l'adipocyte. Ces vésicules sont vraisemblablement nombreuses dans l'espace intercellulaire (eic) (x 30 000). GL : globule lipidique ; GLy : glycogène ; fREG : fragment de réticulum endoplasmique granulaire.

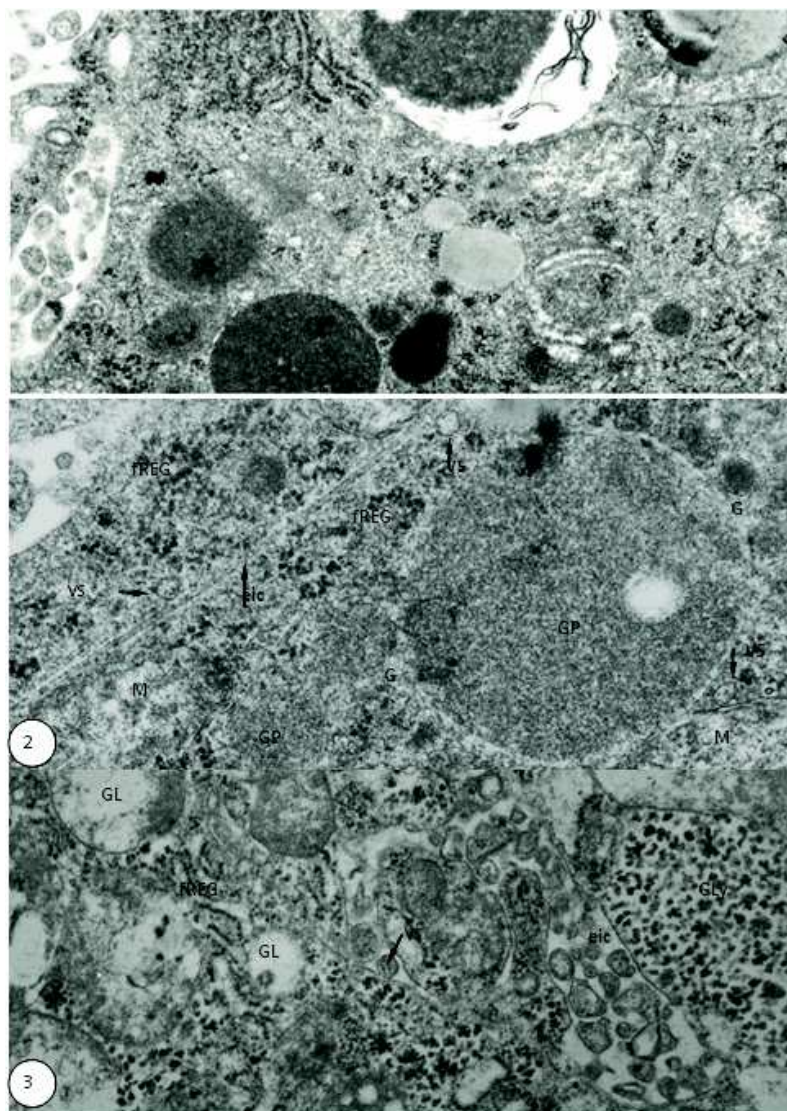


PLANCHE XXII

PLANCHE XXIII ULTRASTRUCTURE DU TISSU ADIPEUX PERIOVARIEN

Exocytose des vésicules de sécrétion

Fig.1 - Vésicules de sécrétion dans le cortex de l'adipocyte et au sein de la microvillosité cellulaire.

Dans le cortex de la cellule, les mitochondries sont géantes (M) ; les fragments de réticulum endoplasmique granulaire (fREG) sont contigus aux vésicules de sécrétion (VS). Dans l'espace intercellulaire (eic), ces vésicules sont nombreuses au sein de la microvillosité cellulaire (mvc) (x 30 000). LB : lame basale ; VExoc : vésicule d'exocytose.

Fig.2 - Détail de l'exocytose et de la relation entre les vésicules de sécrétion et les fragments du réticulum endoplasmique granulaire.

La surface de contact entre les vésicules de sécrétion (VS) et le fragment du réticulum endoplasmique granulaire (fREG) est dépourvue de ribosome.

Le contenu des vésicules d'exocytose (VExoc) déversé dans l'espace intercellulaire (eic) a un aspect cotonneux (x 60 000). M : mitochondrie.

Fig.3 - Détail de la texture de la lame basale.

L'aspect textural de la lame basale (LB) est peu dense. Cette membrane assez épaisse contient de nombreuses vésicules de sécrétion (VS) dont le contour membranaire est rugueux (x 60 000). eic : espace intercellulaire ; VExoc : vésicule d'exocytose.

