

Étude sur l'hémolymphe de l'abeille adulte (*Apis mellifica*, L.), troisième partie : observations ultrastructurales sur deux éléments cellulaires

Autor(en): **Vecchi, M.A. / Bragaglia, M.M. / Wille, Hans**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft =
Bulletin de la Société Entomologique Suisse = Journal of the
Swiss Entomological Society**

Band (Jahr): **45 (1972)**

Heft 4

PDF erstellt am: **05.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-401691>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

ETUDE SUR L'HEMOLYMPHE DE L'ABEILLE ADULTE (*APIS MELLIFICA*, L.), TROISIEME PARTIE: OBSERVATIONS ULTRASTRUCTURALES SUR DEUX ELEMENTS CELLULAIRES.

M. A. VECCHI

Istituto di Apicoltura, Via S. Giacomo, Bologna

M. M. BRAGAGLIA*

Centre de Microscopie Electronique de l'Université de Bologne

HANS WILLE

Eidg. Forschungsanstalt, Bienenabteilung, 3097 Liebefeld-Bern

Nous avons étudié l'ultrastructure de deux types de cellules de l'hémolymphe de l'abeille adulte. A côté des composants cellulaires classiques nous avons précisé l'observation de structures particulières. Ces études soutiennent nos hypothèses émises dans deux publications antérieures: les cellules du type leucocyte, flottant librement, ont une activité métabolique réduite, tandis que nombreuses structures particulières des hémocytes ronds (probablement pycnonucléocytes) mettent en évidence des processus métaboliques intenses.

L'hémolymphe de l'abeille contient différents éléments cellulaires dont la morphologie a été étudiée par divers auteurs. A l'aide du microscope optique ils ont examiné lors de recherches plus ou moins détaillées ces éléments sur des frottis ou des coupes histologiques. En ce qui concerne l'examen critique des nomenclatures utilisées pour définir les différentes formes d'hémocytes décrites par ces auteurs, nous renvoyons aux travaux originaux, en particulier au travail de GUPTA (1969) et à notre publication (WILLE et VECCHI, 1966) où nous avons comparé les différentes définitions au tableau 1 p. 80.

Après l'examen microscopique des éléments cellulaires de l'hémolymphe que nous avons fait précédemment (WILLE et VECCHI, 1966, VECCHI et WILLE, 1971) il était indiqué de poursuivre nos recherches par des observations ultrastructurales. Dans la publication de 1971 nous avons discuté la nécessité de tels examens. Dans la présente note nous nous occuperons en premier lieu de l'ultrastructure des leucocytes, éléments cellulaires de l'hémolymphe les plus fréquents présents tout au long de la vie de l'abeille adulte.

1. Matériel et méthode

Comme matériel d'étude nous avons pris des abeilles adultes (*Apis mellifica ligustica*) de 3 classes d'âge différentes: 1 jour, 12 à 16 jours et 4 à 5 mois, (celles-ci récoltées à la fin de l'hivernage). Ces abeilles provenaient d'une colonie bien équilibrée, toujours bien approvisionnée, ayant des surfaces de couvain compactes pendant la période active.

Nous avons prélevé l'hémolymphe en employant diverses techniques. La plupart du temps la gouttelette d'hémolymphe a été aspirée à l'aide d'une micro-

* La partie expérimentale de ce travail a été exécutée au Centre de Microscopie Electronique de l'Université de Bologne.

pipette dans la partie postérieure de la tête, puis immédiatement plongée dans une goutte de glutaraldéhyde froid à 2,5 % dans un tampon de 0,067 M de cacodylate (pH 7,2) contenant 0,3 M de saccharose.

Dans quelques essais nous avons mélangé juste au moment du prélèvement l'hémolymphe à une solution physiologique (BISHOP et Coll. 1925) et l'avons ensuite centrifugée pendant 10 à 15 minutes à 0 °C. Puis nous avons transféré le culot dans une goutte de glutaraldéhyde. Dans d'autres essais nous avons immergé les abeilles dans le glutaraldéhyde à 2,5 % pendant 15 à 30 minutes entre 0 et 4 °C avant d'aspirer l'hémolymphe.

Les diverses techniques de prélèvement n'ont pas provoqué de différences substantielles dans l'ultrastructure des éléments cellulaires. L'hémolymphe a été fixée chaque fois avec du glutaraldéhyde pendant 1 1/2 h. Après cette fixation le mince film d'hémolymphe obtenu a été lavé plusieurs fois pendant 4 à 14 heures dans un tampon de 0,067 de cacodylate contenant 0,3 M de saccharose, puis postfixé au tétroxyde d'osmium à 1 % dans un tampon d'acétate de véronal. Nous avons ensuite procédé à la déshydratation dans la série des alcools et à l'imprégnation à l'acétate d'uranyle. Finalement nous avons inclus les objets à l'araldite. Nous avons fait les coupes à l'ultramicrotome LKB et les avons contrastées aux sels de plomb selon la technique de Millonig (1961). Nous avons tiré de tous les objets des coupes ultrafines et des coupes semi-fines de 0,5 μ d'épaisseur. Après coloration au bleu de toluidine nous avons examiné ces dernières au microscope optique. Cet examen préalable nous a facilité le choix des éléments sur lesquels nous entendions faire les premières observations sub-microscopiques qui ont été effectuées au microscope électronique Siemens Elmiskop I.

2. Observations ultrastructurales

Parmi les différentes formes d'hémocytes décelées nous avons étudié celles que l'observation des coupes semi-fines permettait déjà d'attribuer aux leucocytes. En général ceux que nous avons observés dans les divers prélèvements ont une forme allongée. A cette forme correspond un noyau étiré d'assez grande dimension et situé d'habitude en position médiane (fig. 1). Dans le noyau contenant généralement un nucléole bien visible, la chromatine est normalement distribuée en glomérules plus ou moins volumineux et le plus souvent adossés à la membrane nucléaire.

Le cytoplasme, dans lequel les organelles cellulaires sont peu nombreux, n'est relativement abondant que dans les deux zones apicales de la cellule. On y remarque un petit nombre de mitochondries de petite et moyenne dimension, contenant une matrice plutôt dense. Le réseau endoplasmique paraît très pauvre et sa connection avec le noyau n'est pas ou à peine décelable. Les ribosomes libres sont très nombreux, groupés en chaînes et en rosettes sur toute la surface cytoplasmique (fig. 2a). L'appareil de Golgi paraît constitué de citernes peu dilatées.

Les structures classiques constituant le patrimoine normal de chaque cellule sont donc présentes mais en quantité restreinte. En plus de cela les leucocytes examinés contiennent au moins trois structures particulières, morphologiquement bien distinctes mais peut-être liées entre elles par des relations ontogéniques. Il s'agit de vacuoles, de globules et de microtubules (fig. 2a, 2b).

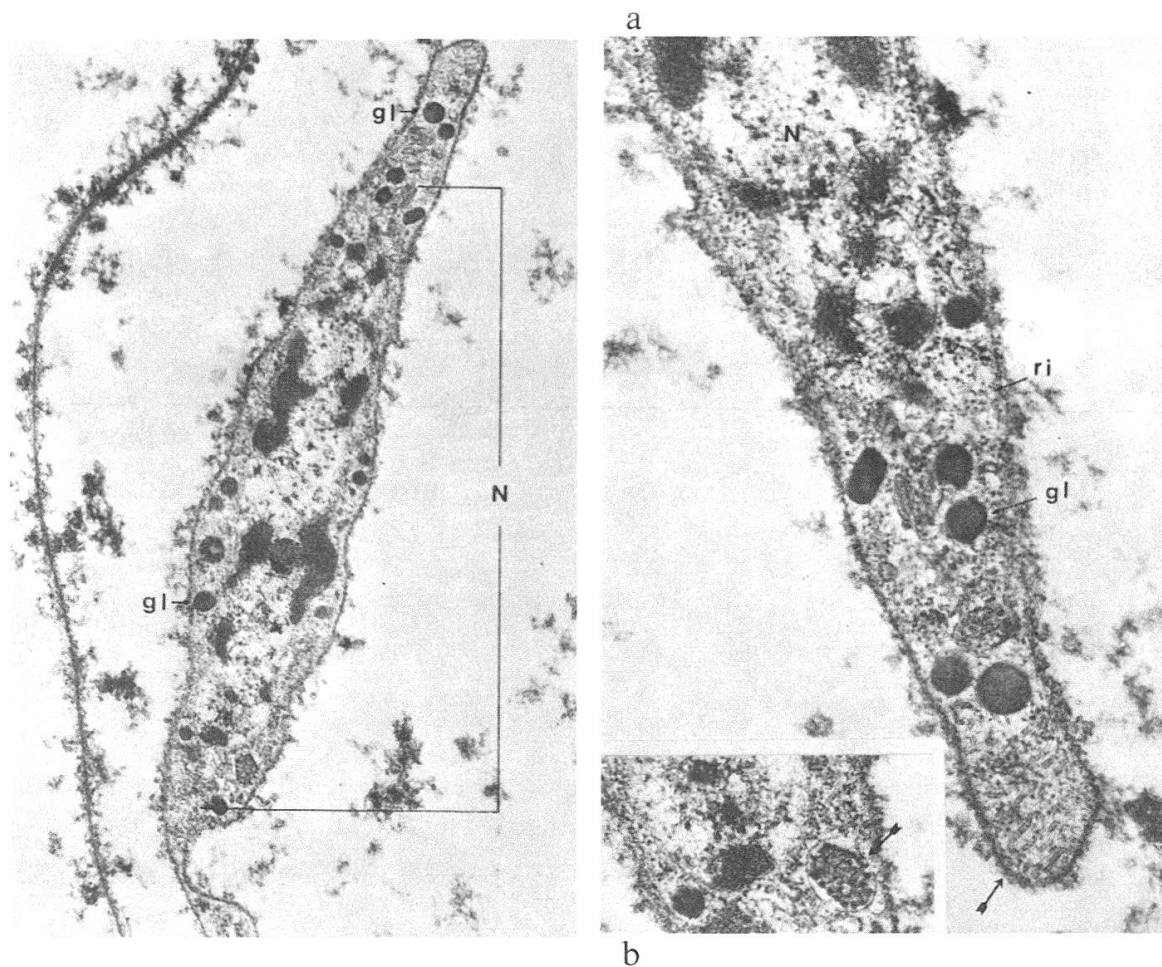


Fig. 1. Leucocyte d'abeille d'été. Extension du noyau (N). Nombreux globules (gl), très peu perméables aux électrons, de taille variable, répartis dans le cytoplasme. Grossissement 8 500 x.

Fig. 2. Détails du leucocyte de la fig. 1. a) Le cytoplasme, riche en ribosomes (ri) libres, renferme des vacuoles et des globules (gl) denses. On remarque aussi, dans la région apicale de la cellule, des microtubules (flèche). Gr. 19000 x. b) Vacuole contenant des éléments denses et ronds (flèche). Gr. 19000 x.

Les vacuoles, délimitées par une membrane plus ou moins nette et dense, paraissent être vides ou contenir une substance amorphe de perméabilité électronique variable. Dans d'autres vacuoles, généralement arrondies ou ovales, la matrice morphologiquement semblable à la précédente, est formée par des éléments beaucoup plus denses, ronds, d'un diamètre compris entre 150–250 Å (fig. 2a et 2b).

Tous les leucocytes examinés contiennent ensuite d'autres globules fortement osmiophiles, plus nombreux que les précédents; on peut en compter jusqu'à 20 dans un seul champ d'observation. Ils sont en général arrondis, de dimension variable atteignant en moyenne $0,2\mu$ de diamètre. Ces globules sont entourés d'une membrane à une couche. Leur densité n'est pas toujours régulière. Dans ceux qui ont encore une certaine transparence il est possible de distinguer des zones plus ou moins osmiophiles. D'autres sont au contraire absolument opaques (fig. 2a).

On observe enfin dans les leucocytes des formations tubulaires (diamètre d'un microtubule 150–200 Å, fig. 2a).

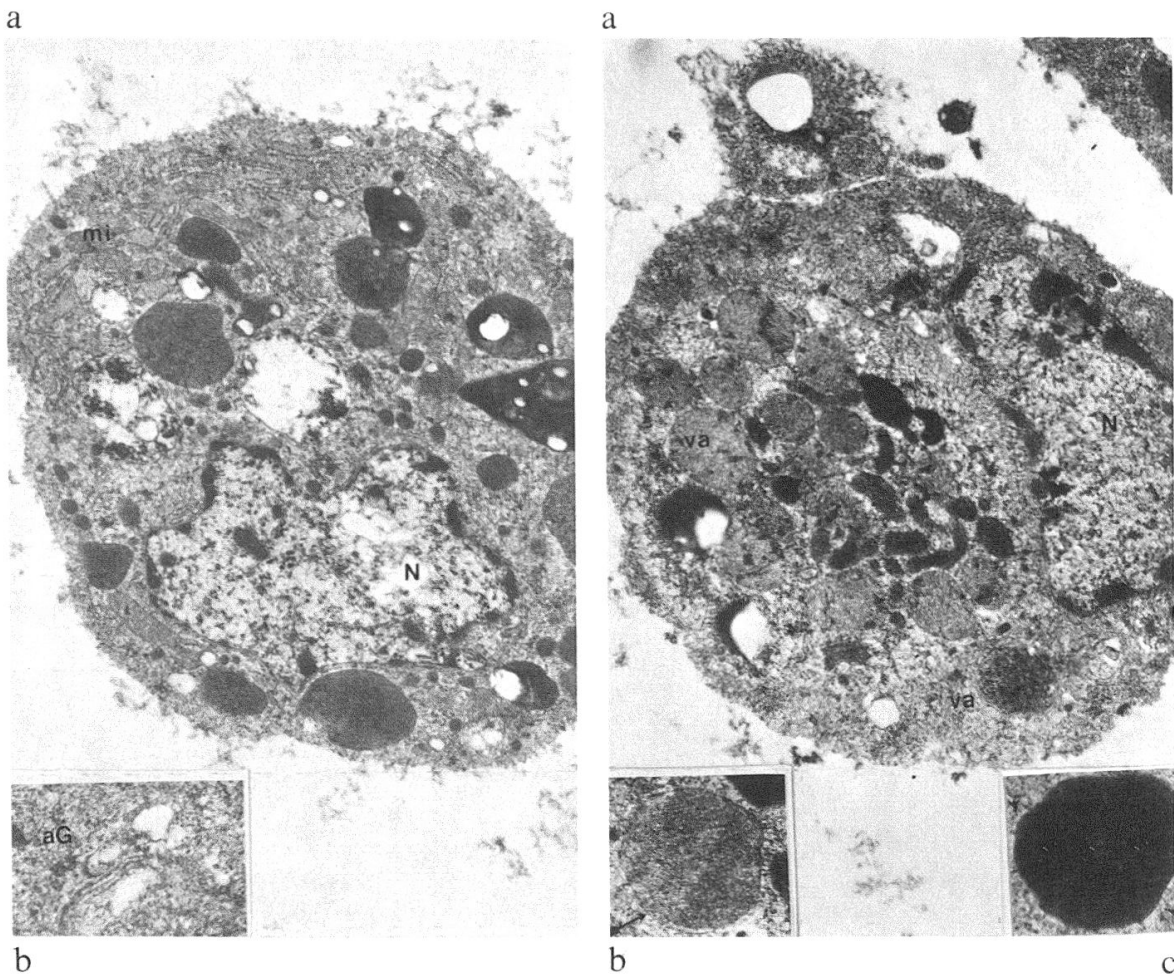


Fig. 3. Hémocytes d'abeille d'été (év. picnonucléocytes). a) Dans cette cellule, outre le noyau (N), on observe des ribosomes libres, des mitochondries (mi) et un ergastoplasme bien visible. Gr. 8000 x. b) Appareil de Golgi (aG). Gr. 20000 x.

Fig. 4. Hémocytes d'abeille d'été (év. picnonucléocytes). a) Au sein du cytoplasme on observe de nombreuses vacuoles (va) avec des granules très osmiophiles. Gr. 11000 x. b) Vacuole qui, à l'intérieur d'une membrane à une couche (flèche), contient une substance granuleuse moyennement perméable aux électrons. Gr. 15000 x. c) Gros globule non structuré, presque imperméable aux électrons et entouré d'une membrane à une couche (flèche). Gr. 20000 x.

Leur paroi modérément opaque semble avoir une épaisseur de 30–40 Å environ. Elles sont distribuées dans le cytoplasme sans localisation précise; dans plusieurs coupes elles s'étendent sur presque toute la longueur de la cellule. Fréquemment elles ont une position rectiligne surtout dans la zone centrale de l'hémocyte, le long du noyau. Ces microtubules sont aussi souvent disposés en agrégats de très petites dimensions.

Sous l'angle morphologique, les modifications plus ou moins importantes qui interviennent lors de la sénescence du leucocyte ne semblent pas tant bouleverser la structure des différents globules mais plutôt toucher la cellule dans son ensemble. Toutefois les globules les plus opaques peuvent prendre au cours de cette altération une forme irrégulière voir anguleuse.

A côté des cellules du type leucocyte que nous venons de décrire, nous en avons observé d'autres en général de forme arrondie, beaucoup plus riches en cytoplasme (fig. 3a, 4, 5). Leur noyau volumineux peut paraître lobé, sa chromatine essentiellement disposée en glomérules à la périphérie. Les

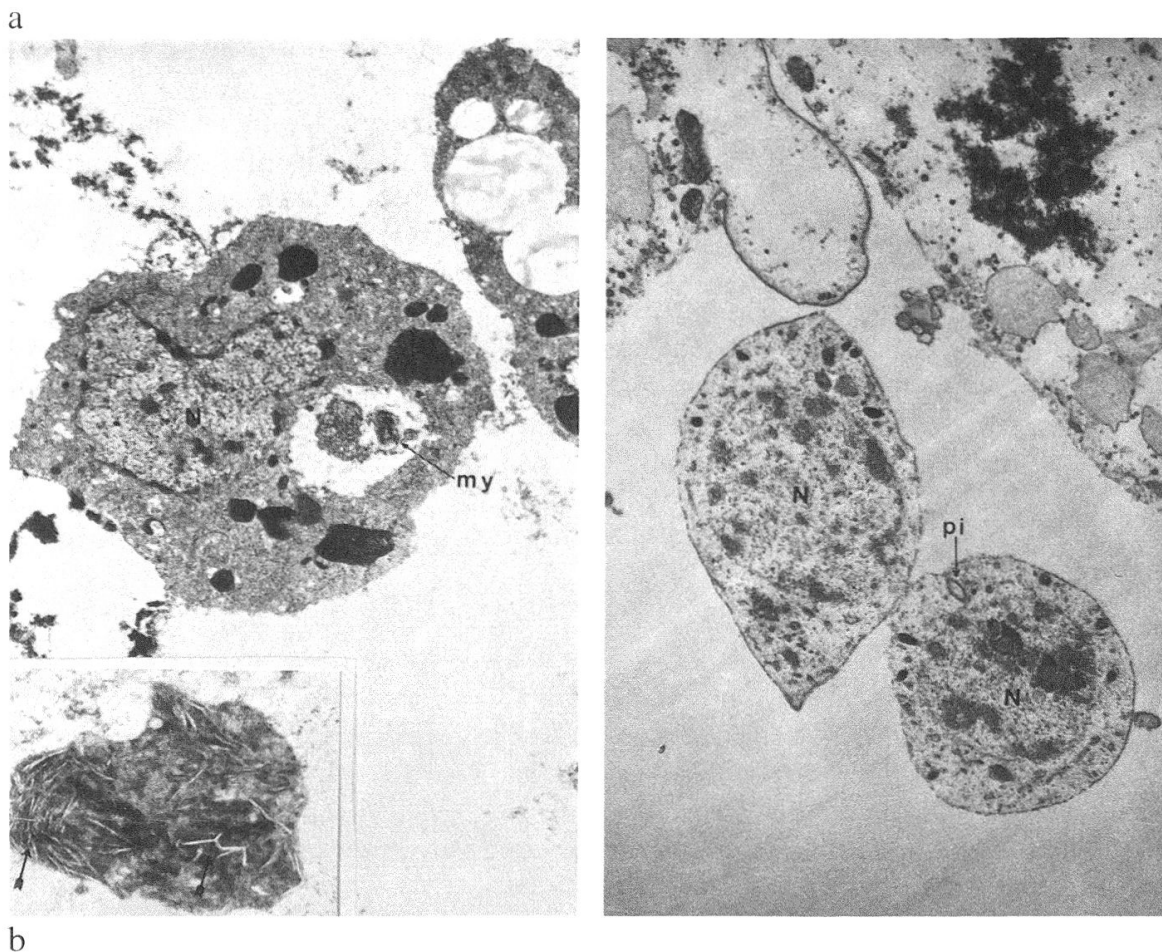


Fig. 5. Hémocytes d'abeille d'été. a) On constate que le cytoplasme contient de nombreuses vacuoles ou des formations myéliniques (my). Gr. 6000 x. b) Inclusion à structures cristallines (flèches). Gr. 18000 x.

Fig. 6. Jeunes cellules de nymphe (év. pro-hémocytes – proleucocytes) de la région du «scutellum». Au niveau de la membrane cytoplasmique on peut observer une vésicule probablement de pinocytose (pi). Gr. 6500 x.

nucléoles sont souvent bien évidents. Dans le cytoplasme, beaucoup plus abondant que celui des cellules du type leucocyte, on distingue facilement un plus grand nombre d'organelles. Les mitochondries, parfois nombreuses, apparaissent isolément ou par groupes; elles sont en général de dimension moyenne et ont une matrice plutôt dense (fig. 3a). L'ergastoplasme est assez développé et il prend la forme d'éléments allongés parfois très rapprochés de la membrane nucléaire et parallèles à celle-ci (fig. 3a, 4). Les ribosomes libres, également très nombreux, sont isolés ou disposés en chaînes ou en rosettes. Il est en outre facile de voir dans ces cellules l'appareil de Golgi dont les citernes plus ou moins dilatées sont claires ou contiennent une substance légèrement opaque (fig. 3d).

A côté des composants cellulaires classiques on relève constamment dans ces hémocytes aussi des structures particulières. Nombre de ces formations sont morphologiquement semblables à celles que nous avons observées dans les leucocytes bien que les vacuoles et les globules de ce second groupe d'hémocytes atteignent des proportions bien plus grandes.

Les vacuoles dont le diamètre varie de 0,2 à 1 μ sont bien plus fréquentes que chez les leucocytes où on ne les observe qu'occasionnellement. Elles sont

délimitées par une membrane à une couche et contiennent une substance finement granuleuse de densité moyenne (fig. 3a, 4a, 4b, 4c).

Dans un seul champ d'observation on peut compter parfois neuf ou dix vacuoles de ce type à côté d'autres où des granules fortement osmiophiles apparaissent sur un fond peu opaque (fig. 4a). On rencontre aussi des globules d'une densité élevée et uniforme de taille moyenne à grande (0,8 à 1 μ de diamètre) et délimités par une membrane à une couche (fig. 4c), ainsi que des formations tubulaires isolées distribuées dans le cytoplasme sans localisation précise.

Certaines cellules présentant des signes évidents de dégénérescence (cytoplasme fortement vacuolisé, figures myéliniques remarquables) contiennent des inclusions de dimensions encore plus grandes (fig. 5a). Elles aussi ont une densité élevée et renferment des structures cristallines (fig. 5b). On est tenté de croire qu'elles représentent le stade évolutif final des quelques structures que nous venons de décrire.

3. Discussion

Nos observations ne se rapportent qu'à deux formes cellulaires parmi celles dont les examens normaux ont démontré la présence dans l'hémolymphe des abeilles adultes. Leur étude ultrastructurale mène à différentes considérations et soulève des problèmes complexes qui ne peuvent trouver ici qu'une explication partielle.

Nous avons pu mettre en évidence, dans les deux formes d'hémocytes observés, des ultrastructures qui présentent des analogies avec celles des hémocytes d'autres arthropodes (BAERWALD + BOUSH, 1970, DEVAUCHELLE, 1971, DUMONT et al., 1966, GRIMSTONE et al., 1967, HARPAZ et al., 1969, HOFFMANN, 1966 et 1966, HOFFMANN et al., 1968, SMITH, 1968, STANG-VOSS, 1970). Ce sont particulièrement des vacuoles, des globules denses, des globules structurés et des microtubules.

Ces derniers, que nous avons rencontrés surtout dans les cellules du type leucocyte, semblent moins nombreux que dans les hémocytes d'autres arthropodes.

Les hypothèses émises sur l'origine et le rôle des différentes structures observées conservent leur valeur (BAERWALD + BOUSH, 1970, BEAULATON, 1968, DEVAUCHELLE, 1971, GUPTA, 1969, HOFFMANN, 1966 b, STANG-VOSS, 1970); selon ces hypothèses une transformation progressive fait évoluer ces structures, dont l'origine serait golgienne ou lysosomale, d'une forme à l'autre. D'une manière générale en effet, les différences morphologiques relevées entre les structures que nous avons décrites et que l'on distingue parfois difficilement entre elles nous poussent à croire que tous ces types d'inclusions ne sont que les divers stades physiologiques d'un processus catabolique ou anabolique en cours. Les deux formes d'hémocytes se trouveraient à des niveaux différents de tels processus.

En ce qui concerne les cellules du type leucocyte, on a constaté la même pauvreté en éléments cytoplasmiques et la présence constante des mêmes structures dans des préparations d'origine différente; ceci démontre qu'il s'agit de caractères normaux de cette catégorie de cellules, vraisemblablement valables pour toute la durée de leur cycle évolutif et indépendants de l'âge de l'insecte.

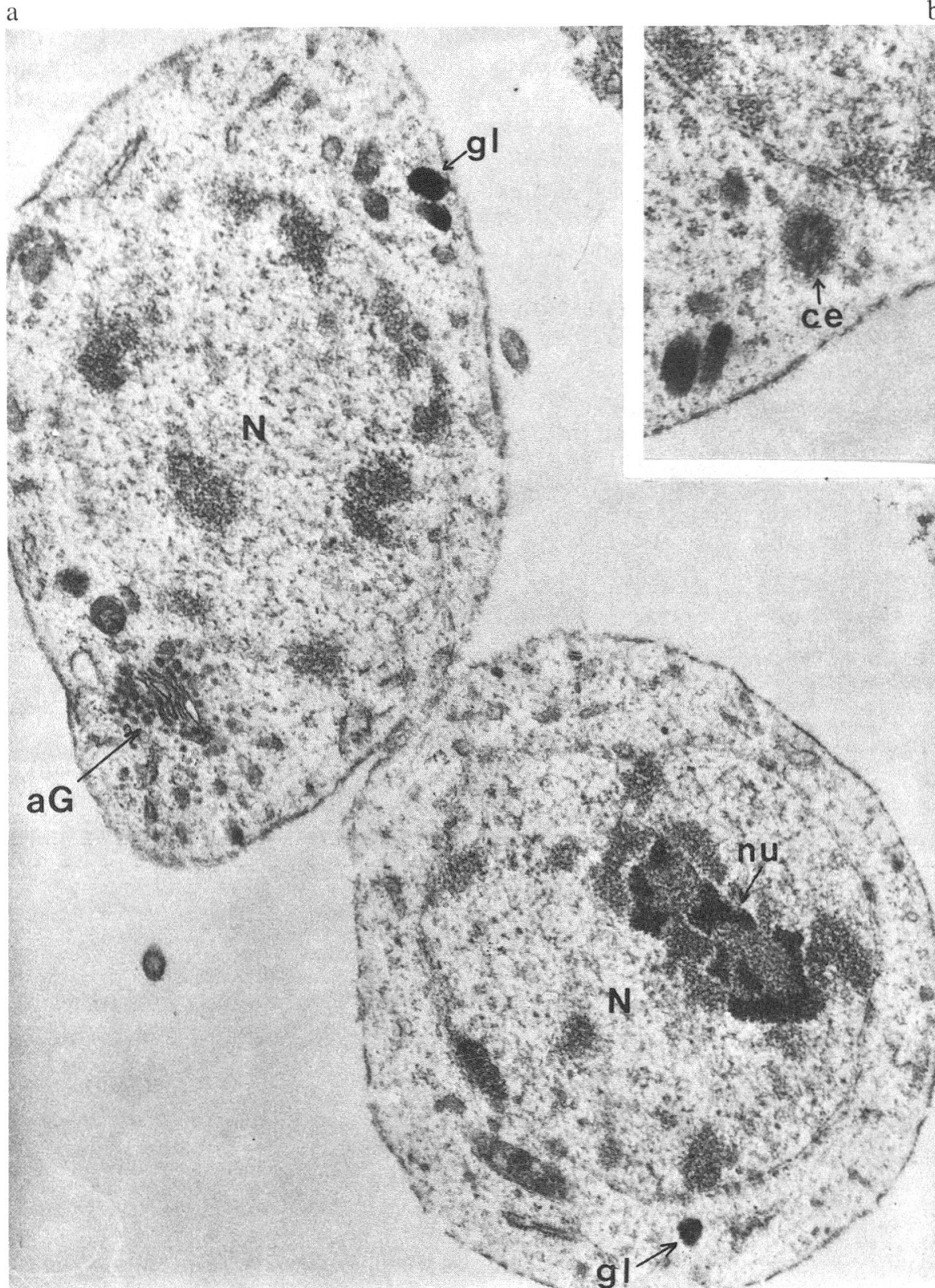


Fig. 7. Mêmes cellules qu'à la fig. 6, autre coupe. a) La forme arrondie ou légèrement ovoïde et la pauvreté en éléments cytoplasmiques met en évidence le caractère relativement mal différencié de ces cellules. Dans le noyau (N) de grande dimension, le nucléole (nu) est bien visible. Dans le cytoplasme, à côté du réseau endoplasmique peu développé, de quelques rares mitochondries et de l'appareil de Golgi (aG), on relève quelques globules (gl) à matrice dense irrégulièrement répartis. Gr. 22000 x. b) Centriole (ce) bien visible. Gr. 30000 x.

Dans toutes les fig. N = noyau.

D'après les premières observations on est tenté de croire que l'activité fonctionnelle de ces cellules se concrétise en une structure qui, au niveau submicroscopique, semble être très proche de celle de l'hémocyte au stade initial de développement (év. pro-hémocyte – proleucocyte)(fig. 6, 7).

Par contre la richesse relative en éléments cytoplasmiques des hémocytes de forme arrondie et la présence chez eux de nombreuses inclusions structurées démontrent que ces cellules ont une plus grande importance fonctionnelle que les leucocytes. Elles peuvent en toute probabilité se rapporter, dans de nombreux cas, à des pycnonucléocytes.

Il reste à établir, entre autre, la nature de ces phénomènes et combien le rôle joué par la seconde forme d'hémocytes décrite se différencie de celui des cellules du type leucocyte sur un plan non seulement quantitatif mais aussi qualitatif.

Ce premier examen, bien que limité à des observations d'ordre morphologique, corrobore les hypothèses formulées précédemment (VECCHI + WILLE, 1971, WILLE + VECCHI, 1966) quant à la signification fonctionnelle des divers éléments présents dans le sang de l'abeille adulte et à la portée, faible quoique constante, de l'activité fonctionnelle déployée par les leucocytes de forme classique.

BIBLIOGRAPHIE

- BAERWALD R. J. & BOUSH G. M., 1970. «Fine Structure of the Hemocytes of *Periplaneta americana* (Orthoptera: Blattidae) with Particular Reference to Marginal Bundles». *J. Ultrastr. Res.*, 31: 151–161.
- BEAULATON J., 1968. «Etude ultrastructurale et cytochimique des glandes prothoraciques de vers à soie aux quatrième et cinquième âges larvaires. I. La *tunica propria* et ses relations avec les fibres conjonctives et les hémocytes». *J. Ultrastr. Res.*, 23: 474–498.
- BISHOP G. H., BRIGGS A. P. and RONZONI E., 1925. «Osmotic effects of hemolymph constituents bee larva». *Jour. Biol. Chem.*, 66: 77–88.
- DEVAUCHELLE G., 1971. «Etude ultrastructurale des hémocytes du Coléoptère *Melolontha melolontha* (L)». *J. Ultrastr. Res.*, 34: 492–516.
- DUMONT J. N., ANDERSON E. and WINNER G., 1966. «Some Cytologic Characteristics of the Hemocytes of *Limulus* during Clotting». *J. Morph.*, 119: 181–208.
- GRIMSTONE A. V., ROTHERAM S. and SALT G., 1967. «An electron microscope study of capsule formation by insect blood cells». *J. Cell. Sci.*, 2: 281–292.
- GUPTA A. P., 1969. «Studies of the Blood of Meloidae (Coleoptera) I. The haemocytes of *Epicauta cinerea* (Forster), and a synonymy of haemocyte terminologies». *Cytologia*, 34: 300–344.
- HARPAZ I., KISLEV N. and ZELCER A., 1969. «Electron-Microscopic Studies on Hemocytes of the Egyptian Cottonworm, *Spodoptera littoralis* (Boisduval) Infected with a Nuclear-Polyhedrosis Virus, as Compared to Noninfected Hemocytes. I. Noninfected Hemocytes». *J. Invert. Path.*, 14: 175–185.
- HOFFMANN J. A., 1966. «Etude des oenocytoides chez *Locusta migratoria* (Orthoptère)». *J. Microscopie*, 5: 269–272.
- HOFFMANN J. A., 1966. «Etude ultrastructurale de deux hémocytes à granules de *Locusta migratoria* (Orthoptère)». *C.R. Acad. Sci., Ser. D.* 263: 521–524.
- HOFFMANN J. A., STOEKEL M. E., PORTE A. et JOLY P., 1968. «Ultrastructure des hémocytes de *Locusta migratoria* (Orthoptère)». *C.R. Acad. Sci. Paris*, 266: 503–505.
- HOFFMANN J. A., PORTE A. et JOLY P., 1968. «Présence d'un tissu hématopoïétique au niveau du diaphragme dorsal de *Locusta migratoria* (Orthoptère)». *C.R. Acad. Sci. Paris*, 266: 1882–1883.
- MILLONIG G., 1961. «A modified procedure for lead staining of thin sections». *Jour. Biophys. Biochem. Cytol.*, 11: 736–739.
- SMITH D. S., 1968. «Insect Cells, Their Structure and Function». Oliver and Boyd, Edinburgh.
- STANG-VOSS C., 1970. «Zur Ultrastruktur der Blutzellen wirbelloser Tiere. I. Über die Haemocyten der Larve des Mehlkäfers *Tenebrio molitor* L.». *Z. Zellforsch.*, 103: 589–605.
- VECCHI M. A. et WILLE H., 1971. Etudes sur l'hémolymph de l'abeille (*Apis mellifica* L.). Deuxième partie: les éléments cellulaires observés dans les coupes histologiques *Mitt. Schweiz. Entom. Ges.* 44, 209–232
- WHITTEN J. M., 1969. «Haemocyte Activity in Relation to Epidermal Cell Growth, Cuticle Secretion, and Cell Death in a Metamorphosing Cyclorrhaphan Pupa». *J. Insect Physiol.*, 15: 763–778.
- WILLE H. et VECCHI M. A., 1966. «Etudes sur l'hémolymph de l'abeille (*Apis mellifica* L.). I. Les frottis de sang de l'abeille adulte d'été». *Mitt. Schweiz. Entom. Ges.*, 39(1–2): 69–97.