**Zeitschrift:** Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft =

Bulletin de la Société Entomologique Suisse = Journal of the Swiss

**Entomological Society** 

Herausgeber: Schweizerische Entomologische Gesellschaft

**Band:** 39 (1966-1967)

**Heft:** 1-2

**Artikel:** Études sur l'hémolymphe de l'abeille (Apis mellifica L.)

Autor: Wille, H. / Vecchi, M.A.

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-401514

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

#### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF:** 01.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

# Etudes sur l'hémolymphe de l'abeille

(Apis mellifica L.)

1re partie: les frottis de sang de l'abeille adulte d'été

par

# H. Wille \* et M. A. Vecchi \*\*

- \* Bienenabteilung der Eidg. Milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt, Liebefeld.
- \*\* Istituto Nazionale di Apicoltura, Bologna.

### INTRODUCTION

Lors de nos recherches sur les infections du sang de l'abeille adulte qui ont commencé en 1960, nous nous sommes rapidement trouvés en face d'observations nombreuses sur les cellules du sang qui étaient difficiles à rapprocher de celles des autres auteurs. Nous nous sommes rendus compte que sans une connaissance approfondie de l'hémolymphe de l'abeille normale, tout travail détaillé sur le sang de l'abeille malade serait illusoire. C'est pourquoi nous avons entrepris des recherches sur le sang de l'abeille adulte d'été, éclose en juin et juillet, à l'aide de la méthode des frottis et nous en présentons ici les premiers résultats, avec le plan suivant : description des différents éléments cellulaires, comparaisons avec les données des autres auteurs, étude de la variation qualitative et quantitative des types d'hémocytes au cours de la vie de l'abeille d'été, enquête sur les cycles évolutifs probables des éléments cellulaires, problème de la multiplication des hémocytes.

Au cours de ces recherches, maints problèmes nouveaux se sont posés, que nous n'avons pas pu élucider par la méthode des frottis. Nous nous sommes efforcés de les aborder par d'autres techniques, en particulier par celle des coupes histologiques. Leur étude a ouvert des perspectives nouvelles. Le présent travail ne se rapporte en principe qu'aux résultats obtenus à l'aide de frottis, mais, pour plus de précision dans l'explication de certains problèmes, nous devons donner ici quelquefois des résultats obtenus par d'autres méthodes. Nous sommes convaincus, après l'étude de plusieurs centaines de préparations, que,

malgré les réserves que nous venons de faire, une connaissance approfondie des frottis du sang nous permet déjà de distinguer les stades normaux des stades maladifs, bien que des difficultés se présentent dans l'appréciation des stades de transition.

### Méthodes

Marquage des abeilles: Prélèvement de couvain operculé, éclosion au thermostat, marquage des jeunes abeilles écloses avec un point de couleur sur le thorax. Réinstallation de ces abeilles dans la ruche originale. Les abeilles marquées furent prélevées de la ruche le 6<sup>e</sup>, 10<sup>e</sup>, 17<sup>e</sup>, 22<sup>e</sup>, 29<sup>e</sup> et quelquefois le 3<sup>e</sup> jour. A côté de cette série, des abeilles écloses du même couvain furent placées au thermostat dans des cagettes de Liebefeld, nourries au pollen et à la pâte et disposant d'eau à profusion. Prélèvement: à l'éclosion, au 1<sup>er</sup>, 3<sup>e</sup>, 5<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup> jour.

Essai de 1962 : Prélèvement en juin et juillet. Colonie de souche carniolienne importée de Yougoslavie. Le développement pendant la saison était très satisfaisant, le couvain en général très compact et régulier, les provisions de pollen et de miel toujours suffisantes. Les abeilles de cet essai seront désignées par Li<sub>62</sub>.

Essais de 1964: Colonie de la race du pays, probablement hybridée avec de la race carniolienne. Au point de vue de la régularité du couvain, du développement de la population, elle était moins satisfaisante que Li<sub>62</sub>. Les abeilles de cette colonie seront désignées par Li<sub>64</sub>.

Colonie de la race italienne élevée et étudiée à Bologne. Caractéristiques : Développement satisfaisant pendant la saison de même que pour les années précédentes. Couvain en général compact et régulier. Provisions de pollen et de miel abondantes. Ces abeilles seront désignées par Bo<sub>64</sub>.

# Prélèvement du sang

Se fait à l'aide de micropipettes très étirées. Endroits de prélèvement : partie postérieure gauche du crâne ; partie gauche du thorax sous le scutellum ; membrane intersegmentaire entre le 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> tergite abdominal.

Préparation des frottis : d'après les méthodes habituelles. En 1962, étirement de la goutelette avec une lamelle ; en 1964 étalement de la goutelette avec la pipette de prélèvement ; nous n'avons pas pu établir de différences entre les deux procédés. Séchage à l'air, fixation 2 minutes dans l'alcool méthylique absolu, coloration au Giemsa à 2 % pendant 30 minutes, rinçage à l'eau distillée, séchage à l'air après avoir absorbé l'excédent d'eau avec du papier buvard.

# DESCRIPTION DES ÉLÉMENTS CELLULAIRES DE L'HÉMOLYMPHE DE L'ABEILLE ADULTE

Dans les frottis de sang nous reconnaissons les éléments suivants :

## 1<sup>er</sup> élément : Proleucocyte

Grandeur de la cellule : environ  $4 \times 4 \mu$  (fig. 1). Sur les frottis, la forme de la cellule est circulaire avec une membrane lisse et nette. On n'observe pas de proliférations cytoplasmiques vers l'extérieur. In vivo, ces cellules se présentent comme des globules plus ou moins aplatis.

Le cytoplasme (comme il ressort des mensurations indiquées plus haut et plus bas) est très peu développé et se présente comme un mince anneau, peu perceptible autour du noyau (cf. aussi remarque pour l'élément 6). Sa structure est homogène, de réaction basophile. Il ne renferme aucune granulation ou vacuole.

Diamètre du noyau : 3,6 µ, invariable. Il est circulaire, placé au centre, bien séparé du cytoplasme, malgré que son contour ne soit pas lisse, mais plutôt rugueux. La chromatine est dense, cependant des zones plus intensément colorées, rappelant des particules de chromatine peuvent s'observer. Réaction de la chromatine : neutrophile.

Ces proleucocytes peuvent être très fréquents chez les abeilles adultes fraîchement écloses, ils sont plutôt rares chez les âgées.

## 2<sup>e</sup> élément : Leucocytes

Ce sont les éléments cellulaires les plus fréquents chez les abeilles de tout âge. Ils sont de formes très variables, mais facilement reconnaissables à la structure et à la colorabilité du cytoplasme et du noyau, qui changent relativement peu au cours de la vie de l'abeille. Le cytoplasme et le noyau du leucocyte s'accroissent au cours de la vie de l'abeille. La grandeur varie de 6 à 12 µ en longueur et de 4 à 8 µ en largeur (voir fig. 4).

Sur les frottis, cette cellule est usuellement ovale ou elliptique, des proliférations peu prononcées s'observent. Sous le microscope, au contraste de phase, quelques cellules montrent des proliférations cytoplasmiques que l'on pourrait supposer être des pseudopodes. In vivo ces cellules ont une forme aplatie (comme sur les frottis), tout au plus le noyau peut être un peu saillant, comme une lentille. Sur les frottis la périphérie est souvent, surtout chez les jeunes abeilles, difficilement reconnaissable; avec l'âge la délimitation devient plus nette, souvent chez les abeilles à partir du 17<sup>e</sup> jour, et notamment à partir du 22<sup>e</sup> jour une membrane fortement éosinophile peut délimiter le leucocyte. A part les cellules à proliférations cytoplasmiques, la périphérie est en général lisse ou légèrement ondulée. Ce fait se laisse mieux reconnaître chez les jeunes abeilles à l'aide du microscope au contraste de phase.

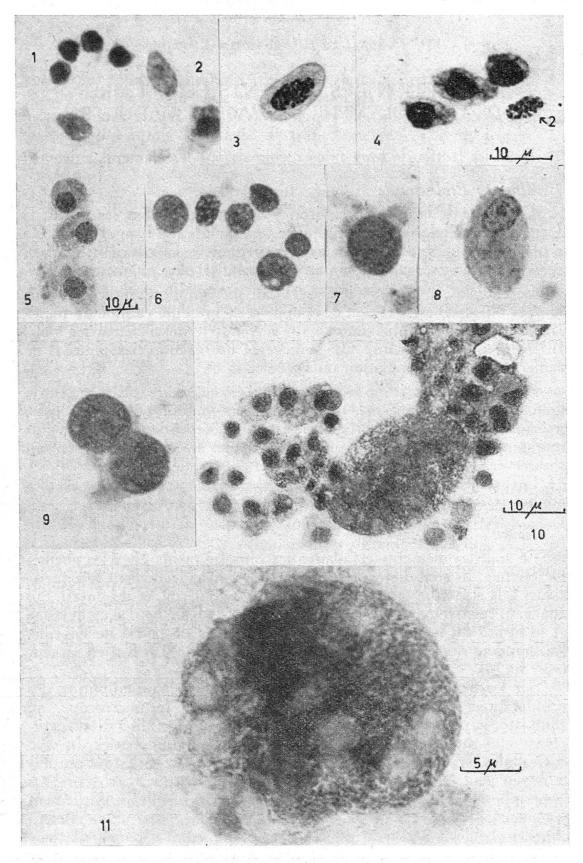


Fig. 1: Eléments cellulaires de l'abeille d'été. — 1, proleucocytes; 2, leucocytes; 3, leucocyte d'une abeille de 22 jours; 4, pycnonucléocytes; 5, œnocytoïdes avec différentes phases de démembrement du cytoplasme; 6, noyaux libres d'oenocytoïdes en train de grossir; 7, prochromatinocyte; 8, leucocyte géant; 9, prochromatinocyte-chromatinocyte; 10, chromatinocyte avec zones de différenciation; 11, gemmation de jeunes hémocytes. (A part les numéros 5 et 11, toutes les photos sont à la même échelle, comme indiqué dans 4 et 10.)

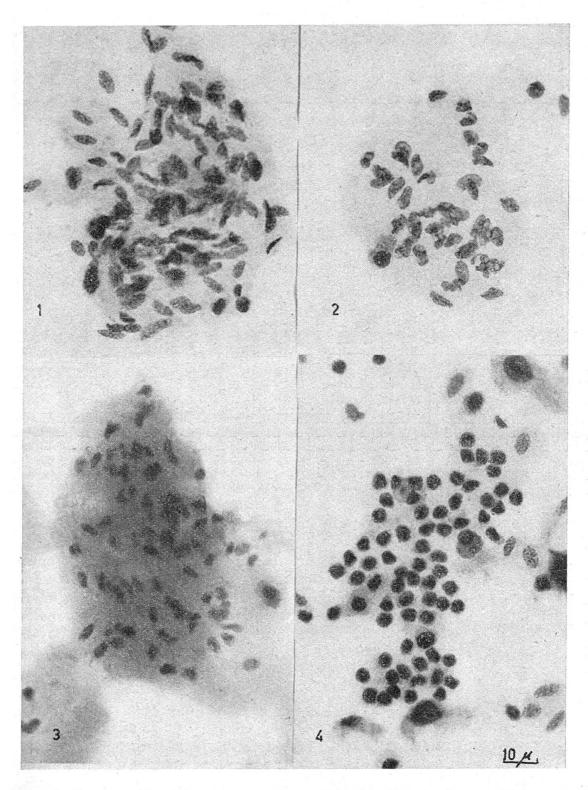


Fig. 2: Concentrations d'hémocytes. — 1, concentration mixte renfermant des leucocytes (a) et des pycnonucléocytes (b); 2, démembrement des noyaux dans une concentration d'hémocytes, se composant originairement de leucocytes; 3, concentration d'hémocytes avec condensation du substrat; 4, concentration d'hémocytes renfermant surtout des pycnonucléocytes.

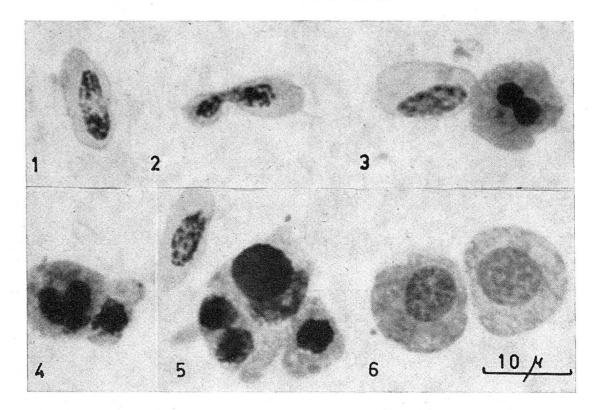


Fig. 3: Division d'hémocytes. — 1, étirement de la chromatine dans un leucocyte en train de se diviser; 2, division amitotique d'un pycnonucléocyte; 3, division amitotique simple d'un pycnonucléocyte; 4, division multiple d'un pycnonucléocyte, la matière nucléaire de tous les descendants reste pycnotique; 5, division multiple d'un pycnonucléocyte, une partie de la matière chromatique prend la structure d'un noyau de leucocyte; 6, œnocytoïdes juste après la division.

La structure du cytoplasme est homogène ou légèrement réticulée. Sur les frottis traités au Giemsa le cytoplasme ne prend que très faiblement le colorant (réaction légèrement basophile) jusqu'au 17<sup>e</sup> jour,

puis à partir du 22<sup>e</sup> jour il devient éosinophile.

Grandeur du noyau : variable : voir fig. 4. Sa forme varie, en général il s'agit de noyaux ovoïdes, qui occupent une position centrale dans la cellule. Les variations de ce type seront présentées plus loin. Le noyau se dégage nettement du cytoplasme, bien qu'une membrane nucléaire ne s'observe pas au microscope ordinaire. La chromatine apparaît en petits blocs plus ou moins séparés les uns des autres, de forme ovoïde, de bâtonnets très courts, de polyèdres allongés. Souvent on a l'impression que le grand axe de ces petits blocs est parallèle au grand axe de la cellule. D'autrefois cependant, seule une partie de ces particules de chromatine est polarisée dans le sens de cet axe, tandis que les autres prennent une autre direction, ou au contraire on observe l'absence totale d'orientation. Le nucléoplasme (stroma) entre les particules de chromatine se distingue très bien du fait qu'il prend une teinte plus rose que les premières. Lors de la condensation des particules de chromatine ce stroma prend une couleur rose à rouge plus intense (fig. 1).

## Variété du type ovale

Soulignons d'abord que dans toutes ces variétés la structure, la colorabilité du cytoplasme et du noyau n'accusent que des changements peu marqués, ce qui facilite toujours la détermination du type de cellule. Seules les formes de la cellule et de son noyau ainsi que la position de celui-ci varient.

- 1) Forme (plutôt) circulaire de la cellule et du noyau. Proportion de la cellule et du noyau dans le même rapport que pour la forme ovale typique.
- 2) Forme ovale étirée en fuseau. Le noyau s'allonge de la même manière et occupe toute la largeur de la cellule.
- 3) Souvent le noyau ne se trouve pas au centre de la cellule. Il touche par son côté long le bord correspondant de la cellule.
- 4) On observe entre une position centrale du noyau et une position excentrique toutes les transitions, et le grand axe du noyau peut former un angle plus ou moins aigu avec le grand axe de la cellule.
- 5) Forme du noyau plutôt circulaire dans une cellule elliptique.

Si nous nous trouvons devant des variations notables de la forme et de la position du noyau par rapport à la cellule, nous ne remarquons,

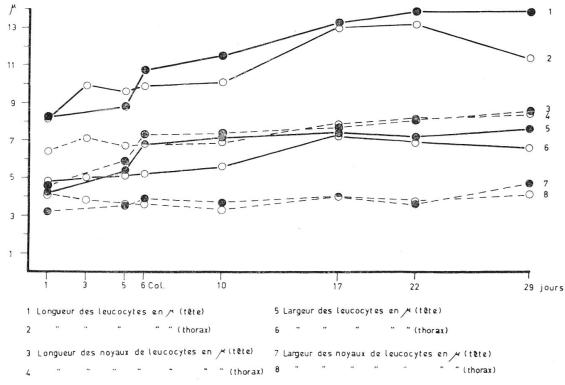


Fig. 4. — Développement des leucocytes en relation avec l'âge de l'abeille.

du moins sur les frottis, que peu de variations de la structure du cytoplasme. Notons la visibilité plus ou moins marquée de la zone extérieure du cytoplasme (souvent en fonction de l'âge, cf. plus haut), un contour ondulé ou lisse, rarement la présence de grossières proliférations rappelant des pseudopodes, et au contraste de phase, la présence de pseudopodes. Cependant nous n'avons pas encore pu établir une relation entre les leucocytes qui montrent des pseudopodes dans le contraste de phase et les hémocytes correspondants dans les frottis colorés.

### 3º élément : Pycnonucléocyte (d'après Morgenthaler 1953)

Ces cellules sont déjà plus difficiles à classer que les leucocytes. Nous avons l'impression qu'on peut mieux les déterminer si l'on considère

d'abord la structure du cytoplasme et du noyau.

Grandeur de la cellule : longueur : 6 à 20 µ; largeur : 6 à 13 µ (fig. 1). Très variable, cependant nous n'avons pas pu établir une relation positive ou négative avec l'âge de l'abeille. La forme de la cellule est aussi variable. Si l'on mesure les axes, on reconnaît qu'ils ont très souvent à peu près la même longueur. Cependant le pourtour est très irrégulier, du fait qu'il montre des renfoncements et des proliférations. La membrane n'est pas reconnaissable. Souvent la cellule a un contour net sur les frottis, mais souvent aussi le cytoplasme semble s'effriter vers le bord. Ces deux cas extrêmes peuvent s'observer sur le même hémocyte.

Contrairement aux leucocytes, le cytoplasme des pycnonucléocytes se colore intensément et montre une réaction basophile. La structure est homogène ou légèrement granuleuse. Dans le cytoplasme, on trouve souvent de petites et grandes vacuoles sans contenu apparent, ou avec un contenu cristalloïde souvent de couleur vert glacier quand il s'agit de vacuoles très grandes. Dans le cytoplasme des inclusions éosinophiles

peuvent aussi s'observer.

Grandeur du noyau: longueur: 4 à 8 µ, largeur: 3 à 5 µ. Il est toujours compact (d'où la proposition de pycnonucléocyte de MORGEN-THALER). Cependant il ne s'agit pas toujours d'une compacité uniforme, puisque l'on remarque souvent des zones prenant plus intensément le colorant. A part certaines exceptions qui seront signalées dans le chapitre sur la multiplication (p. 93), un démembrement en petits blocs de chromatine séparés distinctement les uns des autres, comme chez les leucocytes, ne s'observe jamais. La réaction du noyau est plutôt basophile (couleur bleu-violet). La position du noyau est en général excentrique, sa forme ronde ou polyédrique. Les angles peuvent être aigus ou émoussés; souvent, dans le même noyau une partie est ronde, l'autre anguleuse. Toujours le noyau se détache nettement du cytoplasme dans les frottis.

4º élément : Œnocytoïde (selon YEAGER 1945)

Grandeur de la cellule : longueur 10 à 18 µ; largeur 10 à 17 µ. Nettement plus grand que les leucocytes et les pycnonucléocytes. Sa

forme se rapproche plus ou moins du cercle. La cellule est souvent entourée par une membrane à peine perceptible. Quelquefois une partie du cytoplasme s'effrite vers le dehors. La structure du cytoplasme est uniformément finement granuleuse. De grosses inclusions manquent. De très fines vacuoles avec un contenu basophile peuvent être présentes. La réaction du cytoplasme est éosinophile; elle peut être aussi neutro-

phile avec des granules basophiles.

Grandeur du noyau : 5 à 8 µ de diamètre. Il est donc petit par rapport à la cellule, de forme arrondie ou légèrement elliptique, et toujours très distinct du cytoplasme. Il se trouve parfois au milieu de la cellule, mais plus fréquemment vers le bord. On y reconnaît toujours des particules de chromatine, comme chez les leucocytes. En général elles sont plus petites, plus émoussées, plus arrondies et beaucoup plus nombreuses que chez les leucocytes. Le nucléoplasme (stroma) prend aisément la couleur. C'est ainsi que le noyau des oenocytoïdes apparaît plus compact que celui des leucocytes, sans cependant atteindre la compacité de celui des pycnonucléocytes.

## 5<sup>e</sup> élément : Leucocytes géants (fig. 1)

On rencontre rarement un autre type de cellule, qui se distingue nettement des éléments précédents. Pour la grandeur il dépasse de loin celle des leucocytes (19 × 13,3 µ) tout en ayant certaine ressemblance avec leur forme externe. Le cytoplasme semblable à celui des leucocytes est toujours nettement délimité par une membrane. Le noyau (grandeur : 7,0 × 5,2 µ), souvent au centre, rappelle un peu par sa structure, celui des leucocytes, mais sa chromatine apparaît disloquée d'une façon extrême. Les particules de chromatine sont bien isolées les unes des autres, fortement éosinophiles. Souvent ces particules semblent être simplement insérées dans le cytoplasme, parce que le nucléoplasme manque et est remplacé par une substance qui a le même aspect que le cytoplasme.

# 6e élément : « Noyaux libres » d'hémocytes

Dans la littérature concernant le sang des abeilles ces types de cellules ne sont pas mentionnés. Cependant, nous les avons rencontrés fréquemment avec des variations selon les jours de prélèvement dans toutes les souches d'abeille examinées, même dans des abeilles de Lybie. Il s'agit d'hémocytes ne montrant qu'un noyau de grandeur variable, en général de forme arrondie, bien délimité vers l'extérieur. On peut encore y remarquer des vestiges de cytoplasme, soit sous forme d'une bordure étroite et continue, enrobant le noyau, soit plus fréquemment, sous forme de petits lambeaux irréguliers. Selon la structure de la chromatine on est enclin à attribuer ces noyaux aux catégories suivantes : leucocytes, pycnonucléocytes, œnocytoïdes. Les tableaux 2, 3 et 4 orientent sur la fréquence de ces noyaux libres. Souvent ce classement devient difficile, quand on a affaire à des types de transition qui sont

fréquents, par exemple entre leucocytes et œnocytoïdes, entre leucocytes et pycnonucléocytes, ainsi qu'entre pycnonucléocytes et œnocytoïdes, si l'on examine la structure de la chromatine, sa colorabilité, l'aspect du stroma. De même, dans certains cas, des doutes surgissent dans la distinction de ces noyaux de proleucocytes.

#### 7º et 8º éléments

Il faut signaler encore un autre type de cellule qui n'est cité chez aucun auteur, mais qui est relativement fréquent dans la majeure partie de nos frottis et dont la présence a aussi pu être mise en évidence dans les coupes d'abeilles totales. Comme nous le démontrons dans le chapitre consacré à la multiplication, nous sommes persuadés que ce type de cellule appartient indubitablement aux hémocytes et qu'il joue un très grand rôle lors de la multiplication des cellules du sang.

C'est ainsi que l'on observe souvent des noyaux d'œnocytoïdes qui se libèrent de leur cytoplasme et nagent ensuite comme « noyau libre » dans l'hémolymphe. Bientôt de tels noyaux commencent à croître de plus en plus, d'abord leur forme s'ovalise et ils atteignent entre 25 et 50 µ, leur grandeur maximale. Ces noyaux sont fortement éosinophiles ; d'après la réaction de Feulgen ils semblent en majeure partie, lors de leur développement, renfermer du nucléoplasme. Un stroma est toujours présent, il se colore moins intensément à l'éosine. Au terme de leur développement, dans la masse chromatinique apparaissent de petits îlots dont la basophilie va en s'accentuant. Dans ces zones basophiles, de petits noyaux du type leucocyte se différencient, deviennent de petits hémocytes qui sortent ensuite, souvent en petits groupes, de la cellule (d'autres détails sur ces éléments seront donnés dans le chapitre sur la multiplication des hémocytes).

Nous proposons pour ces deux éléments les noms suivants :

## 7<sup>e</sup> élément : Prochromatinocyte

Grandeur comprise entre 15 et 20 µ, forme arrondie (fig. 1). Chromatine : petits blocs de forme et grandeur variable. Le grand axe de ces particules n'a pas d'orientation particulière. Le stroma est éosinophile, mais nettement plus clair que la chromatine qui est fortement éosinophile.

## 8<sup>e</sup> élément : Chromatinocyte

Grandeur : au-delà de 25 µ, grand axe jusqu'à 50 µ (fig. 1), forme nettement allongée, ovale, souvent avec des contours ondulés très irréguliers. Chromatine : comme pour les prochromatinocytes. A la fin du développement, différentiation puis prolifération de petits leucocytes comme il a été dit plus haut.

# 9<sup>e</sup> élément : « Concentration d'hémocytes »

Si la majeure partie des éléments 1 à 8 se trouve dans les frottis comme cellules flottant librement dans l'hémolymphe, on observe cependant régulièrement, de façon plus ou moins marquée des hémocytes, s'assemblant, s'agglutinant en des syncytia. Primairement on peut déterminer aisément les catégories des cellules formant ces syncytia: il s'agit de leucocytes, de pycnonucléocytes, d'œnocytoïdes, mais rapidement la délimitation de ces cellules disparaît et la structure devient pycnotique. Les agglomérations de cellules sont un élément important du sang, on les observe in vivo, dans les frottis et dans les coupes. Il ne s'agit sûrement pas d'artefacts ou phénomènes consécutifs à des réactions pathologiques, mais d'une apparition normale dans le sang de l'abeille adulte. Il est intéressant de constater que seul Müller (1925) décrit ces agglomérations sous le terme de « Syncytium » ou « Plasmodienbildung ». Shishkin (1958) signale que l'on observe dans des larves du 8e jour des plasmatocytes du 3e stade groupés par deux à cinq cellules avec le bord externe non délimité, formant donc une espèce de « Syncytium ». En principe on peut noter deux types principaux d'agglomérations de cellules du sang :

- 1) Agglomération d'hémocytes, où la limite des cellules originales est encore partiellement reconnaissable. Les noyaux peuvent être attribués aux catégories de cellules correspondantes. Pas d'altération par rapport au sérum avoisinant. Nous les appelons concentration d'hémocytes (fig. 2).
- 2) La périphérie des hémocytes originaux n'est plus reconnaissable, le cytoplasme forme une masse amorphe. Les noyaux présentent toutes les phases de dégénérescence, ou deviennent pycnotiques. Autour de ces agglomérations et entre les noyaux on remarque toujours une zone plus ou moins étendue, qui réagit assez fortement à l'éosine. Apparemment dans ces agglomérations de cellules, il se produit des réactions intenses d'ordre métabolique et les substances formées sont déversées dans l'hémolymphe. Ce sont les concentrations d'hémocytes avec condensation du substrat (fig. 2).

A part ces deux principaux types de concentration d'hémocytes, nous trouvons en général à tout âge, sur les frottis de même que dans les coupes, des petits groupes de 4 ou 5 éléments tels que par exemple des pycnonucloécytes-œnocytoïdes et des noyaux libres.

## CRITIQUE DE LA NOMENCLATURE ET DES MÉTHODES DE RECHERCHE

Les auteurs suivants ont publié des travaux plus ou moins poussés sur la morphologie des éléments du sang : DERLOGEA (1960), MORGENTHALER (1953), FYG (1942), SHISHKIN (1957/1958, 1959) et KOSTECKI (1964/1965). Il est extrêmement difficile de comparer leurs résultats avec les nôtres du fait que chaque auteur a adopté une autre nomenclature, a

prélevé et fixé le sang d'après des méthodes tout à fait différentes, que l'âge des abeilles et les méthodes de réclusion ne coincident pas, enfin, que chaque chercheur a travaillé avec une autre race d'abeille. Par exemple, Morgenthaler (1953) immergeait les abeilles à 60° C avant de prélever le sang; lieu de prélèvement : l'abdomen. Müller (1925) prélève à une patte. Kostecki (1964) ponctionne surtout dans le sinus ventral ou dorsal. Shishkin (1959) prélève apparemment entre les segments de l'abdomen. Par contre pour colorer tous les auteurs ont travaillé avec la même méthode Giemsa.

Si l'on veut comparer les différents résultats, les premières difficultés qui surgissent concernent la nomenclature. Nous avons entrepris dans le tableau 1 un essai de comparaison des désignations des différents auteurs. Référons-nous d'abord aux éléments cellulaires 1 à 5. Personnellement, nous suivons de près la désignation de Morgenthaler (1953) qui nous paraît pour nos besoins actuels la plus claire et la plus appropriée. En ce qui concerne Müller, la désignation « Vorstadium der Leukozyten » ou « Bildungszelle » coïncide certainement avec les proleucocytes de Morgenthaler, Wille et Vecchi. Très probablement les «Kleine Rundzellen» sont aussi identiques aux proleucocytes. Les descriptions et les dessins de MÜLLER sont si vagues qu'il serait erronné de vouloir décider à quoi correspondent ses « Leucocyten ». On peut certainement admettre que nos leucocytes y sont partiellement inclus, nous avons cependant aussi l'impression que les leucocytes de MÜLLER peuvent se rapporter partiellement à nos pycnonucléocytes et œnocytoïdes. On pourrait s'imaginer que les « Kleine Rundzellen » coïncident partiellement avec nos « noyaux libres » spécialement s'il s'agit de noyaux dérivant de pycnonucléocytes.

La nomenclature de Shishkin, qui est très détaillée, nous cause encore plus de tracas. Comme il ressort du tableau 1, les classes que Shishkin a établies se répartissent entre toutes nos catégories. Comme critique, nous croyons pouvoir affirmer que cet auteur détermine arbitrairement ses classes : une fois c'est la morphologie, une autre fois la structure du cytoplasme ou du noyau, une troisième fois la grandeur de la cellule, une autre fois encore la réaction colorée qui servent de critères. Malheureusement les dessins qu'il publie (travail de 1957) sont si schématiques qu'il nous est difficile d'effectuer des comparaisons précises. Notre groupe principal d'hémocytes, les leucocytes sont synonymes des plasmatocytes de Shishkin dans sa figure 4 et sont

sûrement des platocytes des Ve, VIe et VIIe stade.

Parmi les auteurs qui ont étudié le sang des abeilles, SHISHKIN est le seul à parler de sphérulocytes, dans le sens de YEAGER (1945). Nous sommes convaincus que dans toutes les abeilles examinées par nous, il ne se trouve pas de cellules comme celles de la fig. 10 de SHISHKIN et qu'il désigne comme sphérulocyte II. Cependant d'après les dessins 11 et 12 on pourrait admettre que les sphérulocytes du III<sup>e</sup> et du IV<sup>e</sup> stade correspondent à nos pycnonucléocytes. Ce qui nous gêne cependant,

Tableau 1 Comparaison de la nomenclature des éléments cellulaires du sang de l'abeille par différents auteurs

Wille/Vecchi	Müller (1925)	Fyg 1942	Morgenthaler 1953	Shishkin 1957/1958	Коѕтескі 1964	Comparaison avec classes d'hémocytes chez <i>Prodenia</i> (YEAGER 1945)
1) Proleucocyte	« Vorstadium der Leukozyten » ou « Bildungszelle » (se rencontre spécialement chez la jeune abeille probablement les « kleine Rund- zellen », qui ne diffèrent des « Bildungszellen » que par la forme)	Eléments 1-4 c	Proleukozyt	Nymphocyte I, dessin 7 Platocyte III, dessin 19	Partiellement prohémocytes	Classe I Proleucocyte ou proleucocytoïd
2) Leucocyte	Leukozyt	de Wille/Ve	Leukozyt	Plasmatocyte III, dessin 4 Ev. nymphocyte II, dessin 8 Platocyte V, VI, VII, dessin 22–23, 25, 26–24	Hémocyte adulte	Classe IV : Plasmatocyte, part. Classe V : Podocyte
3) Pycnonucléocyte	Partiellement sous la désignation de « Leukozyt »	/Vессні = Blutkörperchen	Pyknonucleozyt	Sphérulocyte IV, dessin 12 Plasmatocyte V, dessin 6 Sphérulocyte III, dessin 11	Prohémocyte !	Part. Classe IX: Eruptive cells
4) Œnocytoïde	Partiellement sous la désignation de « Leukozyt »		<b>?</b>	Ev. oenocytoïde II, dessin 14 Enocytoïde III, dessin 15 Les ordres de grandeur ne jouent pas	Pas de photo typique, év. compris dans les hémocytes adultes	Classe III : Œnocytoïde (œnocyte-like cells)
5) Leucocyte géant	3	chen	Non mentionné	2	Non mentionné	* 3
6) Noyaux libres	Probablement partiellement « kleine Rundzellen »		Non mentionnés	5	Non mentionnés	Part. Classe IX: Eruptive cells
7) Prochromatinocyte	Non mentionné		Non mentionné	Non mentionné	Non mentionné	
8) Chromatinocyte	Non mentionné	_	Non mentionné	Non mentionné	Non mentionné	
9) Concentration d'hémocytes	« Plasmodienbildung »		Non mentionnée	Non mentionnée	Non mentionnée	Mentionnée chez Prodenia

(Œnocyte de MÜLLER 78,5–124,7 μlang 31,9–102,7 μlang) c'est la grandeur du sphérulocyte du IIIe stade, comparé avec les platocytes des fig. 22-23-26. Si l'on ne tient pas compte des relations de grandeur, l'œnocyte du IIe et du IIIe stade pourrait coïncider à nos œnocytoïdes.

Kostecki (1964) se restreint dans sa nomenclature à deux types de cellules : les préhémocytes et les hémocytes adultes. Les préhémocytes sont en partie identiques à nos proleucocytes, cependant sa description (p. 167) : « Stades intermédiaires (aussi sous la catégorie de prohémocytes) mesurant 10,7 à 13,6 µ, ovales, ou ronds, ayant un cytoplasme se colorant bien. Le cytoplasme est souvent homogène avec des vacuoles bien visibles, ou il contient des granulations absorbant les bases, le novau prend une intense couleur bleu foncé-violet », s'adapte extrêmement bien à nos pycnonucléocytes. D'après ses descriptions et photos, son deuxième groupe, les hémocytes adultes, renfermeraient nos leucocytes, nos œnocytoïdes et nos éléments 5. YEAGER (1945) a effectué un travail très approfondi sur la morphologie des hémocytes de Prodenia. Il répartit les éléments cellulaires du sang en dix classes. Il nous a paru d'un certain intérêt d'essayer d'établir si entre les classes de YEAGER et notre classification on trouverait une certaine coıncidence (voir tableau 1). Indubitablement nos proleucocytes correspondent à la classe I de YEAGER (proleucocytes ou prohémacytoïdes), nos leucocytes aux plasmatocytes (classe IV). D'après un travail inédit de Weaver et Walker (communication personnelle de M<sup>11e</sup> Dr Walker) la classe V « podocyte » de YEAGER correspondrait partiellement à nos leucocytes. Nos œnocytoïdes pourraient être regardés comme identiques à la classe III « œnocytoïdes ». De nouveau, nous sommes dans le doute pour la correspondance de nos pycnonucléocytes. Nous avons l'impression qu'on pourrait les affilier partiellement à la classe IX « eruptive cells »; de même une partie de nos noyaux libres pourrait entrer dans cette classes. Les classes suivantes de YEAGER manquent chez l'abeille adulte : classe VI « vermiform cells », classe VII « cytocytes ». La classe VIII, les « sphéroïdocytes » posent un problème : Tandis que Shishkin prétend les avoir décelés, les quatre autres auteurs, de même que nous, n'ont jamais trouvé des éléments sanguins ressemblant à des sphéroïdocytes typiques au sens de YEAGER.

Si l'on peut à l'aide des dessins et des descriptions établir jusqu'à un certain point la synonymie des éléments 1 à 5 et partiellement 6, nous fûmes plus qu'étonnés du fait que les concentrations des hémocytes ne soient pas signalées par Fyg, Shishkin, Morgenthaler et Kostecki, malgré qu'il s'agisse ici d'une apparition relativement fréquente. Seul MÜLLER les décrit avec précision. Comme nous l'expliquerons dans le chapitre prochain, dans l'apparition de ces concentrations d'hémocytes on peut enregistrer une certaine périodicité, qui semble être en étroite relation avec certains états physiologiques de l'abeille. Les auteurs précités qui n'ont travaillé qu'avec des abeilles, d'un âge souvent mal défini, n'avaient donc pas remarqué ces agglomérations.

De même les cinq auteurs n'ont jamais fait allusion à l'existence des « chromatinocytes ». Comme il ressort des tableaux 2, 3 et 4 ces éléments cellulaires ne semblent pas être soumis à un cycle évolutif prononcé. C'est pourquoi nous ne pouvons pas nous expliquer pour quelles raisons ces cellules ne furent pas signalées par ces auteurs.

Nous renonçons à aller plus en détail dans les questions de nomenclature pour la simple raison que nous sommes convaincus, après l'étude de centaines de préparations, que les éléments 1-9 ne peuvent pas être attribués à des classes rigides, ce qui renfermerait en soi l'hypothèse que ces cellules doivent garder une forme primaire fixe pendant toute leur vie, mais que nous avons affaire à des transformations, des évolutions d'un type à l'autre au cours de la vie de l'abeille adulte. Il nous semble en plus que nous n'avons pas seulement le développement dans

Tableau 2: Eléments cellulaires du sang de l'abeille, série Li<sub>62</sub>

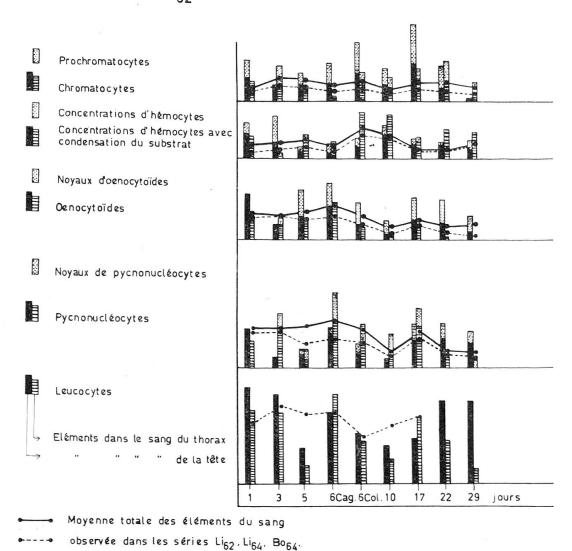
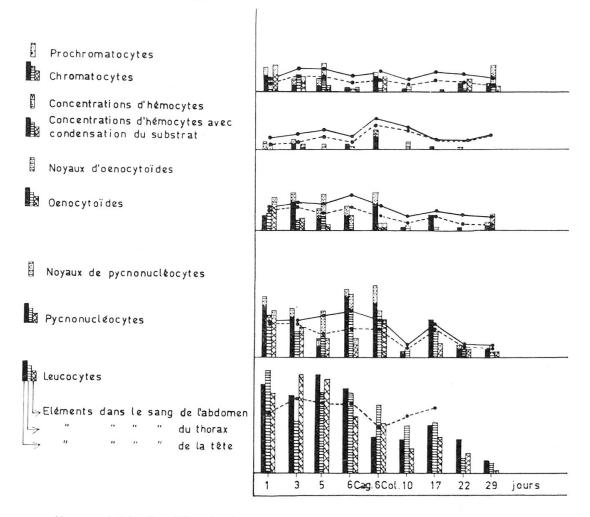


Tableau 3: Eléments cellulaires du sang de l'abeille, série Li 64



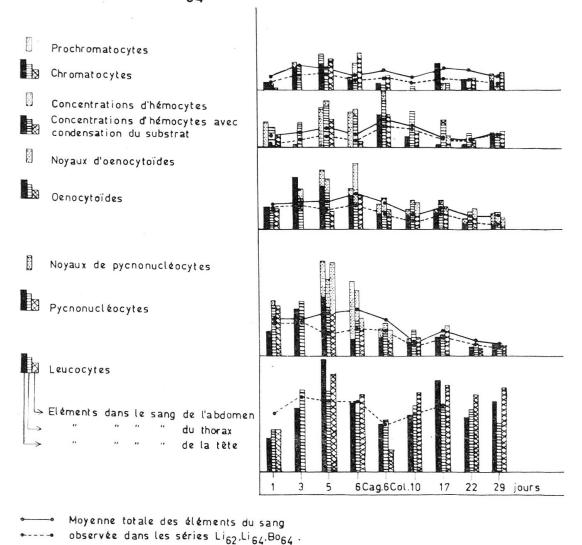
----- Moyenne totale des éléments du sang

---- observée dans les séries Li62, Li64, Bo64.

une direction à partir d'un type initial, par exemple proleucocyte à un type terminal, mais que chaque type peut de lui-même donner naissance à un autre cycle évolutif (cf. chapitre sur les cycles évolutifs des éléments cellulaires du sang, p. 90).

On pourrait encore se demander si l'on ne devrait pas remplacer notre terme « leucocyte » par celui de « plasmatocyte » au sens de YEAGER, ou, d'après la proposition de WALKER, par celui de « lamellocyte ». La critique que nous venons de faire montre qu'une telle solution ne paraît pas indiquée pour le moment et nous employerons les termes proposés plus haut.

Tableau 4: Eléments cellulaires du sang de l'abeille, série Bo 64



# POSITION DES DIFFÉRENTS ÉLÉMENTS CELLULAIRES DANS L'HÉMOLYMPHE

Pour déterminer cette position nous avons indépendemment l'un de l'autre, apprécié le nombre relatif des éléments du sang prélevé dans la tête, le thorax et l'abdomen dans les séries de Liebefeld 1962 (= Li<sub>62</sub>), Bologne 1964 (= Bo<sub>64</sub>) et Liebefeld 1964 (= Li<sub>64</sub>). Pour chaque jour d'observation ces appréciations se rapportent à 10 abeilles. On a établi un système de notes où par exemple 5 signifie un nombre très élevé et 0 l'absence complète de tel type de cellule. Pour chaque jour d'observation, pour chaque élément cellulaire prélevé dans les différentes parties

du corps, on a calculé la moyenne de la note correspondante. Les résultats de ces études figurent in extenso dans les tableaux 2, 3 et 4. En plus, à titre comparatif, nous avons tiré la moyenne pour chaque élément, en additionnant les notes pour les prélèvements correspondants du sang de la tête, du thorax et de l'abdomen ensemble (courbes dans les tableaux 2, 3 et 4).

### Présentation des résultats

De l'étude de ces trois tableaux il ressort au premier coup d'œil qu'il existe une modification continue dans la fréquence des différents éléments cellulaires. Pour le détail, nous faisons les observations suivantes :

### a) Leucocytes:

- 1) Le nombre de leucocytes libres n'est pas constant au cours de la vie de l'abeille.
- 2) Un maximum peu marqué est atteint entre le 3e et le 5e jour. Si l'on considère cependant les nombreuses formes de transition, entre proleucocytes et leucocytes qui sont difficiles à attribuer avec justesse à tel ou tel élément cellulaire, on doit admettre que le maximum des leucocytes, ou plus exactement des cellules se transformant rapidement en leucocytes, est déjà atteint lorsque l'abeille éclot.

Cependant entre le 3<sup>e</sup> et le 6<sup>e</sup> jour on remarque dans les trois séries des fluctuations sensibles dans le nombre des leucocytes (par exemple

 $Li_{62}$ ).

- 3) Une différence nette qui s'observe dans les trois séries se produit le 6<sup>e</sup> jour. Tandis que pour les abeilles gardées en cagette, la moyenne du nombre des leucocytes le 6<sup>e</sup> jour ne montre pas un grand écart avec celle des jours précédents, cette moyenne diminue sensiblement dans les abeilles élevées six jours en colonie. Cette diminution des leucocytes s'observe aussi pour le sang prélevé dans les trois parties du corps.
- 4) Dans les séries Li<sub>62</sub> et Li<sub>64</sub> le nombre de leucocytes décroit jusqu'au 10<sup>e</sup> jour, tandis que dans Bo<sub>64</sub> on remarque une recrudescence.
- 5) Au 17<sup>e</sup> jour ce nombre se relève un peu pour les séries Bo<sub>64</sub> et Li<sub>64</sub> déjà depuis le 6<sup>e</sup> jour, tandis que pour Li<sub>62</sub> ce chiffre est très nettement supérieur à celui du 10<sup>e</sup> jour.
- 6) A partir du 17<sup>e</sup> jour les relations ne sont plus si nettes, parce que dans les séries Bo<sub>64</sub> et Li<sub>64</sub> certaines apparitions pathologiques s'y ajoutent. Les relations semblent être les plus significatives pour Li<sub>62</sub>. Le nombre des leucocytes dans la tête atteint environ le même chiffre qu'aux premiers jours, celui des leucocytes du thorax est nettement réduit. Donc pour la moyenne de ces deux parties du corps une diminution du nombre des leucocytes est à retenir. Pour la série Bo<sub>64</sub> l'appréciation est devenue difficile du fait que de très nombreux noyaux libres

(ou munis d'une très étroite zone de cytoplasme) qu'il est difficile d'attribuer soit aux proleucocytes soit à des noyaux libres de leucocytes ou même aux noyaux libres de pycnonucléocytes y interfèrent. Nous avons pour cette raison renoncé à donner les moyennes globales pour les leucocytes des jours 22 et 29.

Nous sommes persuadés que le rapide déclin du nombre des leucocytes dans Li<sub>64</sub> est dû à des altérations maladives des abeilles analysées (cf. chapitre sur les cycles évolutifs des éléments cellulaires du sang, p. 90).

## b) Pycnonucléocytes:

Le nombre de ces cellules est toujours nettement inférieur à celui des leucocytes, puis, si l'on ne considère que les pycnonucléocytes typiques, les fluctuations sont moins prononcées que chez les premiers. Cependant, si l'on y ajoute les noyaux libres de pycnonucléocytes des oscillations sensibles en résultent. On observe un léger abaissement du nombre de pycnonucléocytes du 1<sup>er</sup> au 6<sup>e</sup> jour; pendant ce temps la décroissance semble accentuée entre le 3<sup>e</sup> et le 5<sup>e</sup> jour (cf. la dépression pour Li<sub>62</sub> et Li<sub>64</sub> au 5<sup>e</sup> jour). La disparition des pycnonucléocytes devient encore plus nette après le 6<sup>e</sup> jour, le nombre de ces cellules atteint son minimum le 10<sup>e</sup> jour. Puis de nouveau on enregistre une augmentation de pycnonucléocytes dans les trois séries au 17<sup>e</sup> jour, suivie d'une sensible diminution au 22<sup>e</sup> et au 29<sup>e</sup> jour.

La courbe calculée de la moyenne du nombre total des pycnonucléocytes additionnée à celui des « noyaux libres » de pycnonucléocytes est parallèle à celle des pycnonucléocytes lors des deux premiers jours et aux trois derniers. Un écart considérable se produit au 5<sup>e</sup> et au 6<sup>e</sup> jour, qui s'explique du fait que dans Li<sub>62</sub> (au 6<sup>e</sup> jour) et dans Bo<sub>64</sub> (au 5<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup>) un nombre très élevé de noyaux libres appartenant à la catégorie des pycnonucléocytes fait son apparition dans l'hémolymphe.

Comme pour les leucocytes nous trouvons ici de nouveau de grands écarts dans la fréquence des pycnonucléocytes prélevés le même jour dans les différentes parties du corps sans qu'on puisse dire qu'ils excèdent régulièrement dans une partie ou qu'ils soient en diminution dans une autre (cf. tableaux 2, 3 et 4).

# c) Enocytoïdes:

En nombre ils sont un peu inférieurs aux pycnonucléocytes. Ils suivent en principe le même mouvement que les pycnonucléocytes. Un nombre relativement élevé de « noyaux libres » d'œnocytoïdes s'observe aussi le 5<sup>e</sup> et le 6<sup>e</sup> jour. De nouveau le minimum de la fréquence pour cette catégorie de cellules est atteint au 10<sup>e</sup> jour.

# d) Concentration d'hémocytes:

Contrairement aux courbes de fréquence des éléments cellulaires 2 à 4, celle des concentrations d'hémocytes est juste l'inverse. C'est-

à-dire, en moyenne du 1<sup>er</sup> au 6<sup>e</sup> jour pour les abeilles placées en cagette et à partir du 17<sup>e</sup> ce nombre est restreint. Pour toutes les séries une nette recrudescence s'ensuit par contre au 6<sup>e</sup> jour pour les abeilles vivant dans les colonies, et 10<sup>e</sup> jour. De nouveau on remarque pour ces concentrations de sensibles fluctuations suivant que le sang a été prélevé de telle ou telle partie du corps, sans qu'on puisse cependant déduire une règle. Toutefois pour les abeilles élevées en colonie, le 6<sup>e</sup> et le 10<sup>e</sup> jour on a l'impression que les concentrations sont fréquentes surtout dans le sang du thorax.

## e) Chromatinocytes et prochromatinocytes:

En général, les courbes de cette catégorie ont un aspect assez régulièrement horizontal, avec un léger minimum le 10e jour pour les trois séries. De nouveau, on observe de sensibles variations suivant le lieu de prélèvement.

## Quelques remarques critiques

### a) Dénombrement de cellules :

Nous avons renoncé à faire les dénombrements exacts des différents éléments cellulaires de l'hémolymphe effectués par d'autres auteurs pour les raisons suivantes :

D'abord il y a de nettes différences concernant le volume du sang qui dépend du lieu de prélèvement et surtout de l'âge de l'abeille, en ce sens qu'avec l'âge, le volume du sang qui se laisse prélever sans presser l'abeille diminue. Pour éviter de trop graves erreurs dans nos études nous nous sommes efforcés de prendre toujours à peu près le même volume de sang jugé d'après la hauteur du liquide dans le capillaire.

Ensuite d'autres problèmes résultant de ces études de frottis nous ont incité à faire des études sur l'hémolymphe in situ à l'aide de coupes histologiques. Des grandes séries que nous avons déjà à notre disposition il ressort que les différents éléments cellulaires du sang sont souvent en si étroite relation avec différents organes du corps de l'abeille, par exemple avec l'appareil respiratoire, le corps adipeux, la musculature, les glandes, l'intérieur du cœur, que nous sommes persuadés qu'avec le capillaire on n'arrive à extraire qu'une partie des éléments cellulaires présents au moment du contrôle. Donc toute tentative de calculer le nombre exact de cellules dans un certain volume de sang prélevé ne conduirait qu'à des données fictives et cet état de chose entraîne quelques réflexions. La similitude des courbes indiquées dans les tableaux 2, 3 et 4 pour un matériel bien hétérogène laisse entrevoir que ces résultats au point de vue relatif peuvent être considérés comme vraisemblables et que de nouveaux essais donneraient des résultats comparables.

### b) Résultats vraisemblables :

Lors de la présentation de l'évolution des différents éléments cellulaires au cours de la vie de l'abeille, nous avons fait allusion à la nette différence concernant le nombre des leucocytes au 6e jour pour les abeilles élevées en cagette et en colonie normale en ce sens que les leucocytes, les pycnonucléocytes et les œnocytoïdes sont moins fréquents au 6e jour pour les abeilles vivant en colonie. D'autre part le nombre des concentrations de cellules est à ce jour en nette augmentation. Ce résultat illustre de nouveau les différences d'ordre anatomique et physiologique avec lesquelles on a affaire chez des abeilles maintenues en cagette et des abeilles du même âge se trouvant dans des colonies normales et pouvant voler librement.

Si nous poursuivons l'évolution des différents éléments du sang entre le 6e et le 17e jour nous nous apercevons que la diminution des leucocytes, des pycnonucléocytes et des oenocytoïdes et partiellement des chromatocytes est apparemment en étroite relation avec l'augmentation marquée des concentrations d'hémocytes, sans ou avec condensation du substrat avoisinant. Comme nous l'avons déjà expliqué dans le chapitre sur la description des éléments cellulaires, on peut déterminer, lorsque les hémocytes commencent à s'agréger, leur appartenance aux différentes catégories. Ce sont avant tout les leucocytes qui y participent, suivis par les pycnonucléocytes et les œnocytoïdes. Nous croyons pouvoir admettre que la diminution des éléments libres précités et l'apparition de concentrations d'hémocytes s'explique de la manière suivante : A partir du 6e jour pour des abeilles vivant en colonie normale, jusqu'au moins au 10e jour, pour des raisons d'ordre physiologique, les cellules libres (év. aussi noyaux libres) ont la tendance à se réunir en assemblages plus ou moins étendus renfermant quelquefois jusqu'à des centaines de cellules. Bientôt après le premier contact, le cytoplasme commence à perdre sa structure originale, les délimitations externes des hémocytes se perdent, la forme des noyaux devient tout à fait irrégulière, leur structure devient pycnotique, au fur et à mesure une zone fortement éosinophile se manifeste et s'accroît vers l'extérieur. Dans cette zone on ne trouve bientôt que des vestiges de noyaux.

L'abeille dans une colonie normale assume des fonctions de nourricière du 6<sup>e</sup> au 13<sup>e</sup> jour environ. On peut se demander si ces changements nets de l'apparition de l'hémolymphe ne sont pas en relation directe avec le rôle de l'abeille. Il nous semble que dans les concentrations d'hémocytes se déroulent des réactions de métabolisme remarquables. Il serait maintenant intéressant d'élucider la nature de ces phénomènes et de rechercher, si pendant ces jours l'hémolymphe elle-même montre des changements chimiques (proportion des hydrates de carbone, des proteines, spectres des acides aminés, etc.).

Si le nombre des pycnonucléocytes, des chromatinocytes et des concentrations d'hémocytes a tendance à baisser du 20e jour au 29e (d'autres remarques seront faites à ce point de vue pour les leucocytes) sans changements fondamentaux, plus tard, à partir du 40° jour, les cellules se font souvent très rares dans une partie des abeilles, alors que dans d'autres l'apparition de l'hémolymphe n'accuse que peu de changement comparé au 29° jour. Entre autre, ces différences pourraient être en relation avec le fait que chez les abeilles d'été très âgées on a souvent grand-peine à prélever le sang.

On doit encore retenir ici qu'à partir du 22<sup>e</sup> jour une certaine modification se manifeste chez les leucocytes. Le cytoplasme qui auparavant était peu coloré, dont la périphérie était difficile à définir sans l'aide du microscope au contraste de phase, devient nettement éosinophile, la périphérie étant délimitée par une étroite bordure fortement

éosinophile.

### c) Résultats non assurés

Si dans les lignes précédentes nous avons communiqué les résultats nous paraissant avec une grande probabilité certains, nous ajouterons dans la partie suivante des remarques sur des observations qui nous semblent d'un certain intérêt, mais qu'il faudra encore examiner dans d'autres essais.

Dans la série Li<sub>62</sub> nous avons prélevé le sang de la tête et du thorax. Les grandes variations rencontrées lors du même jour de contrôle au point de vue du nombre et des types de cellules entre l'hémolymphe prélevé de la tête et du thorax nous ont incités d'étudier en plus le sang

de l'abdomen dans les séries Bo<sub>64</sub> et Li<sub>64</sub>.

Cependant comme nous l'avons déjà noté dans les lignes précédentes nous ne pouvons pas encore affirmer si certains types de cellules abondent certains jours plus dans une partie du corps que dans l'autre. Par exemple, le renversement observé pour la fréquence des leucocytes de Li<sub>62</sub> du 17<sup>e</sup> au 22<sup>e</sup> et accentué au 29<sup>e</sup> jour ne se manifeste pas dans Bo<sub>64</sub> et Li<sub>64</sub>. De semblables différences sont retenues dans les tableaux 2, 3 et 4. Il est permis d'objecter que certainement le temps compté en jours ne correspond pas toujours à l'âge physiologique de l'abeille, qui dépend fortement des différents travaux qu'elle a dû assumer. Donc on doit admettre que les dates des contrôles dans les trois essais peuvent laisser encore de grands écarts quant à l'âge physiologique de l'abeille. Cependant toutes ces variations nous amènent aux questions suivantes :

- 1) Dans quel laps de temps ces variations se déroulent-elles?
- 2) Comment peuvent s'expliquer ces grandes variations notées dans toutes les séries qui cependant ne coïncident pas?
- 3) Est-ce qu'un renversement des proportions d'un type de cellule suivant le lieu de prélèvement est constant pour une certaine souche dans une certaine année?
- 4) Où faut-il établir la limite entre un état « normal » et un état « anormal » ou « pathologique » ?

D'après les résultats des tableaux 2, 3 et 4 nous sommes autorisés à admettre une grande variation du nombre de cellules des différentes catégories prélevées en différentes parties du corps de l'abeille à certains jours. Apparemment ces variations dans la proportion des cellules se déroulent dans un temps relativement court. On pourrait presque être enclin à parler d'un changement dynamique de composition du sang. Au premier abord il semble que dans l'ensemble des trois séries le changement le plus prononcé se produit lors des dix premiers jours de l'abeille, qu'à partir du 17e jour les altérations sont plus égalisées. On doit cependant objecter qu'à partir de ce 17e jour les intervalles entre les prélèvements sont plus grands, pendant lesquels des oscillations plus marquées ont peut-être eu lieu. La proportion extrême des leucocytes de la tête et du thorax pour Li<sub>62</sub> apporte quelque probabilité à cette hypothèse.

En ce qui concerne la troisième question, les observations sont encore trop peu nombreuses pour tirer des conclusions. On pourrait remarquer pour Bo64 que le nombre total de cellules nous paraissait plus élevé que dans Li<sub>62/64</sub>; en plus Bo<sub>64</sub> excelle en ce sens que dès les premiers jours ainsi qu'à partir du 17e jour (très nettement au 22e et au 29e) nous avons trouvé en plus des éléments 2 à 7 un nombre très élevé de noyaux libres qu'il était difficile d'attribuer à une certaine catégorie d'hémocytes. C'était des noyaux du type proleucoleucocytes, éventuellement des pycnonucléocytes. A l'avenir nous devrons contrôler si cette apparition est habituelle chez l'Apis ligustica, ou si nous avons affaire dans le cas de Bo64 à des symptômes pathologiques. Cette hypothèse a une certaine vraisemblance puisque nous avons décelé dans beaucoup d'abeilles une infection bactérienne plus ou moins latente.

Cette observation nous mène à la dernière question. Au cours de nos longues expériences avec les diverses anomalies et maladies du sang nous avons toujours constaté qu'il existe de grandes différences entre le sang d'une abeille de colonies productives et saines et celui d'abeilles de colonies débiles. Nous sommes certains que la disparition de tous les types de cellules dans Li<sub>64</sub> à partir du 17e jour est en étroite relation avec une Rickettsiose dans la colonie. Dans une autre publication nous reviendrons en détail sur les différences existant dans la composition

du sang de colonies normales et de colonies débiles.

# CYCLES ÉVOLUTIFS DES ÉLÉMENTS CELLULAIRES DU SANG

Lors de l'étude de centaines de frottis de sang, la présence d'éléments cellulaires typiques à côté de formes de transition, une certaine périodicité dans l'apparition des différents éléments du sang ont fait surgir l'hypothèse que les hémocytes peuvent se transformer d'un type en un autre, que nous nous trouvons en face de différents cycles évolutifs chez ces cellules, qui sont expliqués par la fig. 5. Nous avons relié avec des lignes ininterrompues les cycles probables, avec des lignes inter-

rompues les cycles hypothétiques.

Indubitablement, nous avons raison d'admettre qu'au moins une partie des proleucocytes donne naissance à de jeunes leucocytes ronds, qui, comme nous l'avons exposé p. 71, sont plus fréquents chez les très jeunes abeilles. A partir de ces formes, se développent les leucocytes ovales avec la délimitation périphérique du cytoplasme à peine perceptible. Avec l'âge de l'abeille, ces derniers s'altèrent de plus en plus

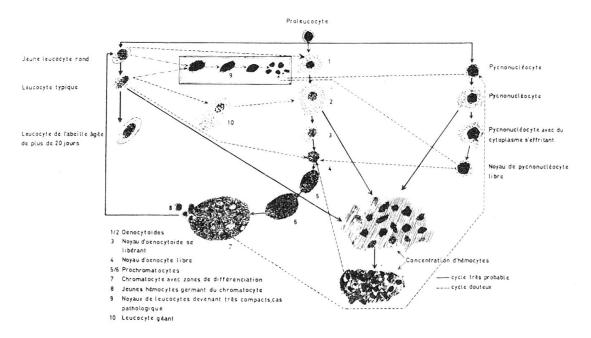


Fig. 5. — Cycles évolutifs des éléments du sang de l'abeille d'été.

pour aboutir à des leucocytes avec membrane nette, fortement éosinophile. D'après nos observations de frottis, nous pouvons affirmer que leur nombre diminue avec l'âge de l'abeille, sans qu'on puisse cependant constater chez l'abeille saine un démembrement, une désagrégation ou une sorte d'autolyse de la cellule. La variation du nombre de leucocytes et la décroissance vers la fin de la vie de l'abeille sont très probablement dues au fait que les hémocytes peuvent s'accumuler autour de différents organes. Nous avons vérifié ce fait par des coupes histologiques d'abeille. D'après nos recherches, moins systématiques chez l'abeille d'hiver, il semble que le total des leucocytes qui sont assez fréquents pendant tout l'hiver, et le total des autres types d'hémocytes, qui manquent presque complètement, s'accroît de nouveau vers la fin de l'hiver, quand les abeilles recommencent à élever du couvain. Shishkin (1957) fait allusion à une semblable observation pour les abeilles du même âge.

Tandis que le leucocyte mûr de l'abeille d'été âgée peut être considéré comme une forme finale, les leucocytes ovales typiques (y compris les variétés relatives à la position du noyau) peuvent s'assembler en des concentrations d'hémocytes, souvent avec d'autres éléments cellulaires. Rappelons-nous que nous observons ici la disparition de la délimitation des cellules, l'altération de la structure du noyau et la dissolution du cytoplasme. A la fin de ce processus il reste des petits blocs de chromatine. Nous n'arrivons pas encore à décider si cette matière chromatinique est de nouveau incorporée dans les prochromatinocytes lors de leur évolution en chromatinocytes.

Une autre ligne de développement plus hypothétique concerne les leucocytes géants. Ce type de cellules est très rare. En considérant la totalité de nos préparations, nous avons l'impression qu'on arrive sans peine à poursuivre une ligne de transition depuis le leucocyte typique jusqu'au leucocyte géant et au-delà vers l'œnocytoïde. Toutefois la rareté de ces leucocytes géants et la présence relativement fréquente des œnocytoïdes nous incitent à admettre que ce processus de différen-

ciation ne peut pas être considéré comme la règle.

En nous basant sur les frottis de sang nous voyons, à part la remarque précitée, deux possibilités de développement, la première aurait comme origine de nouveau un proleucocyte qui ne se laisserait pas différencier du point de vue morphologique et de là, pas à pas, en ligne directe se développerait l'oenocytoïde. La deuxième possibilité, qui d'après nous est encore plus probable, serait la suivante : Passage du proleucocyte à un jeune leucocyte rond, puis à un leucocyte ovale, ensuite accroissement et altération de la structure du cytoplasme en direction de l'œnocytoïde.

A partir de l'œnocytoïde nous disposons de nouveau, dans la majeure partie des frottis, de toutes les formes de transition vers un développement ultérieur. En général, quand l'œnocytoïde a atteint sa grandeur maximale, le cytoplasme commence à s'effriter et le noyau à se libérer. Puis flottant librement dans le sang, ce noyau commence à grandir tout en gardant d'abord sa forme ronde ou légèrement ovale : sans peu de changement il garde la structure de la chromatine. C'est ainsi qu'il se développe en prochromatinocyte et de là en chromatinocyte de forme ovale, mais souvent avec un contour tout à fait irrégulier. Nous avons aussi remarqué, cependant dans des cas plutôt rares, que le cytoplasme pouvait disparaître autour du noyau d'un leucocyte typique. On peut ainsi se demander s'il n'y a pas aussi une ligne de développement à partir d'un noyau libre de leucocyte en direction du prochromatocyte.

Sans aucun doute, des hémocytes se différencient dans les chromatinocytes « mûrs ». Au stade de leur gemmation ils sont à considérer du point de vue morphologique comme intermédiaires entre proleucocytes

et jeunes leucocytes (fig. 1).

Pour ce qui concerne les pycnonucléocytes nous avons des raisons d'admettre qu'ils sont également originaires de proleucocytes. Comme

nous avons indiqué dans le chapitre précédent, ces cellules à noyau pycnotique et irrégulier semblent être fréquentes avant le 20e jour. Il est hors de doute que ces cellules participent aussi aux concentrations d'hémocytes. Selon quelques frottis nous avons l'impression que certains pycnonucléocytes arrivant au terme de leur développement, semblent être en dissolution; leur cytoplasme disparaît, le noyau se partage en plusieurs blocs de chromatine. Là aussi on peut se demander si la chromatine libérée lors de cette dissolution cellulaire et celle provenant des concentrations d'hémocytes n'est pas de nouveau employée à réapprovisionner les prochromatinocytes et les chromatinocytes. D'après nos observations faites sur les frottis de sang nous n'osons pas décider si les jeunes hémocytes provenant des chromatinocytes se développent uniquement en leucocytes ou s'ils ont au moins partiellement la possibilité de se différencier directement en pycnonucléocytes. Dans un chapitre suivant nous ferons encore quelques remarques au sujet d'autres possibilités de différenciation des éléments cellulaires chez l'abeille adulte.

A la fin de ce chapitre nous ferons quelques remarques sur la composition du sang dans des cas pathologiques, que nous reprendrons plus en détail dans un travail ultérieur.

Nous tenons à retenir ici que l'apparition d'un nombre élevé de leucocytes avec un noyau plus ou moins pycnotique ou avec une chromatine qui prend une apparence grasse, du fait que les petits blocs de chromatine s'étirent de tous les côtés et commencent à fusionner, se manifeste souvent chez les abeilles élevées dans des colonies qui souffrent de différentes affections. L'apparition fréquente de noyaux libres, provenant originairement de leucocytes, avec chromatine très condensée et éosinophile (au contraire de la chromatine des pycnonucléocytes) est également un symptôme très suspect de diverses affections. Dans de tels cas très typiques on ne trouve pas ou que très rarement d'autres hémocytes et surtout des leucocytes à l'aspect normal. Il va de soi, que dans des cas de transition, il est souvent délicat de décider si les blocs de chromatine flottant librement dans le sang sont à considérer comme étant une apparition pathologique, provenant de la décomposition anormale des noyaux pycnotiques, des leucocytes ou s'il s'agit d'un phénomène normal, transitoire, se rapprochant du démembrement des noyaux des pycnonucléocytes.

# LA MULTIPLICATION DES ÉLÉMENTS CELLULAIRES DU SANG

En étudiant la littérature nous nous trouvons en face d'une controverse au sujet de la multiplication des hémocytes. C'est ainsi que la question de savoir si le nombre d'hémocytes reste constant au cours de la vie de l'abeille adulte est loin d'être tranchée malgré les travaux de

Kostecki (1965) et Shishkin (1957-1958). Comme nous l'avons déjà signalé plus haut, ces auteurs n'ont pas tenu compte du fait qu'une partie seulement des hémocytes est capturée lors de la prise du sang, tandis que l'autre adhère plus ou moins étroitement à différents organes : cœur, muscles, glandes, corps adipeux, etc. (observations dans toutes les séries de coupes histologiques d'abeilles de différents âges, selon Vecchi, cf. travaux ultérieurs). De plus, différents types de cellules peuvent s'agglomérer en des concentrations d'hémocytes, plus ou moins étendues (cf. p. 78), qui se désagrègent totalement avec lyse des cellules. Ces faits rendent tout dénombrement des hémocytes plus qu'incertain et malgré cette remarque les nombreuses expériences que nous avons faites ne nous donnent pas de réponses à ce problème. C'est ainsi que nous ne savons pas si ce sont toujours les mêmes hémocytes qui adhèrent aux organes ou si nous avons affaire à un changement constant ou périodique entre formes flottantes et formes sédentaires, si les cycles esquissés dans la figure 2 et le chapitre précédent sont alimentés par un nombre originairement fixe d'hémocytes, ou si lors de ces cycles des pertes sensibles s'ensuivent, qui doivent être de nouveau compensées par l'apport de jeunes hémocytes provenant des centres de multiplication. Tous ces facteurs seraient donc en mesure d'expliquer les fluctuations du nombre des différents types de cellules lors de la vie de l'abeille. Certainement l'abeille a plusieurs possibilités pour multiplier le nombre de ces hémocytes. En tenant compte des observations sur les frottis, nous en pouvons envisager deux:

- 1) Division de la cellule même par voie amitotique ou éventuellement mitotique.
- 2) Multiplication par la voie des chromatinocytes.
- 1) Il faut en premier lieu relever que ces divisions de cellules sont rares chez l'abeille adulte. Nous les avons observées occasionnellement, sans que nous ayons pu fixer une relation avec un âge déterminé. Les leucocytes, les œnocytoïdes et les pycnonucléocytes peuvent être sujets à une multiplication par division de la cellule.

Leucocyte (fig. 3): Lors de la division le noyau commence à s'étirer le long du grand axe vers les extrémités de la cellule, il prend une forme ressemblant à une haltère, les petits blocs de chromatine émigrent vers les deux parties renflées. A ce moment, la cellule commence à se rétrécir le long du petit axe. Notons que souvent avant ce rétrécissement un certain nombre de petits blocs de chromatine restent isolés dans l'ancienne zone du noyau et ne sont plus incorporés lorsque la cellule s'est partagée. Dans des cas encore plus exceptionnels la division se fait non le long du petit axe, mais du grand axe de la cellule. Si la division typique de la cellule laissait entrevoir la possibilité d'une division mitotique, les autres cas font penser à une division simplement amitotique.

Enocytoïdes (fig. 3): Chez ces cellules la division se fait par voie amitotique, le noyau commence à se rétrécir, puis à se séparer, on trouve ainsi assez fréquemment deux noyaux bien distincts dans l'œnocytoïde, puis le cytoplasme se partage.

Pycnonucléocytes (fig. 3): Nous nous trouvons ici devant des cas plus complexes. D'après l'interprétation de Morgenthaler (1953) ce type de cellules serait un stade final, parce que ces cellules sont plus fréquentes chez les abeilles d'hiver. N'ayant pas fait des recherches approfondies pour cette catégorie d'abeilles nous ne sommes pas en mesure de confirmer ou de contester cette constatation. D'après nos observations ce type de cellules serait extrêmement rare chez les abeilles d'hiver prélevées de décembre à la fin février. A partir de ce moment il augmenterait. Chez les abeilles d'été nous sommes sûrs que le nombre de ces cellules diminue au cours de la vie de l'abeille (cf. tableaux 2, 3, 4). Nous pensons comme Morgenthaler qu'il ne s'agit pas ici de cellules mortes, mais d'hémocytes qui sont bien capables de se multiplier par division. Ces divisions de pycnonucléocytes nous semblent être relativement les plus fréquentes parmi les trois types de cellules étudiés. Deux autres observations nous incitent à relever ici que les pycnonucléocytes sont des cellules actives qui jouent un rôle important dans les premiers vingt jours de l'abeille adulte : l'incorporation fréquente dans les «concentrations d'hémocytes» et les diverses possibilités de multiplication par division. Nous observons les systèmes suivants :

- a) Division de la cellule par étranglement du noyau et du cytoplasme, suivi par la séparation des deux fractions plus ou moins égales, dont chacune donne naissance à un nouveau pycnonucléocyte.
- b) Dans le noyau, différenciation ou bourgeonnement caryotique pycnotique en trois ou quatre zones. Ces fractions ainsi formées se dégagent de plus en plus, émigrent dans le cytoplasme, qui finalement se sépare aussi. C'est ainsi que 3-4 nouveaux pycnonucléocytes sont formés.
- c) Processus en principe semblable à celui de b (fig. 3). Mais au lieu que toutes les zones caryotiques qui se dégagent du noyau primaire soient uniformément pycnotiques, une zone prend dès le début de la différenciation l'aspect de la matière chromatinique typique du noyau de leucocyte. Etant donné qu'il s'agit ici d'un phénomène rare, nous ne possédons aucune notion des éléments cellulaires qui se développent de ces dernières fractions. Ces observations sur les modes de division des hémocytes nous démontrent sûrement que la matière caryotique de l'abeille doit être extrêmement plastique et peut probablement s'adapter rapidement à toute nouvelle exigence.
- 2) Cependant nous sommes persuadés que la multiplication des hémocytes par division de la cellule même ne joue qu'un rôle accessoire. A juger d'après les frottis nous devons attribuer une importance plus

grande à la multiplication des cellules du sang par la voie des chromatinocytes. Cette hypothèse est encore renforcée par le fait que dans certains cas pathologiques (Rickettsiose) le nombre d'hémocytes et surtout de leucocytes augmente d'abord, puis baisse considérablement, tandis que des prochromatinocytes et des chromatinocytes apparaissent en grand nombre. On est en droit de conclure de ces observations de frottis qu'après la perte des hémocytes, l'abeille a la tendance de renouveler son stock d'hémocytes par la voie des chromatinocytes. L'agent pathogène entrant alors dans une phase très active, les chromatinocytes sont détruits, avant qu'ils arrivent à produire une nouvelle génération d'hémocytes. Dans tous ces cas pathologiques aucune multiplication

par la division directe de la cellule ne peut être observée.

Si la multiplication des cellules par voie des chromatinocytes semble prédominer dans les frottis, l'examen des coupes montre qu'il existe encore d'autres possibilités de multiplication des hémocytes. Par exemple les cellules géantes à grand noyau pycnotique situées surtout dans le thorax et la tête, et qui produisent activement de jeunes hémocytes du type de proleucocytes chez l'abeille âgée de quelques jours, ainsi que tissus conjonctifs (cf. LAZARENKO, 1925). En plus il semble que des perspectives fascinantes se dégagent si l'on étudie le corps adipeux des nymphes ainsi que des abeilles adultes en relation avec les éléments cellulaires du sang. Nous envisageons de traiter ces nouvelles perspectives dans des publications ultérieures. A la lumière de ces hypothèses nouvelles le problème se pose à nouveau de savoir si chaque type de cellule provient d'un organe de multiplication déterminé ou si ces organes de multiplication donnent naissance à des prohémocytes en somme non déterminés d'où se développeraient suivant les besoins de l'organisme les différents types de cellules de sang cités plus haut.

# RÉSUMÉ

On a étudié dans le présent travail les composants cellulaires du sang de l'abeille adulte d'été. Les résultats ont été obtenus avec la méthode des frottis et se rapportent à l'hémolymphe prélevée dans la tête, le

thorax et l'abdomen d'abeilles de races et d'âges différents.

Les divers éléments cellulaires du sang sont décrits, la nomenclature adoptée est comparée à celle des autres auteurs. Comme éléments nouveaux les prochromatinocytes et les chromatinocytes sont présentés. Ils jouent un rôle important lors de la multiplication des hémocytes (fig. 1). Le rassemblement temporaire de certains éléments cellulaires en des « concentrations d'hémocytes » est apparemment en étroite relation avec des réactions du métabolisme.

Suivant l'âge de l'abeille la proportion des différents types de cellules montre une certaine variabilité. Par exemple entre le 6<sup>e</sup> et le 10<sup>e</sup> jour le nombre de cellules libres diminue nettement, tandis que celui de

« concentrations d'hémocytes » est en augmentation (tableaux 2, 3, 4).

Les variations dans la fréquence des différents éléments du sang et les nombreuses formes de transition toujours présentes suggèrent divers cycles évolutifs des hémocytes (fig. 5).

Le problème des possibilités de renouvellement des hémocytes est discuté. La multiplication de ces cellules par voie amitotique est rare, les chromatinocytes par contre se revèlent comme un des centres de formation des hémocytes.

#### **BIBLIOGRAPHIE**

Derlogea, M., 1960. Hemolinfa albinei melifere. Apicultura 33: 8-11.

Fyg, W., 1942. Das Bienenblut. Schweiz. Bienenztg. NF 75: 120-122.

Kostecki, R., 1964. Eléments anatomiques de l'hémolymphe des abeilles (Apis mellifica L.). Bull. apic. VII: 151-179.

 1965. Investigation on the haemocytes and haemolymph of honeybees. J. Apicult. Res. 4: 49-54.

LAZARENKO, T., 1925. Beiträge zur vergleichenden Anatomie des Blutes und des Bindegewebes. II. Die morphologische Bedeutung der Blut- und Bindegewebselemente der Insekten. Z. mikr. anat. Forsch. 3: 409–499.

Morgenthaler, P. W., 1953. Blutuntersuchungen bei Bienen. Mitt. Schweiz. Entomol. Ges. 26: 245–257.

Müller, K., 1925. Über die korpusculären Elemente der Blutflüssigkeit bei der erwachsenen Honigbiene (Apis mellifica L.). Erlanger Jb. f. Bienenkunde 3: 5–27.

Shishkin, B. A., 1957, 1958, 1959. Factors affecting the haemolymph of honeybees. Uchen. Zap. buryat. pedagog. inst. 12: 63-88, 15: 141-162, 17: 191-211.

YEAGER, J. F., 1954. The blood picture of the southern Armyworm (Prodenia evidania). J. Agr. Res. 71: 1-40.