

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université de Blida-1

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département de biologie



Mémoire de fin d'étude

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie et physiologie de la reproduction.

Thème

**Analyse d'études sur le contenu de la
spermathèque chez les abeilles**

Présenté par :

Ben Hamouche Nesrine

Soutenue le

16 Juillet 2025

Soutenu devant le jury:

Présidente : Mme. BENAZOUZ F.

MAA

USDB1

Examinatrice : Mme. KANANE A.

MCB

USDB1

Encadreur : Mr. BESSAAD A.

MCA

USDB1

Année Académique 2024/2025

Résumé :

Ce mémoire porte sur l'étude du contenu de la spermathèque de la reine d'abeille, un organe essentiel permettant le stockage prolongé des spermatozoïdes après l'accouplement.

La problématique centrale abordée dans ce travail est la suivante : quelles sont les caractéristiques du contenu spermathécal qui assurent le stockage à long terme des spermatozoïdes dans la spermathèque d'abeille.

L'objectif de cette étude est d'examiner les propriétés biochimiques, enzymatiques, métaboliques et antioxydantes du contenu spermathécal impliquées dans le maintien de la viabilité des spermatozoïdes sur plusieurs années. Pour répondre à cette question, une analyse approfondie de seize articles scientifiques a été réalisée.

Les résultats obtenus mettent en évidence que la spermathèque constitue un microenvironnement hypoxique, modérément acide et riche en antioxydants.

Les spermatozoïdes y adoptent un métabolisme anaérobie, réduisant ainsi la production de radicaux libres. Des enzymes telles que la catalase et la thioredoxine, ainsi que certaines protéines spécifiques, contribuent à la stabilité membranaire et à la protection cellulaire.

D'autres facteurs, comme l'âge de la reine, les variations de température ou l'exposition à des pesticides, influencent également la qualité du sperme stocké.

En conclusion, la spermathèque apparaît comme un système hautement spécialisé et finement régulé, assurant la préservation fonctionnelle des spermatozoïdes à long terme.

La compréhension de ce microenvironnement ouvre des perspectives intéressantes pour le développement de dilueurs permettant une bonne cryoconservation à des fins de stockage prolongé des semences et aussi pour l'amélioration des techniques de reproduction assistée et la préservation de la santé des reines dans un contexte environnemental de plus en plus contraignant.

Mots clés :

Spermathèque, contenu spermathécal, reine d'abeilles, Abeille domestique, cryoconservateur, Stress oxydatif.

Abstract :

This thesis focuses on the study of the content of the honeybee queen's spermatheca, a vital organ enabling the long-term storage of spermatozoa after mating.

The central question addressed in this work is: What are the characteristics of the spermathecal content that ensure the long-term storage of sperm in the honeybee spermatheca?

The objective of this study is to examine the biochemical, enzymatic, metabolic, and antioxidant properties of the spermathecal content involved in maintaining sperm viability over several years. To address this issue, a thorough analysis of sixteen scientific articles was conducted.

The results highlight that the spermatheca constitutes a hypoxic, moderately acidic microenvironment rich in antioxidants.

Sperm adopt anaerobic metabolism in this environment, thereby reducing the production of free radicals. Enzymes such as catalase and thioredoxin, as well as specific proteins, contribute to membrane stability and cellular protection.

Other factors, such as queen age, temperature variations, or exposure to pesticides, also influence the quality of stored sperm.

In conclusion, the spermatheca appears as a highly specialized and finely regulated system, ensuring the long-term functional preservation of spermatozoa.

Understanding this microenvironment opens up promising avenues for the development of extenders suitable for effective cryopreservation, as well as for improving assisted reproduction techniques and preserving queen health in an increasingly challenging environmental context.

Key words :

Spermathecae , Spermathecal content , Honey bee queen , European honey bee , Oxidative stress.

ملخص :

يركز هذا البحث على دراسة محتوى الحويصلة المنوية لملكة النحل، وهو عضو أساسي يتيح تخزين الحيوانات المنوية لفترات طويلة بعد التزاوج.

وتتمثل الإشكالية الأساسية التي يتناولها هذا العمل في: بما هي خصائص محتوى الحويصلة المنوية التي تضمن التخزين طويل الأمد للحيوانات المنوية داخل حويصلة ملكة النحل؟

يهدف هذا البحث إلى دراسة الخصائص البيوكيميائية والإنزيمية والتمثيلية (الأيضية) والمضادة للأكسدة لمحتوى الحويصلة المنوية، والتي تساهم في الحفاظ على حيوية الحيوانات المنوية لعدة سنوات. ولتحقيق ذلك، تم إجراء تحليل معمق لستة عشر مقالة علمية.

تشير النتائج إلى أن الحويصلة المنوية تشكل بيئة مجهرية منخفضة الأوكسجين، ذات حموضة معتدلة وغنية بمضادات الأكسدة.

تعتمد الحيوانات المنوية في هذه البيئة على الأيض اللاهوائي، مما يقلل من إنتاج الجذور الحرة. تساهم إنزيمات مثل الكاتالاز والثيوريدوكسين، بالإضافة إلى بعض البروتينات الخاصة، في استقرار الغشاء وحماية الخلية.

وتؤثر عوامل أخرى مثل عمر الملكة، وتغيرات درجة الحرارة، والتعرض للمبيدات، على جودة الحيوانات المنوية المخزنة.

ختامًا، تظهر الحويصلة المنوية كنظام متخصص للغاية ومنظم بدقة، يضمن الحفاظ الوظيفي طويل الأمد للحيوانات المنوية.

وفهم هذا الوسط الدقيق يفتح آفاقًا واعدة لتطوير مواد ممددة فعالة لحفظ السائل المنوي بالتجميد، وكذلك لتحسين تقنيات التلقيح الاصطناعي والحفاظ على صحة الملكات في ظل ظروف بيئية متزايدة الصعوبة.

الكلمات المفتاحية

الحويصلة المنوية , محتوى الحويصلة المنوية , ملكة النحل , نحل العسل الأوروبي , الاجهاد التاكسدي.



Remerciements

Avant tout, nous adressons nos louanges à ALLAH, le Clément, le Miséricordieux, pour nous avoir accordé la patience, la persévérance et la force nécessaires pour mener ce travail à bien. Sans Sa bénédiction, rien de tout cela n'aurait été possible.

Nos remerciements les plus sincères vont ensuite à Monsieur BESSAAD Mohamed el Amine, notre encadrant, pour sa disponibilité, son accompagnement rigoureux et ses conseils éclairés tout au long de ce projet.

Son sens de l'écoute, sa rigueur scientifique et sa bienveillance ont été des repères essentiels dans l'avancement de ce travail. C'est un privilège d'avoir été guidée par lui.

Nous tenons également à exprimer toute notre gratitude à Madame BENAZOUZ FELLA, présidente du jury, pour l'attention qu'elle a portée à ce travail, ainsi que pour son regard critique et constructif qui a enrichi notre démarche.

Nos sincères remerciements vont aussi à Madame HARKAT, examinatrice, pour avoir accepté d'évaluer notre mémoire, et pour la pertinence de ses remarques et suggestions.

Enfin, nous souhaitons remercier chaleureusement toutes les personnes qui nous ont soutenu(e)s durant ce parcours.

Parmi elles, le professeur KAIDI Rachid a joué un rôle précieux en partageant avec nous des articles scientifiques particulièrement pertinents, qui nous ont permis d'approfondir nos recherches et de nourrir notre réflexion.

À tous ceux qui, par un geste, un mot ou un conseil, ont contribué à la réussite de ce travail, nous exprimons notre plus sincère reconnaissance.





Dédicaces

À ma chère mère,

Toi qui es mon pilier, mon refuge et ma première source d'amour
inconditionnel.

Merci pour tes prières silencieuses, ton soutien indéfectible et ta tendresse
infinie. Ce travail est aussi le tien.

À mon père bien-aimé,

Ta sagesse, ta force tranquille et tes sacrifices constants m'ont toujours guidé(e).

Merci d'avoir cru en moi, même dans les moments de doute. Je te dois tant.

À mon oncle, le professeur Omar Laghrouche,

En témoignage de ma profonde gratitude pour son accompagnement, ses conseils et
son soutien tout au long de l'élaboration de ce travail.

À mes deux adorables petites sœurs, Ikram et Imene,

Votre innocence, vos sourires et votre énergie m'ont apporté du réconfort tout
au long de ce parcours.

Je vous dédie cette réussite, en espérant qu'elle soit une source d'inspiration
pour vos propres rêves.



Sommaire

Résumé

Remerciement

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Liste des abréviations

Introduction1

synthèse bibliographique

Partie I : Informations générales sur l'abeille

I.1. Classification systématique et morphologie générale 2

I.2. Cycle de vie et organisation sociale de la colonie2

I.3. Rôle des castes : ouvrières, mâles, reine 3

I.4. Communication, orientation et comportement collectif..... 4

I.5. Importance écologique et économique des abeilles 4

Partie II : La reproduction chez la reine d'abeilles

II.1. Anatomie de l'appareil reproducteur de la reine...6

II.2. Processus d'accouplement et comportement de vol nuptial 7

II.3. Transfert et stockage des spermatozoïdes..... 7

II.4. Mécanismes de fécondation des œufs..... 7

II.5. Facteurs influençant la fertilité de la reine..... 8

Partie III: La spermathèque de la reine : structure, contenu et fonctions

III.1. Anatomie et histologie de la spermathèque 9

III.1.1. Anatomie de la spermathèque..... 9

III.1.2. Histologie de la spermathèque..... 9

III.2. Conditions internes du milieu spermathécal..... 11

III.3. Mécanismes de préservation des spermatozoïdes à l'intérieur de la spermathèque..... 11

III.4. Facteurs influençant la viabilité du sperme stocké	12
III.5. Méthodes d'étude du contenu spermathécal	12

Matériel et méthodes

1. Projet 1	13
2. Objectif de l'étude.....	13
3. Extraction et classification	15
4. La nature des données	16
5. Les critères d'inclusion et d'exclusion des articles.....	16
5.1. Les critères d'inclusion	16
5.2. Les critères d'exclusion	17

Resultats et Discussion

1. Analyse critique et comparative des stratégies méthodologiques utilisées dans l'étude du contenu de la spermathèque chez la reine d'abeille	25
1.1. Technique de dissection et d'extraction	25
1.2. Approches morphologiques et microscopiques	25
1.3. Dosage enzymatique et biochimique : révélateurs d'activité métabolique.....	26
1.4. Analyse protéique et moléculaire.....	26
1.5. Etude expérimentale ciblées : outil de simulation utiles mais à standardiser	26
2. Analyse critique et comparative des résultats d'articles regroupés selon la thématique.....	29
2.1. Environnement hypoxique et composition biochimique protectrice	29
2.2. Métabolisme spermathécal : glycolyse anaérobie spécialisée	32
2.3. Organisation cellulaire, motilité et quiescence.....	35
2.4. Facteurs physiologiques, environnementaux et chimique	36

Conclusion	38
-------------------------	----

Perspectives	38
---------------------------	----

Références bibliographiques	40
--	----

Liste des figures :

Figure 01 : Cycle de vie des abeilles (Encyclopaedia Britannica, 2013).....	3
Figure 02 : Les trois castes de l'abeille (Adhimen & Allaoui, 2010).....	4
Figure 03 : Anatomie de l'appareil reproducteur de la reine.	6
Figure 04 : La spermathèque chez Hymenoptera	10
Figure 05 : classification des articles selon les paramètres étudiés.....	15
Figure 06 : Modèle métabolique simplifié montrant les voies aérobie et anaérobie (Paynter et al., 2017).	30
Figure 07 : Expression du gène catalase, TXNRD1 et TXN2 dans les SPZ des reine accouplées , vierges et des faux-bourçons (Gonzalez, Ing, & Rangel, 2018).....	31
Figure 08 : Mécanisme de réduction des protéines oxydées par le système thioredoxine/thioredoxine réductase	32
Figure 09 : Concentrations d'oxygène dans les tissus de l'abeille domestique. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard .(Paynter et al., 2017).....	33
Figure 10 : Métabolisme coopératif proposé via le métabolisme glycolytique acidifiant pendant le stockage des spermatozoïdes.. (Paynter et al., 2017)	34
Figure 11 : Tourbillons de spermatozoïdes à l'intérieur de la spermathèque d'une reine d'abeille inséminée artificiellement (a) ou naturellement (b). (Tofilski, A.Chuda-Mickiewicz, B., & Czekońska, K., 2018).	35
Figure 12 : Pourcentage de viabilité des spermatozoïdes à l'intérieur de la spermathèque de la reine, évalué au temps 0 et après 2 heures d'exposition à 6, 26 ou 40 °C.	36
Figure 13 : Contenu spermatique stocké chez des reines remplaçantes nouvellement établies, élevées par des colonies exposées au méthoxyfénozide (MEOF) et des colonies témoins non exposées (CON). (Gonzalez, Ing, & Rangel, 2018).....	37

Liste des tableaux :

Tableau I : présentation des articles sélectionnés autour des caractéristiques du contenu de la spermathèque chez les abeilles	16
Tableau II : L'ensemble des articles étudiés avec leurs problématiques et objectifs.	18
Tableau III: ensemble des méthodologies partagées par un groupe d' articles	22
Tableau IV: Résumé des résultats des groupes d'articles selon la thématique	28

Liste des abréviations :

- **AMPK** : AMP-activated protein kinase
- **ATP** : Adénosine triphosphate
- **CASA** : Computer Assisted Sperm Analysis
- **GA3P** : Glycéraldéhyde-3-phosphate
- **GAPDH** : Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase
- **LDH** : Lactate déshydrogénase
- **MEOF** : Methoxyfénazide
- **NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
- **QMP** : Queen mandibular pheromone
- **ROS** : Espèces réactives de l'oxygène
- **RT-qPCR** : Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction
- **SPZ** : Spermatozoïdes
- **TXN2** : Thioredoxine 2
- **TXNRD1** : Thioredoxine réductase 1

Introduction

La reproduction chez l'abeille repose sur des mécanismes biologiques spécialisés, au cœur desquels se trouve la spermathèque de la reine.

Cet organe permet le stockage à long terme des spermatozoïdes acquis lors d'une courte période d'accouplement, assurant ainsi la fécondation des œufs tout au long de la vie de la reine, sans nécessité de nouvelles copulations. (Winston, 1987 ; Baer et al., 2006).

La capacité des spermatozoïdes à rester viables pendant plusieurs années dans cet environnement constitue un phénomène remarquable dans le règne animal.

Ce maintien à long terme repose sur les propriétés particulières du contenu spermathéal, qui forme un microenvironnement optimisé pour la conservation cellulaire.

Faible en oxygène, riche en antioxydants, doté d'un équilibre ionique spécifique et d'une activité enzymatique régulée, ce milieu assure la stabilité et la fonctionnalité des spermatozoïdes sur de longues périodes. (Collins et al., 2004 ; Paynter et al., 2017 ; Liu et al., 2019)

Dans ce contexte, la problématique de ce travail est de déterminer quelles sont les caractéristiques du contenu spermathéal qui assurent le stockage prolongé des spermatozoïdes.

L'objectif est d'étudier, à partir d'une analyse bibliographique, les éléments biochimiques, enzymatiques, métaboliques et antioxydants impliqués dans la viabilité du sperme stocké, ainsi que les facteurs pouvant influencer cette conservation. (Zareie et al., 2013 ; Degueldre & Aron, 2023)

Synthèse bibliographique

Partie I : Informations générales sur l'abeille

I.1. Classification systématique et morphologie générale

L'abeille domestique, *Apis mellifera*, appartient à l'ordre des Hyménoptères, à la famille des Apidés et au genre *Apis*. C'est l'une des espèces d'abeilles les plus étudiées au monde en raison de son rôle écologique essentiel comme pollinisateur et de son importance économique en apiculture (Michener, 2007).

- **Classification taxonomique :**
 - Règne : Animalia
 - Embranchement : Arthropoda
 - Sous embranchement : Antennata
 - Classe : Insecta
 - Ordre : Hymenoptera
 - Sous ordre : Apocrita
 - Super famille : Apoidea
 - Famille : Apidae
 - Sous famille : Apinae
 - Genre : *Apis*

L'abeille adulte est un insecte holométabole, avec un corps divisé en trois parties : tête, thorax et abdomen. Elle possède deux paires d'ailes membraneuses, trois paires de pattes, et une paire d'antennes segmentées. La morphologie varie légèrement selon la caste (ouvrière, reine ou mâle), reflétant leurs rôles spécialisés au sein de la colonie (Winston, 1987).

I.2. Cycle de vie et organisation sociale de la colonie

L'abeille domestique vit en société complexe, appelée colonie, composée d'une reine, de milliers d'ouvrières stériles et, en saison de reproduction, de quelques centaines de mâles (faux-bourçons). Cette organisation repose sur une stricte division du travail, une communication chimique et une régulation collective des activités (Seeley, 1995).

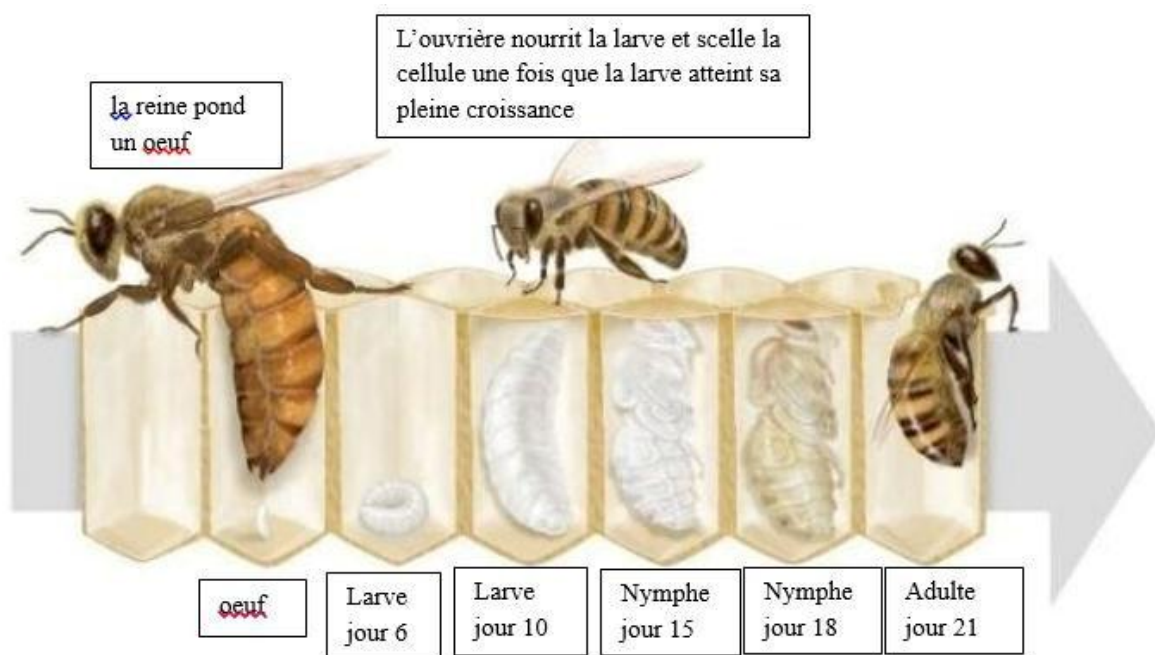


Figure 01 : Cycle de vie des abeilles (Encyclopaedia Britannica, 2013)

Le cycle de vie de l'abeille passe par quatre stades : œuf, larve, nymphe (ou pupe) et adulte. Le développement dure environ :

- 16 jours pour la reine,
- 21 jours pour une ouvrière,
- 24 jours pour un mâle (Winston, 1987).

Les larves sont nourries selon leur caste future : la gelée royale est exclusivement réservée aux futures reines, tandis que les larves d'ouvrières reçoivent une alimentation mixte après les premiers jours (Haydak, 1970).

I.3. Rôle des castes : ouvrières, mâles, reine

Chaque caste joue un rôle spécifique :

- La reine est la seule femelle fertile de la colonie. Elle pond jusqu'à 2 000 œufs par jour durant la haute saison (Tarpy et al., 2011).
- Les ouvrières remplissent successivement différents rôles au fil de leur âge (nurses, nettoyeuses, ventileuses, gardiennes, butineuses), selon un phénomène appelé polyéthisme d'âge (Robinson, 1992).
- Les mâles (faux-bourçons) ont pour unique fonction de féconder une reine vierge lors
- d'un vol nuptial. Ils meurent immédiatement après l'accouplement.

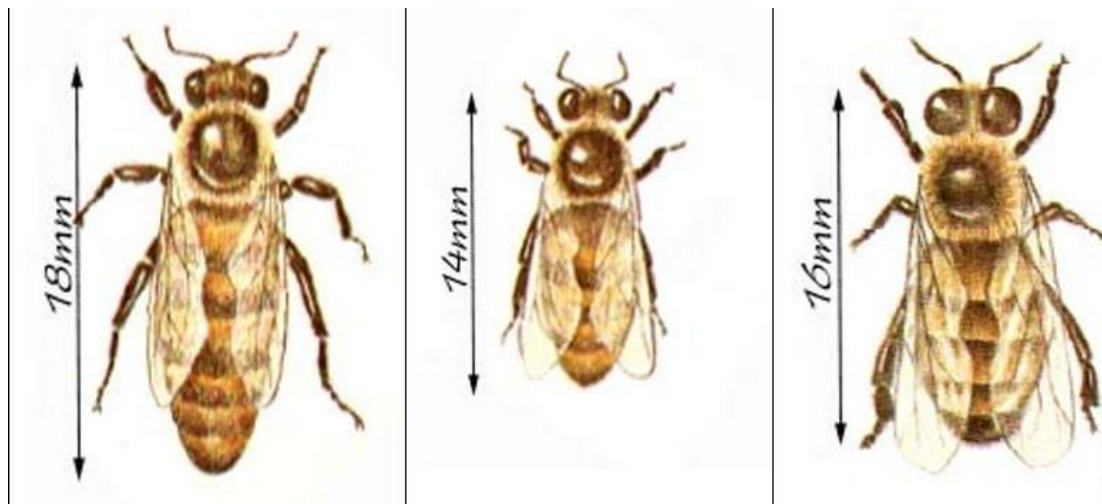


Fig. 2a. La reine d'abeilles	Fig. 2b. L'ouvrière d'abeilles	Fig. 2c. Faux bourdons
-------------------------------------	---------------------------------------	-------------------------------

Figure 02 : Les trois castes de l'abeille (Adhimen & Allaoui, 2010)

Ce système de castes repose sur des régulations hormonales et nutritionnelles précises, dès le stade larvaire, ce qui illustre l'adaptation remarquable de cette espèce à la vie en société.

I.4. Communication, orientation et comportement collectif

La communication au sein de la colonie est multimodale : elle repose principalement sur des phéromones, des vibrations, et surtout sur la danse. La plus célèbre, la danse frétillante, découverte par Karl von Frisch, permet à une butineuse de transmettre l'emplacement d'une source de nourriture à ses congénères (von Frisch, 1967).

L'orientation des abeilles repose sur :

- La position du soleil,
- Le champ magnétique terrestre,
- La mémoire spatiale,
- Les repères visuels du paysage.

Ces mécanismes permettent un comportement collectif coordonné, comme la régulation de la température du nid, la construction des rayons de cire, ou la défense de la ruche (Seeley, 2010).

I.5. Importance écologique et économique des abeilles

Les abeilles jouent un rôle écologique fondamental en tant que pollinisateurs. Près de 75 % des cultures alimentaires mondiales dépendent, au moins en partie, de la pollinisation animale, dont les abeilles sont les actrices principales (Klein et al., 2007).

Sur le plan économique, l'apiculture génère du miel, de la cire, de la gelée royale, de la propolis et du pollen. En outre, la pollinisation agricole assurée par *Apis mellifera* représente des milliards de dollars annuellement au niveau mondial (Gallai et al., 2009).

Cependant, les menaces pesant sur les abeilles (pesticides, parasites, virus, perte d'habitat, changement climatique) inquiètent la communauté scientifique. Ces facteurs affectent directement la santé des colonies et, indirectement, la reproduction de la reine, d'où l'importance d'études sur la spermathèque et son fonctionnement

Partie II : La reproduction chez la reine d'abeilles

La reproduction chez *Apis mellifera* repose sur une organisation biologique remarquable, caractérisée par la spécialisation des castes et une différenciation reproductrice marquée. Ce processus implique non seulement des organes spécialisés chez les reines et les mâles, mais aussi un comportement nuptial précis, des mécanismes de stockage des spermatozoïdes, une fécondation contrôlée et une stratégie de reproduction unique chez les hyménoptères : l'haplodiploïdie.

II.1 Anatomie de l'appareil reproducteur de la reine :

L'appareil génital de la reine d'abeilles comprend deux ovaires, deux oviductes, une vésicule copulatrice (ou spermathèque), un vagin et un aiguillon. Les ovaires, situés à l'avant de l'abdomen entre les deux estomacs, sont constitués chacun d'environ deux cents tubules appelés ovarioles, renfermant de douze à vingt œufs à différents stades de développement. La partie inférieure de ces tubules s'ouvre dans un conduit commun élargi en forme de trompette, désigné sous le nom d'oviducte. Les deux oviductes convergent en un canal unique situé légèrement en dessous de la vésicule copulatrice. Ce canal s'élargit ensuite pour former le vagin. La vésicule copulatrice, de la taille et de la forme d'un petit grain de moutarde, communique avec le vagin par un canal étroit. Le vagin, large, présente plusieurs cavités destinées à accueillir les appendices du membre copulateur mâle. L'aiguillon, dont la vésicule à venin et le vaisseau sécréteur sont moins développés que chez les ouvrières, est légèrement incurvé et sert principalement à la reine pour se défendre contre ses rivales et pour la ponte des œufs. (Adhimen & Allaoui, 2010)

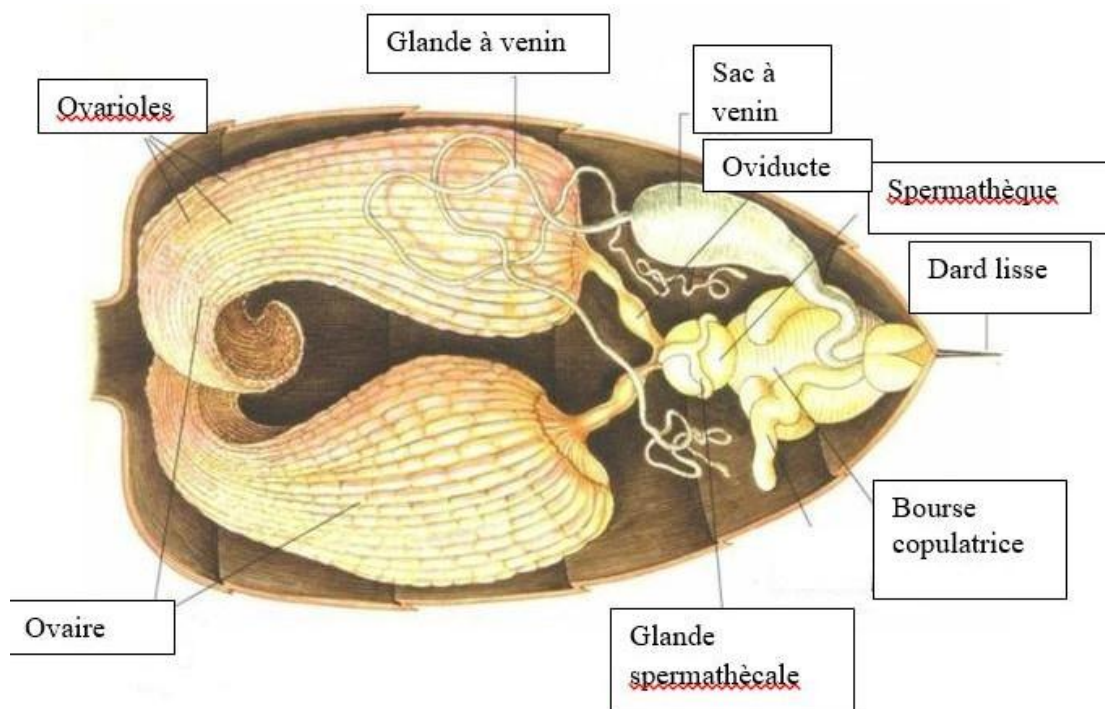


Figure 03 : Anatomie de l'appareil reproducteur de la reine

II.2 Processus d'accouplement et comportement de vol nuptial :

Le comportement de reproduction commence peu après l'émergence de la reine. Vers le 5^e jour, elle effectue plusieurs vols nuptiaux, en général entre le 7^e et le 10^e jour, à proximité de zones de rassemblement de males appelées « drone congregation areas » (Lehnherr & Duvoisin, 2003). Lors de ces vols, la reine est fécondée en plein vol par 10 à 20 faux-bourçons issus de différentes colonies.

Les males sont dotés de grands yeux composés et d'antennes très sensibles, leur permettant de localiser la reine en vol, à partir de signaux phéromonaux. L'acte de fécondation est brutal : le male insère son endophallus dans la chambre génitale de la reine, libère les spermatozoïdes, puis meurt immédiatement après l'accouplement à cause de l'arrachement de son organe reproducteur (Adam, 2023).

II.3 Transfert et stockage des spermatozoïdes :

Chaque accouplement dépose dans la chambre génitale de la reine environ 7 à 10 millions de spermatozoïdes, protégés par le mucus séminal. Une fois le vol nuptial terminé, ces gamètes sont transférées vers la spermathèque, où un maximum de 5 à 7 millions seront stockés (Ricard, 2010). Ce stock constitue la réserve de toute la vie de la reine, soit environ 3 à 4 ans, bien que la ponte puisse baisser après 2 ans.

Le maintien de la viabilité des spermatozoïdes est assuré par : la composition biochimique du mucus, les sécrétions des cellules spermathécales et une régulation immunitaire et physiologique stricte (Guerriat, 2000).

II.4 Mécanismes de fécondation des œufs :

La fécondation est un processus actif et contrôlé par la reine. Lors de la ponte, elle peut, selon les besoins de la colonie :

- Laisser passer un spermatozoïde pour féconder l'ovule
- Ou empêcher ce passage, ce qui donne un œuf non fécondé (Adam, 2023).

Ce mécanisme permet la production :

- D'ouvrières et de reines à partir d'œuf fécondé
- De faux-bourçons à partir d'œufs non fécondés

Ce contrôle sélectif est essentiel à la régulation démographique et à la balance male/femelle au sein de la colonie.

II.5 Facteurs influençant la fertilité de la reine :

La fertilité de la reine dépend de nombreux paramètres :

- Qualité des spermatozoïdes reçus et stockés,
- Nombre de mâles avec lesquels elle s'est accouplée (diversité génétique),
- Âge de la reine : la fertilité décroît au bout de 2 à 3 ans,
- Qualité de l'alimentation larvaire (durée exclusive de gelée royale),
- État sanitaire général (infections virales, maladies ovariennes),
- Facteurs environnementaux comme la température, la nutrition ou la pollution (Adam, 2023 ; Lehnherr & Duvoisin, 2003).

Partie III: La spermathèque d'abeille : structure, contenu et fonctions

La spermathèque de la reine joue un rôle fondamental dans le succès reproductif des colonies d'abeilles. Cet organe spécialisé permet le stockage à long terme des spermatozoïdes reçus lors des vols nuptiaux. Grâce à un environnement interne finement régulé, elle assure la viabilité des spermatozoïdes pendant plusieurs années. Ce chapitre explore en détail l'anatomie de la spermathèque, sa composition biochimique, les mécanismes de préservation des spermatozoïdes, les facteurs affectant leur viabilité, les outils d'analyse de son contenu, ainsi que les applications en reproduction assistée.

III.1 Anatomie et histologie de la spermathèque :

III.1.1 Anatomie de la spermathèque :

La spermathèque est un petit organe sphérique, de 1 à 1,5 mm de diamètre, situé dans l'abdomen de la reine, reliée aux oviductes par un canal spermathécal (Adam, 2023). Elle est entourée d'une fine couche musculaire permettant le contrôle du passage des spermatozoïdes au moment de la ponte. À l'extérieur, elle est enveloppée par une gaine tissulaire, tandis que son intérieur est tapissé de cellules épithéliales sécrétrices (Lehnherr & Duvoisin, 2003).

III.1.2 Histologie de la spermathèque :

Sur le plan histologique, la paroi de la spermathèque est formée d'un épithélium simple reposant sur une membrane basale mince et anuclée. Chez les pupes, les cellules épithéliales sont de forme cylindrique, avec des noyaux sphériques localisés basalement. En revanche, chez les reines vierges et fécondées, l'épithélium devient cuboïdal avec des noyaux discoïdes disposés au centre des cellules, lesquels présentent souvent un aspect pycnotique en lien avec la sénescence ou la réduction de l'activité métabolique (de Camargo & Mello, 1970).

Le revêtement cuticulaire interne de la spermathèque joue un rôle fondamental dans l'isolement des spermatozoïdes stockés vis-à-vis du reste de l'organisme, empêchant l'exposition aux composants hémolymphatiques potentiellement délétères. Cette cuticule est souvent épaisse, composée de couches sclérotisées, et sa structure varie en fonction des régions de l'organe : elle est généralement plus rigide au niveau du réservoir et plus souple dans les régions canalaire (Pascini & Martins, 2017). Chez certaines espèces d'insectes, cette cuticule présente une stratification en couches électrodenses et électroclaires alternées, optimisant la protection des gamètes (Clements & Potter, 1967).

En ce qui concerne l'épithélium du réservoir, il peut être constitué de cellules cubiques ou aplaties selon l'espèce et le stade de développement. Chez *Apis mellifera*, cet

épithélium est souvent pauvre en organites comme le réticulum endoplasmique rugueux ou l'appareil de Golgi, ce qui reflète une activité métabolique modérée de la paroi du réservoir (Pascini & Martins, 2017). Toutefois, des microvillosités apicales irrégulières augmentent la surface cellulaire et faciliteraient les échanges entre l'hémolymphe et la lumière du réservoir, favorisant ainsi le transfert de composés nécessaires à la viabilité spermatique (Martins et al., 2008).

Enfin, une couche musculaire entoure le canal spermathéal, parfois désignée comme « pompe à sperme », jouant un rôle mécanique dans le mouvement ou la libération des spermatozoïdes vers l'oviducte (de Camargo & Mello, 1970).

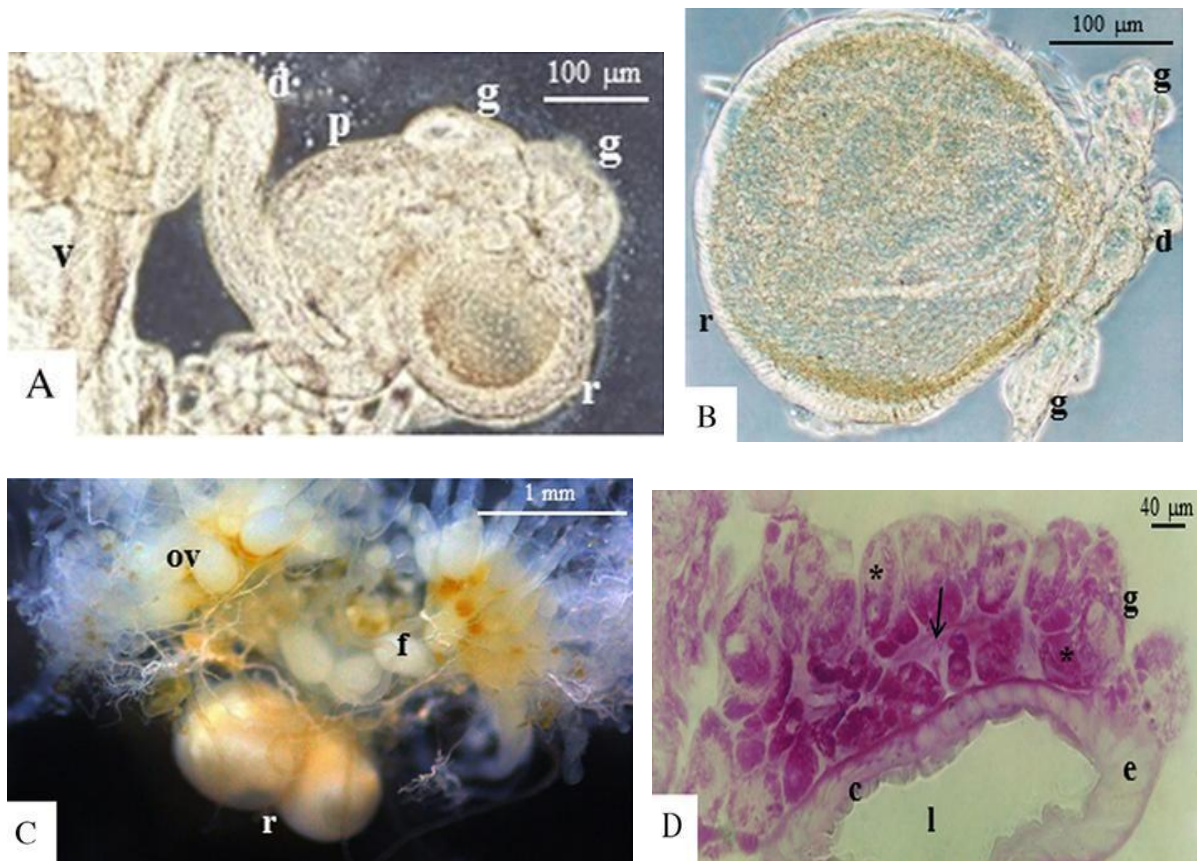


Figure 04 : La spermathèque chez Hymenoptera : **A :** Montage entier représentant une spermathèque fixée au formol, connectée au vagin (v) d'une femelle fécondée de l'abeille solitaire *Thygater analis* (Apidae ; Eucerini). ; **B :** Montage entier représentant une spermathèque fixée au formol d'une reine vierge de l'abeille sans aiguillon *Melipona quadrifasciata* (Apidae ; Meliponini); **C :** Système reproducteur d'une reine fécondée fraîchement disséqué de la fourmi coupe-feuille *Acromyrmex subterraneus* (Formicidae ; Attini), présentant un réservoir spermathéal bilobé; **D :** Coupe histologique de la glande spermathécale d'une reine vierge *Melipona quadrifasciata*, colorée par la réaction PAS, montrant des cellules glandulaires (*) réagissant positivement aux polysaccharides neutres (en magenta). **Abréviations:** c: cuticule, d: canal spermathéal, e: épithélium cylindrique du réservoir, f: follicule ovarien, g:

glande spermathéciale, **l**: lumière du réservoir, **ov**: ovaire, **p**: pompe spermathéciale, **r**: réservoir spermathécal.

III.2 Conditions internes du milieu spermathécal :

L'environnement biochimique interne de la spermathèque est hautement spécialisé pour maintenir les spermatozoïdes en état de quiescence et prévenir leur dégradation.

Les caractéristiques majeures incluent :

- pH légèrement acide, généralement entre 6,5 et 7, stabilisant l'activité métabolique (Ricard, 2010).
- Présence d'enzymes spécifiques, comme les protéases, oxydoréductases et hydrolases, qui régulent le stress oxydatif et les processus de dégradation cellulaire.
- Teneur élevée en antioxydants (glutathion, catalase, superoxyde dismutase) pour protéger les membranes spermatiques contre les dommages dus aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Adam, 2023).
- Protéines de liaison et glycoprotéines qui participent au maintien de l'intégrité des gamètes.

La basse teneur en oxygène et le ralentissement du métabolisme sont des conditions indispensables à la longévité des spermatozoïdes stockés.

III.3 Mécanismes de préservation des spermatozoïdes à l'intérieur de la spermathèque :

Une fois stockés, les spermatozoïdes sont conservés dans un état quiescent grâce à plusieurs mécanismes :

- Inhibition métabolique : les spermatozoïdes réduisent considérablement leur consommation d'énergie, ce qui limite la production de radicaux libres (Lehnherr & Duvoisin, 2003).
- Protection membranaire : les lipides membranaires sont stabilisés par des protéines chaperonnes et des antioxydants (Ricard, 2010).
- Sécrétion de substances protectrices : les cellules spermathéciales sécrètent des facteurs nutritionnels (acides aminés, sucres, peptides) et des agents anti-apoptotiques (Guerriat, 2000).
- Stimulation immunitaire contrôlée : la spermathèque est un environnement immunologiquement tolérant, évitant la phagocytose des spermatozoïdes malgré leur origine étrangère à l'organisme de la reine.

Ces mécanismes assurent une viabilité du sperme pouvant dépasser 4 ans, bien que des pertes de fertilité soient observées après 2 à 3 ans (Adam, 2023).

III.4 Facteurs influençant la viabilité du sperme stocké :

La qualité du sperme stocké dépend de :

- Âge de la reine : la viabilité spermatique diminue avec le temps, entraînant une ponte moins régulière et une augmentation des œufs non fécondés (Adam, 2023).
- Température : les expositions à des températures extrêmes (inférieures à 10 °C ou supérieures à 40 °C) peuvent entraîner la mort massive des spermatozoïdes (Guerriat, 2000).
- Qualité des mâles : la diversité génétique et la vigueur des faux-bourçons ayant fécondé la reine influencent la vitalité du sperme.
- Stress environnemental : pesticides, polluants, parasites (notamment *Nosema*) peuvent altérer l'environnement spermathécal ou les cellules épithéliales de la spermathèque (Ricard, 2010).
- Génétique de la reine : certaines lignées sont connues pour stocker plus efficacement les spermatozoïdes ou mieux préserver leur viabilité sur la durée.

III.5 Méthodes d'études du contenu spermathécal :

L'étude du contenu spermathécal fait appel à des méthodes de plus en plus fines :

- Techniques histologiques (colorations HE, coupes à congélation) pour observer la structure tissulaire.
- Dosages biochimiques des enzymes (catalase, glutathion) ou des protéines spécifiques par spectrophotométrie ou chromatographie (Lehnherr & Duvoisin, 2003).
- Analyses de viabilité des spermatozoïdes par colorations vitales (éosine-nigrosine, SYBR/PI) et microscopie à fluorescence.
- Techniques moléculaires : extraction d'ARNm des cellules épithéliales, quantification de l'expression des gènes liés à la fertilité, ou métagénomique du microbiote spermathécal (Ricard, 2010).
- Microscopie électronique à balayage (MEB) pour visualiser les spermatozoïdes et la structure fine des tissus.

Ces analyses sont cruciales dans le contexte de la sélection génétique, du diagnostic de fertilité ou de la reproduction assistée.

Materiel et méthodes :

1. Projet 1 :

Dans un premier temps, mon travail de fin d'études portait sur un sujet appliqué ayant pour objectif la mise en place d'une banque de semence et le développement de protocoles d'insémination artificielle chez la panthère. Ce projet visait à étudier les caractéristiques des spermatozoïdes de cette espèce en vue de préparer et tester des milieux de cryoconservation adaptés, puis de procéder à des tentatives d'insémination artificielle dans le cadre de programmes de conservation en captivité. Des protocoles de collecte de sperme et de conservation ont été élaborés sur la base de recherches antérieures menées dans divers pays.

Le projet devait être mené au parc zoologique du Jardin d'Essai d'El Hamma, en collaboration avec le Zoo de Ben Aknoun et le Centre National de l'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique (CNIAAG). Cependant, des contraintes logistiques majeures ont entravé le bon déroulement du projet, notamment le manque d'équipements spécialisés pour la récolte de semence ainsi que l'indisponibilité des anesthésiques requis (médétomidine et kétamine), y compris chez les vétérinaires.

Malgré de nombreux efforts pour réunir les ressources nécessaires, ce n'est qu'au début du mois de juin que nous avons pu obtenir un électro-éjaculateur grâce à la collaboration avec l'Institut Technique des Élevages de Tiaret, ainsi qu'un flacon de kétamine. Compte tenu du délai restant très restreint et de l'incertitude quant à la faisabilité de l'expérimentation, il a été décidé de développer parallèlement un sujet théorique. Ainsi, en cas d'impossibilité de poursuivre le projet initial, un second sujet, intitulé Analyse d'études sur le contenu de la spermathèque des abeilles, a été retenu comme thème principal du mémoire.

Malheureusement, à la mi-juin, nous avons été informés qu'il ne serait pas possible d'accéder aux installations du parc zoologique d'El Hamma en raison de circonstances exceptionnelles, ni à celles du CNIAAG en raison de travaux programmés dans leurs laboratoires. À cela s'est ajoutée une décision institutionnelle avançant la date limite des activités pédagogiques au 15 juillet. Dans ce contexte, j'ai dû me consacrer exclusivement au second sujet, qui a été finalisé dans des conditions peu favorables et sans pouvoir bénéficier du cadre méthodologique optimal pour un travail de recherche académique

2. L'objectif de cette étude :

L'objectif de cette étude est d'analyser les caractéristiques morphologiques, biochimiques et fonctionnelles du milieu de la spermathèque chez l'*Apis mellifera*.

Cette analyse met particulièrement l'accent sur les paramètres du milieu interne, les facteurs impactant la durabilité du sperme stocké, ainsi que les retombées de ces observations sur les pratiques de reproduction assistée et la conservation des espèces. Nous avons réalisé une analyse d'études de 12 articles traités théoriquement.

3. Extraction et classification : Afin de rendre l'analyse plus cohérente et méthodique, les articles ont été regroupés selon des critères de classification spécifiques.

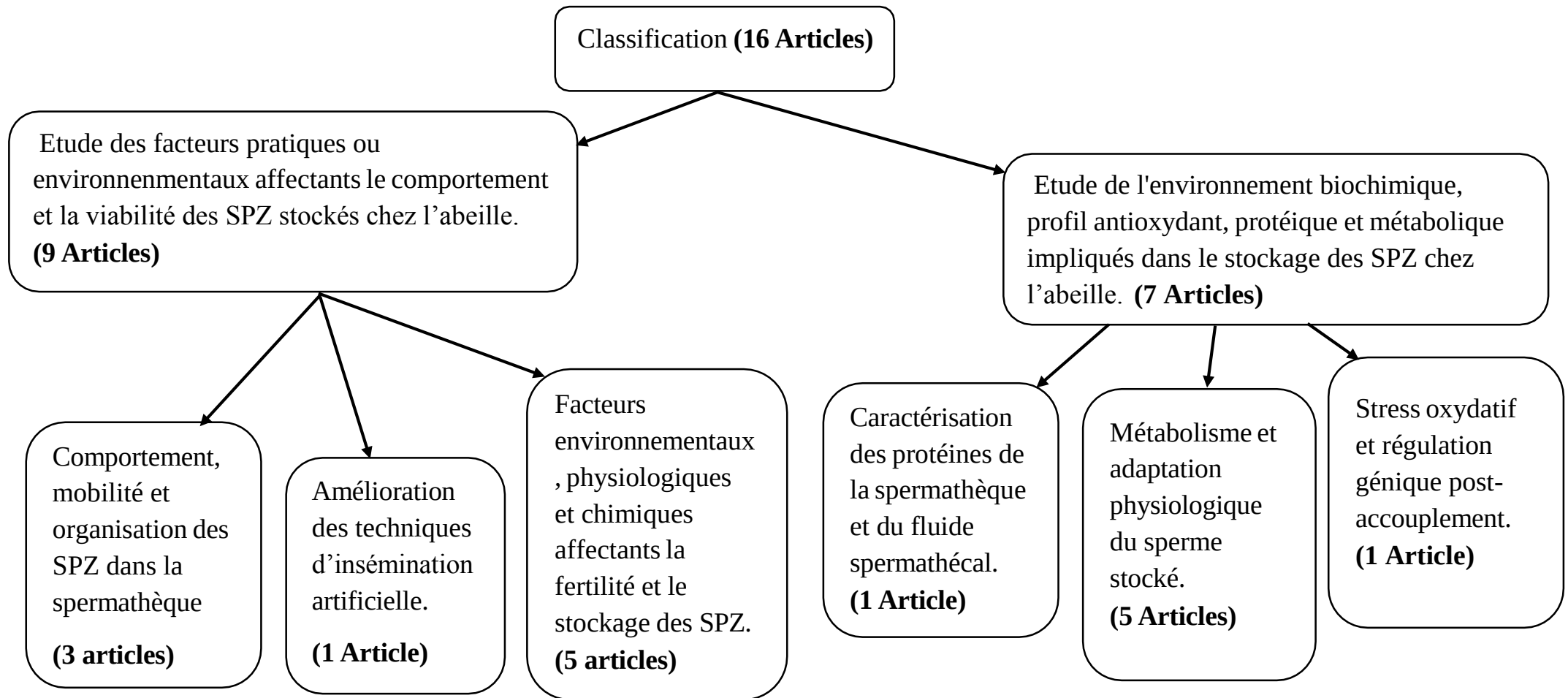


Figure 05 : classification des articles selon les paramètres étudiés

4. La nature des données:

Les publications qui traitent les caractéristiques du contenu de la spermathèque chez les abeilles ont été sélectionnées selon les informations citées dans le tableau ci-dessous.

Tableau I : présentation des articles sélectionnés autour des caractéristiques du contenu de la spermathèque chez les abeilles

Cites de téléchargement	Mots clés	Langues utilisées	Année d'articles	Nombre d'articles	
				Inclus : 16	Éliminé : 4
- Hal open science - Google scholar - ScienceDirect - Research Gate - PubMed	- Honeybee queen spermathecae - Motility and viability of spermatozoa inside spermathecae - Metabolic support in spermathecae - Proteins in spermathecal fluid - Spermathecal content	Anglais	Entre 2003 et 2022	20 articles	

5. Les critères d'inclusion et d'exclusion des articles :

Dans notre étude, nous avons traité le contenu de la spermathèque chez les abeilles, afin d'atteindre cet objectif nous avons restreint le choix des articles selon les critères suivants :

5.1. Les critères d'inclusion :

- Le lien avec le contenu de la spermathèque
- Éspecie : l'abeille
- Le stockage à long terme des spermatozoïdes d'abeille
- Profil métabolique des spermathèques
- Comportement et viabilité des spermatozoïdes
- Régulation des gènes de la spermathèque
- Effet des pesticides et facteurs pratiques

5.2. Les critères d'exclusion :

Ils sont basés sur tous qui ne convient pas à notre thématique et objectif de travail comme :

- Les autres castes de la colonie d'abeille apart la reine
- L'étude anatomique et histologique de la spermathèque

Tableau II : L'ensemble des articles étudiés avec leurs problématiques et objectifs

Titre de l'article	Problématique	Objectif de l'étude
1- Aperçu des bases moléculaires du stockage à long-terme et de la survie des spermatozoïdes chez l'abeille domestique (<i>Apis mellifera</i>)	Quels sont les mécanismes moléculaires et physiologiques qui permettent aux spermatozoïdes de l'abeille domestique de survivre et de rester fonctionnels pendant plusieurs années dans la spermathèque de la reine, alors qu'ils sont initialement produits pour une compétition rapide après l'accouplement ?	Identifier les mécanismes moléculaires et biochimiques permettant le stockage à long terme et la survie des spermatozoïdes chez la reine d'abeille, en mettant l'accent sur les voies énergétiques et les adaptations physiologiques associées.
2. Caractéristiques du contenu de la spermathèque chez les abeilles jeunes et vieilles.	Le vieillissement de la reine affecte-il la mobilité des spermatozoïdes et le métabolisme énergétique ?	Examiner si le vieillissement affecte la capacité du métabolisme énergétique des spermatozoïdes et de la spermathèque.
3. Mouvement circulaire des spermatozoïdes de l'abeille à miel à l'intérieur de la spermathèque	Les spermatozoïdes de la reine d'abeille restent-ils mobiles à l'intérieur de la spermathèque ?	Décrire le comportement des spermatozoïdes entrant dans la spermathèque et vérifier si ils restent mobiles
4. Surexpression des gènes en relation avec l'antioxydation dans la spermathèque des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera</i>) après l'accouplement	Est-ce que la surexpression des antioxydants régulés dans la spermathèque afin de protéger les spermatozoïdes est déclenchée par l'accouplement chez les abeilles?	Examiner s'il y a une surexpression post-accouplement de 7 gènes antioxydants dans la spermathèque de reines vierges et accouplées et chez les faux-bourçons non accouplés.

5. L'effet de la defecation induite chez les reines d'abeilles sur le nombre et la viabilité des spermatozoides dans la spermathèque après l'insemination instrumentale	Est-ce que la défécation de la reine avant l'insémination influence le nombre ou la qualité (viabilité) des spermatozoïdes stockés ?	Savoir s'il y a une relation entre la défécation de la reine d'abeille avant l'insémination et le nombre et la qualité du sperme stocké.
6. Les protéines dans les sécrétions de la glande spermathèque et le fluide spermathèque et les propriétés d'une protéine de 29 kDa chez les reines de <i>Apis mellifera</i>	Quelles sont les protéines présentes dans le fluide spermathèque et la sécrétion des glandes spermathécales chez la reine d' <i>Apis mellifera</i> , et quel est le rôle potentiel de la protéine de 29 kDa observée chez les reines matures ?	Caractériser les profils protéiques du fluide spermathèque et des sécrétions des glandes spermathécales à différents stades de développement de la reine et analyse des propriétés biochimiques et fonctionnelles d'une protéine de 29 kDa
7. Motilité et inactivation reversible des spermatozoides d'abeilles in vivo et in vitro	Les spermatozoïdes contenus dans la spermathèque de la reine abeille sont-ils maintenus dans un état motile ou immobile, et quels sont les mécanismes qui régulent leur activation ou leur inactivation ?	Évaluer la mobilité des spermatozoïdes dans la spermathèque de la reine d'abeille et identifier les conditions ou facteurs qui influencent leur activation ou leur désactivation.
8. Effet des boîtes d'expédition, des abeilles accompagnatrices et de la température sur la qualité du sperme des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera</i>)	Quel est l'impact des conditions réelles que subissent les reines pendant leur transport des éleveurs vers les apiculteurs sur leur potentiel reproducteur ?	- Définir les conditions environnementales auxquelles sont exposées les reines d'abeilles lors de leur transport à l'intérieur du Canada et depuis les États-Unis vers le Canada. -Analyser les effets de la température et de la méthode d'expédition sur la viabilité du sperme.

9-Stockage à long terme des spermatozoïdes chez les insectes eusociaux : adaptation, mécanismes et conséquences	Comment les femelles d'insectes eusociaux (fourmis, abeilles, guêpes) parviennent-elles à stocker des spermatozoïdes viables pendant plusieurs années, voire des décennies, et quels mécanismes physiologiques, moléculaires et évolutifs sous-tendent cette capacité exceptionnelle ?	Faire le point sur les connaissances actuelles concernant le stockage à long terme du sperme chez les insectes eusociaux, en identifiant les adaptations physiologiques, moléculaires et évolutives impliquées, ainsi que les conséquences de ce phénomène sur la biologie et l'évolution de ces espèces.
10. structure et organisation des spermatozoïdes dans la spermathèque chez les reines d'abeilles <i>Apis mellifera</i> intermissa L.	comment les spermatozoïdes sont organisés dans la spermathèque des reines ?	Décrire le contenu spermathécal d'une reine inséminée en s'intéressant plus à la disposition spatiale des spermatozoïdes, leurs caractéristiques et formes selon les régions spermathécales.
11. Methoxyfénoside a des effets minimes sur les reines de remplacement, mais peut affecter négativement le stockage du sperme	Quels sont les effets sublétaux du pesticide methoxyfénoside (MEOF) sur les reines remplaçantes des abeilles ?	Examiner si l'exposition au MEOF affecte la capacité des colonies à produire des reines de remplacement viables et bien accouplées depuis le stade larvaire. -Vérifier si le MEOF affecte les communications phéromonale entre la reine et les ouvrières et si il perturbe la production et la perception des phéromone utilisés pour maintenir la reine dans son rôle.
12. Caractérisation fonctionnelle du sperme dans la spermathèque de la reine des abeilles (<i>A.m.ligustica</i> S.) et efficacité de la technique de dilution du sperme dans l'insémination instrumentale.	quelles sont les effets à long terme de l'insémination artificielle avec du sperme dilué et mélangé sans centrifugation sur la qualité du sperme stocké dans la spermathèque et donc sur les performances reproductives de la reine d'abeille ?	Tester l'efficacité de l'insémination artificiel avec la semence dilué et mélangé à long-terme sur les performances reproductives des reines (nombre et viabilité des spermatozoïdes dans la spermathèque) afin de proposer des techniques adaptées aux programmes d'élevage.

13. Soutien métabolique au stockage à long terme des spermatozoïdes des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera</i>)	Quels sont les mécanismes biochimiques et métaboliques qui permettent le stockage à long-terme des spermatozoïdes dans la spermathèque des reines d'abeilles ?	Identifier les métabolites clés et les voies métaboliques impliqués dans le stockage à long-terme des spermatozoïdes dans la spermathèque de reines d'abeille.
14. Corrélation entre la taille de la reine et le contenu de la spermathèque et les effets de l'exposition aux miticides pendant le développement	Y a t-il une corrélation entre le poids de la reine, poids et volume de la spermathèque et la quantité de sperme stockée , et quel est l'effet des miticides sur cette relation ?	Étudier l'impact de la taille de la reine et de l'exposition aux miticides sur la capacité de stockage de sperme.
15-Survie à long terme des spermatozoïdes de haute qualité : aperçus sur le protéome spermatique de l'abeille domestique <i>Apis mellifera</i>	Quels sont les mécanismes moléculaires et biochimiques qui permettent aux spermatozoïdes de l'abeille domestique de survivre en bon état et de rester fonctionnels pendant plusieurs années dans la spermathèque de la reine, alors que la plupart des spermatozoïdes animaux ne survivent que quelques heures ou jours ?	Identifier et caractériser les voies métaboliques et les adaptations moléculaires permettant la survie à long terme des spermatozoïdes stockés chez la reine d'abeille, en comparant les spermatozoïdes éjaculés et stockés, notamment via l'analyse du protéome et du métabolisme énergétique.
16. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera carnica</i>) âgées de 0 et 1 an élevées en Croatie continentale	L'âge de la reine influence-t-il la taille de la spermathèque et le nombre des spermatozoïdes stockés ? Et quelles sont les implication pour la productivité de la colonie	Evaluer l'effet de l'âge de la reine sur le diamètre de la spermathèque et le nombre des SPZ stockés chez <i>Apis mellifera carnica</i> élevées en Croatie continentale

Résultats et discussion

Au départ, nous avons synthétisé dans un tableau de toutes les stratégies de méthodologie de chaque articles étudiés , ce tableau est présenté au niveau de l'annexe.

Le tableau suivant représente le résumé des méthodologies des articles selon les techniques utilisées.

Tableau III: ensemble des méthodologies partagées par un groupe d' articles

Stratégie	Méthodes principales utilisées	Objectifs spécifiques	Articles
1. Métabolisme et viabilité	- Mesure de la respiration cellulaire - Acidification du milieu (glycolyse) - Dosage d'ATP - RT-qPCR - Tests de viabilité	Évaluer le métabolisme aérobie et anaérobie des spermatozoïdes ; mesurer la production énergétique et la survie cellulaire ; comparer l'expression génique métabolique	1, 4, 8, 15
2. Microscopie et morphologie	- Microscopie optique, fluorescence, électronique - Observation directe	Observer la forme, la répartition et la mobilité des spermatozoïdes ; visualiser la	3, 4, 7, 10, 14, 16

	- Photographie numérique - Mesures morphométriques	structure interne ; comparer les reines vierges et accouplées	
3. Dissection et extraction	- Dissection des reines et spermathèques - Écrasement/mixage avec tampon - Extraction capillaire	Prélever le contenu des spermathèques et fluides associés sans contamination ; maintenir les conditions physiologiques optimales	2, 5, 6, 8, 12, 13, 14, 16
4. Comtage et quantification	- Hémocytomètre - Dilution contrôlée - Chambre de comptage	Quantifier le nombre de spermatozoïdes stockés ; comparer selon l'âge, les conditions ou les traitements	2, 7, 11, 12, 14; 16
5. Biochimie et profil protéique	- Spectrophotométrie enzymatique (LDH, GAPDH, etc.) - SDS-PAGE 1D/2D - Séquençage de protéines - Spectrométrie de masse	Identifier les enzymes et protéines impliquées dans la survie spermatique ; analyser les profils peptidiques et voies métaboliques	6, 13, 15
6. Expérimentation et statistiques	- Insémination instrumentale - Défécation provoquée - Exposition à	Tester l'effet de facteurs environnementaux ou expérimentaux sur la fertilité et la viabilité ; valider les	5, 9, 11, 12, 14

	pesticides/températures - Analyses statistiques	différences observées par des tests statistiques	
--	--	---	--

1. Analyse critique et comparative des stratégies méthodologiques utilisées dans l'étude du contenu de la spermathèque chez la reine d'abeille :

La spermathèque de la reine d'abeille (*Apis mellifera*) constitue un microenvironnement hautement spécialisé, permettant non seulement le stockage prolongé des spermatozoïdes, mais aussi le maintien de leur viabilité sur des périodes prolongées. Comprendre la composition fonctionnelle du contenu spermathéal, incluant les cellules germinales, les sécrétions glandulaires, les enzymes, les métabolites et autres facteurs moléculaires, représente un enjeu scientifique majeur. Les méthodologies recensées dans la littérature présentent une diversité stratégique notable, que nous analysons ici de manière critique selon leur pertinence, fiabilité, et limites expérimentales.

1.1. Technique de dissection et d'extraction :

La dissection manuelle des spermathèques et l'extraction de leur contenu par écrasement, microcentrifugation ou aspiration capillaire constituent une étape cruciale. Ces techniques permettent de récupérer à la fois les spermatozoïdes et les composés du fluide spermathéal (ions, enzymes, protéines solubles, métabolites).

Toutefois, leur fiabilité dépend fortement de la dextérité de l'expérimentateur. Une manipulation trop brusque peut entraîner la dégradation des spermatozoïdes ou la contamination par d'autres tissus (glandes, trachées, hémolymph), ce qui compromet la qualité des analyses. L'utilisation de techniques de microdissection sous stéréomicroscope, voire de microdissection laser, permettrait d'augmenter la pureté des échantillons. La mise en place de contrôles de qualité systématiques (protéines marquantes, tests de contamination) est également recommandée.

1.2. Approches morphologiques et microscopiques :

L'observation directe du contenu spermathéal par microscopie optique, à fluorescence ou électronique constitue un point de départ incontournable. Elle permet de visualiser la distribution et la morphologie des spermatozoïdes ainsi que la structure de la spermathèque. L'utilisation de colorants fluorescents (SYBR-14, iodure de propidium) améliore la précision des analyses de viabilité cellulaire.

Cependant, cette approche reste essentiellement descriptive, ne fournissant que peu d'informations sur la fonctionnalité des spermatozoïdes ou la nature biochimique du fluide spermathéal. Par ailleurs, les analyses sont souvent ponctuelles et peuvent ne pas refléter l'évolution dynamique du contenu dans le temps. Intégrer la microscopie confocale 3D ou la microscopie à deux photons pour visualiser les interactions dans un environnement proche de l'état natif. Coupler l'observation à

des marqueurs de stress, apoptose, ou activité mitochondriale renforcerait la portée fonctionnelle de cette approche.

1.3. Dosages enzymatiques et biochimiques : révélateurs d'activité métabolique :

Les analyses enzymatiques (LDH, GAPDH, CS, Arg-K...) et les dosages d'ATP ou d'acidification du milieu (glycolyse) ont permis de caractériser l'activité métabolique du contenu spermathécal. Ces données montrent l'existence d'un métabolisme actif, même dans des conditions hypoxiques, avec des substrats énergétiques spécifiques.

Ces techniques sont hautement pertinentes pour évaluer la fonctionnalité du contenu, mais elles nécessitent souvent des quantités importantes d'échantillons, difficilement disponibles chez l'abeille.

Afin d'améliorer la fiabilité des résultats, on peut Employer des systèmes de microdosage enzymatique adaptés aux très faibles volumes, ou utiliser des capteurs d'oxygène optiques pour suivre la respiration cellulaire en temps réel sur microvolumes.

1.4. Analyses protéiques et moléculaires :

Les techniques telles que la SDS-PAGE (1D et 2D), la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) et le séquençage de protéines ont permis d'identifier une diversité de protéines solubles présentes dans le fluide spermathécal. Certaines sont associées à la protection antioxydante, au transport ionique ou à la signalisation cellulaire. De plus, les analyses RT-qPCR sur des gènes spécifiques (ex. : gènes antioxydants) donnent un aperçu des activités transcriptionnelles liées à la survie du sperme.

Cependant, ces approches souffrent de limitations lorsqu'elles ne sont pas combinées à des données fonctionnelles. En effet, l'expression génique ou la présence d'une protéine ne garantit pas son activité biologique. C'est pourquoi il est crucial de compléter ces analyses avec des techniques comme le Western blot pour vérifier la traduction effective, et d'utiliser la transcriptomique à haut débit (RNA-seq) pour explorer de manière exhaustive les voies impliquées.

1.5. Etude expérimentales ciblées : outils de simulation utiles mais à standardiser :

Certaines études ont introduit des protocoles expérimentaux comme l'insémination avec du sperme mort/vivant, la variation de température, ou l'exposition à des composés chimiques (pesticides, acides gras). Ces approches permettent de tester des hypothèses causales sur la stabilité du contenu spermathécal et sa réaction aux stress.

Cependant, elles souffrent parfois de manque de contrôles expérimentaux stricts, de petites tailles d'échantillons, ou de variabilité biologique non maîtrisée. Dans cette perspective, l'introduction d'indicateurs moléculaires de stress (HSP, apoptose, ROS) et l'adoption de plans expérimentaux factorialisés avec modèles statistiques mixtes seraient des pistes méthodologiques permettant d'optimiser la robustesse de ces essais.

La robustesse de la méthodologie est gage de force des arguments présentés par les différents travaux dans l'ensemble des seize études analysées. En effet, la diversité des techniques mobilisées, allant de la microscopie à la spectrométrie de masse, en passant par les dosages enzymatiques, les analyses génétiques ou encore les modèles expérimentaux, reflète un effort systématique pour aborder le contenu spermathécal sous plusieurs angles complémentaires. Cette approche pluridimensionnelle contribue à renforcer la fiabilité des conclusions tirées, notamment en permettant une validation croisée des résultats à différents niveaux d'analyse : morphologique, cellulaire, biochimique et moléculaire.

En outre, plusieurs études ont veillé à intégrer des contrôles rigoureux, des répétitions expérimentales, et des méthodes statistiques adaptées, ce qui confère une solidité supplémentaire à leurs interprétations. La cohérence des résultats observés entre différentes équipes de recherche, malgré des contextes expérimentaux parfois variés, suggère une reproductibilité encourageante des phénomènes observés, notamment en ce qui concerne la composition, la stabilité et la fonctionnalité du contenu spermathécal.

Cependant, cette robustesse n'est pas absolue et mérite d'être renforcée. Certains travaux présentent encore des limites techniques (échantillons faibles, absence de validations croisées, conditions expérimentales simplifiées), ce qui appelle à une harmonisation des protocoles et à une utilisation plus large des approches intégratives. Ainsi, la convergence vers des méthodologies plus standardisées et technologiquement avancées constitue une voie prometteuse pour consolider davantage la crédibilité scientifique des futures études portant sur la spermathèque de la reine d'abeille.

L'ensemble des résultats par groupe d'article sont synthétisés dans un tableau qui se trouve dans l'annexe.

Le tableau suivant représente le résumé des résultats des articles regroupés selon la thématique.

Tableau IV: Résumé des résultats des groupes d'articles selon la thématique

Articles	thématiques	Principaux résultats
3 , 7 , 10	Comportement, mobilité et organisation des SPZ dans la spermathèque	-Les spermatozoïdes présentent une motilité stationnaire initialement, puis un mouvement circulaire localisé apparaît après l'insémination. -Bien qu'ils soient immobiles dans la spermathèque, leur activation peut être induite par les sécrétions glandulaires ou certains diluants, indépendamment du pH ou des ions. -Leur activité cesse rapidement dans l'eau distillée. -Les spermatozoïdes résistent à une large gamme de températures. -Leur distribution est structurée, avec des formes enroulées en périphérie, non enroulées au centre, et une densité plus élevée au centre chez les jeunes reines.
5, 8, 11, 14, 16	Dynamique et organisation des spermatozoïdes stockés.	-La viabilité du sperme est améliorée par la défécation avant insémination, mais non le nombre de spermatozoïdes stockés. - Des températures extrêmes réduisent fortement la viabilité, malgré l'effet stabilisateur partiel des abeilles accompagnatrices. -Le type de boîte de transport a un effet modéré sur les variations thermiques. -Chez les reines exposées au methoxyfénoside (MEOF), la quantité de sperme stocké diminue sans altération du développement ni des phéromones. -Les miticides réduisent le poids des reines et la capacité de stockage, rompant les corrélations observées chez les reines non traitées (poids–spermathèque–spermatozoïdes). - L'âge influence également la fertilité : les jeunes reines stockent plus de spermatozoïdes que les reines plus âgées, qui n'en conservent qu'environ 66,7 %. Enfin, le poids et la taille de la spermathèque sont corrélés positivement à la capacité de stockage, surtout chez les reines non traitées.
12	Amélioration des techniques d'insémination artificielle.	Le nombre et la viabilité des spermatozoïdes diminuent avec l'âge des reines, les reines de 2 ans ayant d'avantage de SPZ morts. Les SPZ morts ne sont pas éliminés de la spermathèque, étant entraînés par les vivants. L'insémination artificielle, notamment avec du sperme dilué et mélangé, améliore la survie des SPZ à long terme, contrairement au sperme de faux-bourçons ou au sperme tué, qui ne se stocke pas
1, 2, 9, 13, 15	Métabolisme et adaptation physiologique du sperme stocké.	-Le stockage des spermatozoïdes chez la reine repose sur des adaptations métaboliques spécifiques. -Dans l'environnement hypoxique de la spermathèque, les spermatozoïdes privilégient une glycolyse anaérobie, principalement via le GA3P, ce qui permet une production efficace d'ATP et limite les dommages oxydatifs.

		-Le gène GAPDH et les enzymes glycolytiques sont fortement exprimés. -Avec l'âge, le nombre et la motilité des spermatozoïdes diminuent, accompagnés de variations enzymatiques. -Des composés protecteurs comme les lipides, acides aminés et enzymes antioxydantes s'accumulent après l'accouplement. -Ces mécanismes assurent une viabilité prolongée, parfois sur plusieurs années, et ont des implications pour la sélection naturelle, la structure sociale des colonies et les pratiques en apiculture et conservation.
4	Stress oxydatif et régulation génique post-accouplement.	Les reines accouplées sont plus lourdes que les vierges, et présentent une double expression de gènes antioxydants (catalase, TXN2, TXNRD1).
6	Caractérisation des protéines de la spermathèque et du fluide spermathéal.	La concentration en protéines est plus élevée dans le fluide spermathéal des reines fécondées non pondeuses, avec deux protéines spécifiques (79 kDa et 29 kDa), cette dernière ayant une faible activité enzymatique

2. Analyse critique et comparative des résultats d'articles regroupés selon la thématique :

2.1. Environnement hypoxique et composition biochimique protectrice

Lors de l'accouplement, les spermatozoïdes migrent activement dans le canal spermathéal pour pouvoir être stockés dans la spermathèque. Cette migration est fortement dépendante de l'ATP qui est produite 18 fois plus par le métabolisme aérobie à partir de glucose par rapport à la glycolyse anaérobie.

Mais ce haut rendement énergétique vient avec un coût cellulaire : le métabolisme aérobie génère inévitablement des ROS, notamment le superoxyde ($O_2 \bullet^-$), le peroxyde d'hydrogène ($H_2 O_2$) et le radical hydroxyle ($\bullet OH$). Ces molécules oxydantes peuvent dégrader les phospholipides membranaires, inhiber les enzymes clés comme la GAPDH (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase) et induire l'apoptose des spermatozoïdes.

un métabolisme aérobie élevé permet aux spermatozoïdes d'être très mobiles et compétitifs au moment du transfert, donc plus de chances d'atteindre la spermathèque, mais engendre des dommages oxydatifs qui raccourcissent leur durée de vie, compromettant ainsi leur capacité à survivre sur le long terme dans la spermathèque. cela pose un enjeu évolutif : la compétitivité immédiate des spermatozoïdes (pour réussir à se faire stocker) s'oppose à leur viabilité à long terme.

C'est pourquoi une fois stockés, les spermatozoïdes passent à un métabolisme anaérobie, réduisent leur activité, et bénéficient d'un environnement hypoxique et enrichi en antioxydants, pour minimiser les ROS (Collins et al., 2004 ; Paynter et al., 2017). Les processus de métabolisme aérobie et anaérobie est illustré dans la figure suivante.

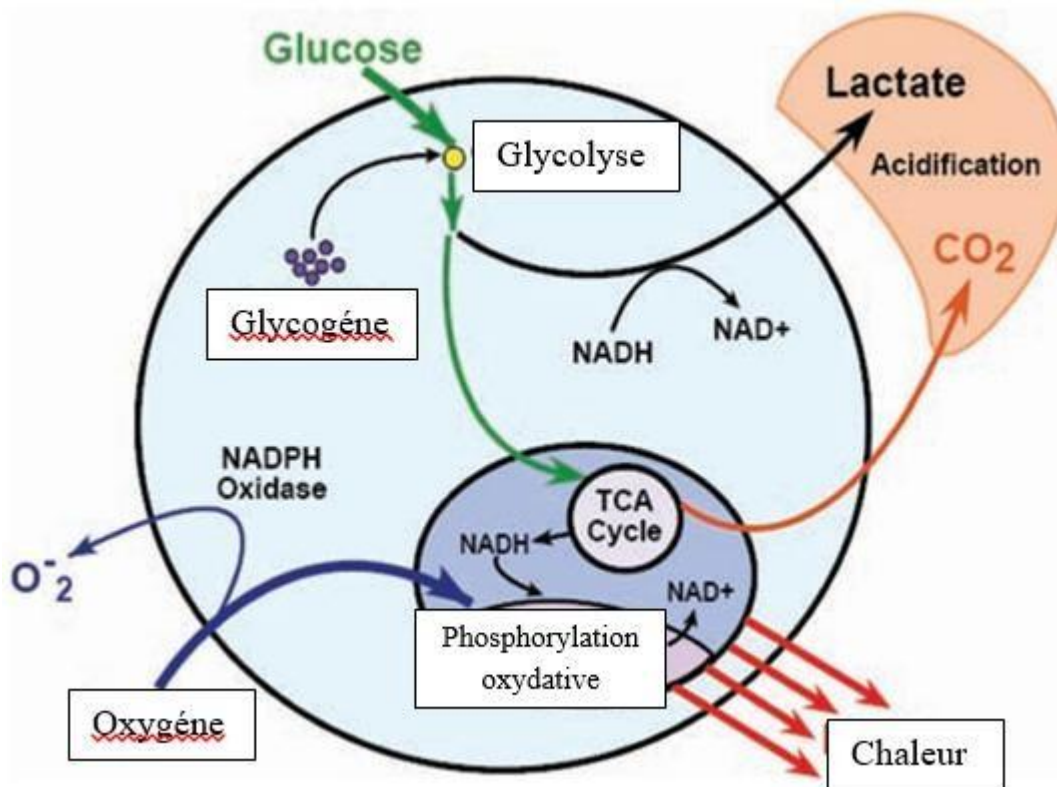


Figure 06 : Modèle métabolique simplifié montrant les voies aérobie et anaérobie (Paynter et al., 2017).

La composition du fluide spermathécral comprend des protéines spécifiques, des enzymes antioxydantes, des acides aminés protecteurs et des lipides. Deux protéines structurales majeures ont été identifiées : une de 79 kDa présente dans les sécrétions glandulaires, et une autre de 29 kDa dans le fluide spermathécral, avec une faible activité enzymatique (Collins & Donoghue, 2006). Ces protéines sont présentes en plus grande quantité chez les reines qui ont été fécondées mais qui ne pondent pas encore d'œufs. Cela suggère qu'elles interviennent particulièrement dans la phase où les spermatozoïdes sont stockés sans être activement utilisés. Leur rôle principal est de stabiliser les spermatozoïdes « au repos », c'est-à-dire dans un état où ils ne se déplacent pas et ne se divisent pas, ce qui est essentiel pour éviter leur dégradation prématurée.

Pour cela, ces protéines maintiennent l'intégrité structurale des spermatozoïdes, c'est-à-dire qu'elles aident à préserver la forme et la cohésion des cellules spermatiques, empêchant ainsi leur détérioration physique. En même temps, elles limitent leur activité métabolique, ce qui signifie qu'elles réduisent les processus biochimiques internes des

spermatozoïdes, diminuant la consommation d'énergie et la production de radicaux libres qui pourraient endommager les cellules.

Cette double action permet de conserver les spermatozoïdes en bon état pendant une longue période, parfois plusieurs années, dans la spermathèque, garantissant ainsi que la reine puisse féconder ses œufs tout au long de sa vie sans avoir besoin de nouvelles copulations.

Par ailleurs, des enzymes telles que la catalase, la thioredoxine (TXN2) et la thioredoxine réductase (TXNRD1) sont exprimées à des niveaux deux fois plus élevés chez les reines accouplées, indiquant une protection antioxydante active contre le stress oxydatif résiduel (Collins et al., 2004).

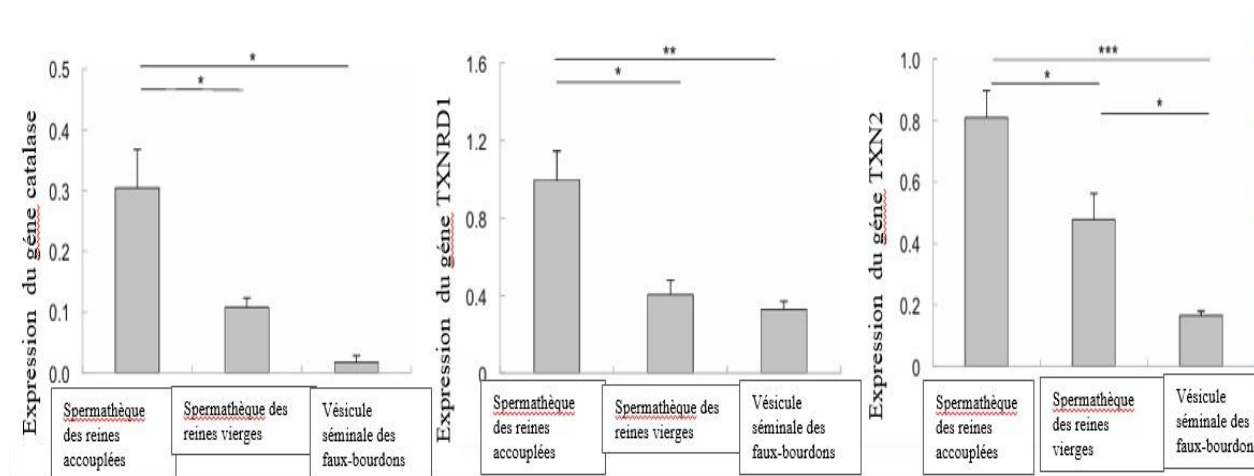


Figure 07 : Expression du gène catalase, TXNRD1 et TXN2 dans les SPZ des reine accouplées , vierges et des faux-bourçons

la catalase dans la spermathèque de la reine d'abeille agit comme une enzyme antioxydante clé, assurant la détoxification des peroxydes et protégeant les spermatozoïdes du stress oxydatif, ce qui est crucial pour leur conservation à long terme

La thioredoxine est une petite protéine redox-active (active dans les réactions d'oxydoréduction) présente dans presque toutes les cellules vivantes.

TXN2 est une isoforme mitochondriale de la thioredoxine, localisée dans les mitochondries, où elle joue un rôle crucial dans la régulation du stress oxydatif et le maintien de l'homéostasie redox (Collins et al., 2004).

Elle agit comme un antioxydant, protégeant les cellules des dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en réduisant les ponts disulfures oxydés sur les protéines, via ses résidus cystéine actifs (Paynter et al., 2017).

La thioredoxine réductase 1 (TXNRD1) est une enzyme flavoprotéique cytosolique qui réduit et recycle la thioredoxine en sa forme active réduite, en utilisant le NADPH comme cofacteur (Collins & Donoghue, 2006)

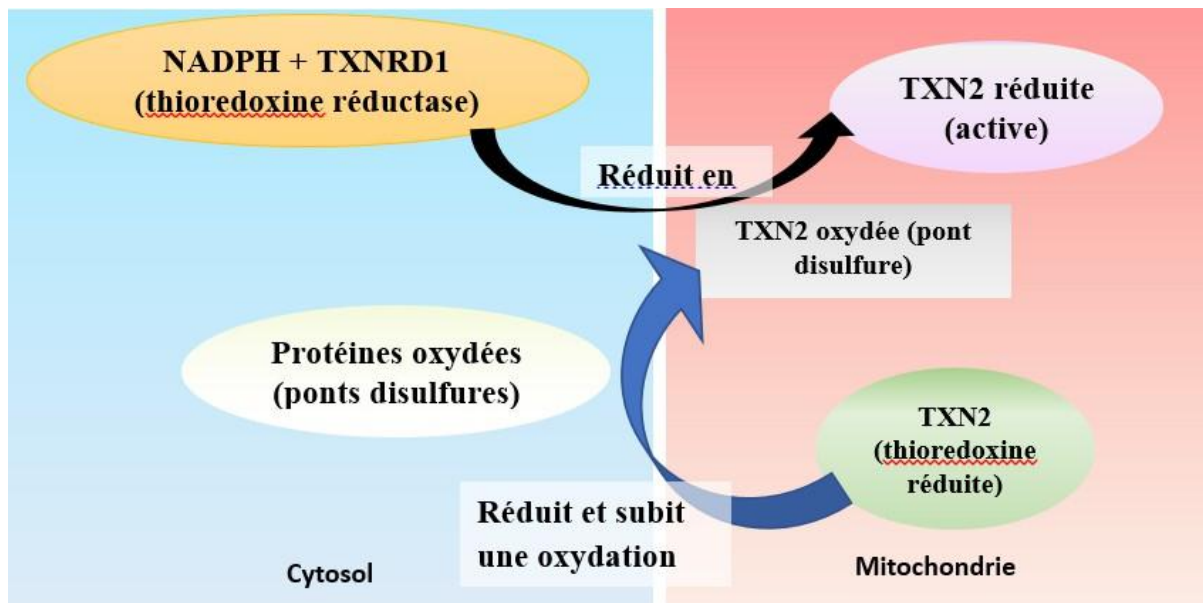


Figure 08 : Mécanisme de réduction des protéines oxydées par le système thioredoxine/thioredoxine réductase

2.2. Métabolisme spermathécail : glycolyse anaérobie spécialisée

chez la reine vierge, La spermathèque n'a pas encore reçu de spermatozoïdes. Elle est encore exposée à l'oxygène via les tissus environnants et n'a pas développé de mécanismes spécifiques pour limiter la diffusion d'oxygène. donc le taux d'oxygène y est modérément bas, mais présent . (figure 08).

Après l'accouplement, la spermathèque se remplit de spermatozoïdes et de sécrétions glandulaires qui forment une barrière limitant la diffusion de l'oxygène. Ces cellules consomment rapidement l'oxygène résiduel, créant un environnement hypoxique. De plus, les sécrétions réduisent encore la perméabilité à l'oxygène, aboutissant à une quasi-absence d'oxygène dans la spermathèque, condition essentielle pour préserver la viabilité des spermatozoïdes sur le long terme.

La paroi de la spermathèque est épaissie et sclérifiée, ce qui limite l'entrée d'oxygène. Le réseau trachéal entourant la spermathèque pourrait également retirer l'oxygène avant qu'il n'atteigne la lumière. L'oxygène qui pénétrerait malgré tout pourrait être neutralisé par les oxydases présentes dans le liquide spermathécail.

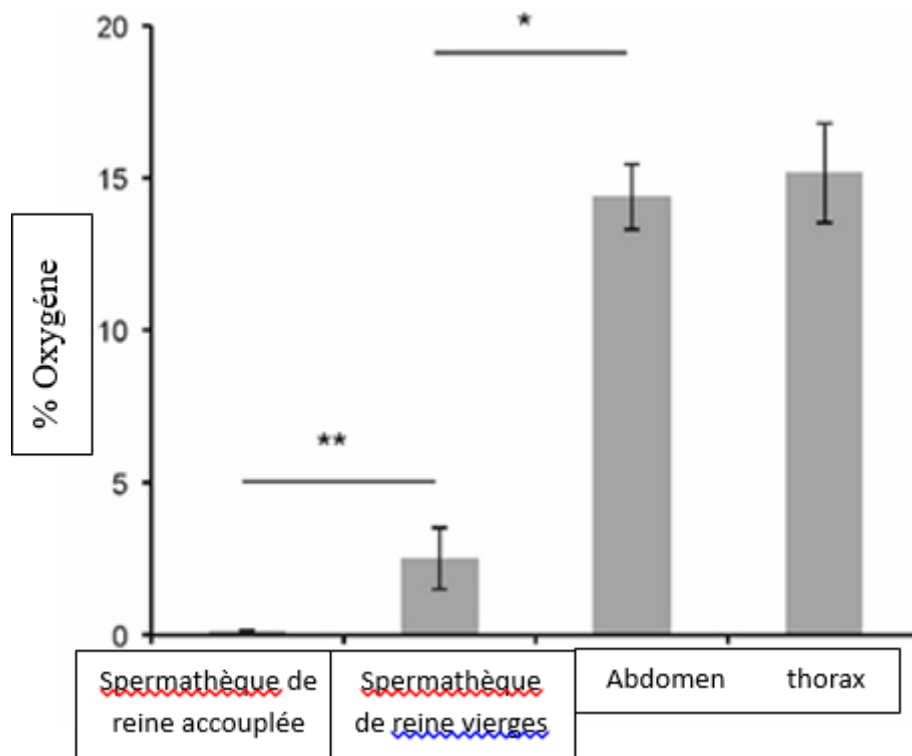


Figure 09 : Concentrations d'oxygène dans les tissus de l'abeille domestique. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard ($\pm 1SE$). * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$. (Paynter et al., 2017).

Dans ce milieu hypoxique (pauvre en oxygène), les spermatozoïdes stockés utilisent exclusivement une voie métabolique anaérobie, principalement via le glycéraldéhyde-3-phosphate (GA3P). Cette voie leur permet de produire de l'ATP sans générer de ROS, assurant leur viabilité sur le long terme.

La figure 09, extraite de l'article de Paynter et al. (2017), propose un modèle coopératif de ce métabolisme : les spermatozoïdes utilisent le GA3P via la glycolyse, produisant du lactate, ce qui contribue à acidifier modérément le milieu sans nuire à leur intégrité. Le gène GAPDH, codant une enzyme clé de cette voie, est exprimé jusqu'à 60 fois plus dans le sperme stocké que dans le sperme éjaculé, montrant une adaptation spécifique à cet environnement (Paynter et al., 2017).

- Métabolisme énergétique dans le spermatozoïde : glycolyse anaérobie privilégiée

La spermathèque présente une faible perméabilité à l'oxygène, créant un environnement hypoxique. Cette limitation empêche les spermatozoïdes d'utiliser efficacement la voie aérobie classique (cycle de Krebs et phosphorylation oxydative mitochondriale) pour produire de l'ATP. Par conséquent, ils privilégient la glycolyse anaérobie, convertissant le GA3P en lactate tout en générant de l'ATP sans oxygène (Faculté de médecine de

Constantine, 2025; Davila, 2018). Cette voie permet de maintenir un niveau minimal d'énergie nécessaire à la survie et à la mobilité des spermatozoïdes dans un environnement pauvre en oxygène, tout en limitant le stress oxydatif (Blesbois et al., 2016).

- Rôle du NADPH et de l'AMPK dans la gestion du stress oxydatif

L'AMPK, une kinase clé du métabolisme énergétique des spermatozoïdes, joue un rôle majeur dans la gestion du stress oxydatif. Elle stimule la production de NADPH intracellulaire via la voie des pentoses phosphates, ce qui est essentiel pour le maintien des systèmes antioxydants, notamment la glutathion peroxydase dépendante du NADPH. Ce mécanisme permet de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de protéger les spermatozoïdes contre la peroxydation lipidique et les dommages oxydatifs (Blesbois et al., 2016). Par ailleurs, l'AMPK régule l'oxydation des acides gras et inhibe leur synthèse, contribuant à réduire les ROS cytotoxiques et à préserver la qualité des spermatozoïdes (Blesbois et al., 2016).

- Rôle des mitochondries et conséquences physiologiques

Bien que la glycolyse anaérobie soit favorisée dans la spermathèque, les mitochondries des spermatozoïdes restent essentielles pour la production d'énergie, notamment lors de la reprise de la mobilité dans un environnement plus oxygéné. Ce mécanisme métabolique permet une survie prolongée des spermatozoïdes dans la spermathèque grâce à une production d'énergie adaptée à un environnement hypoxique, tout en limitant les dommages oxydatifs. La fourniture continue de GA3P par la spermathèque et son métabolisme anaérobie dans les spermatozoïdes garantissent ainsi une réserve énergétique fonctionnelle jusqu'à la fécondation (Davila, 2018).

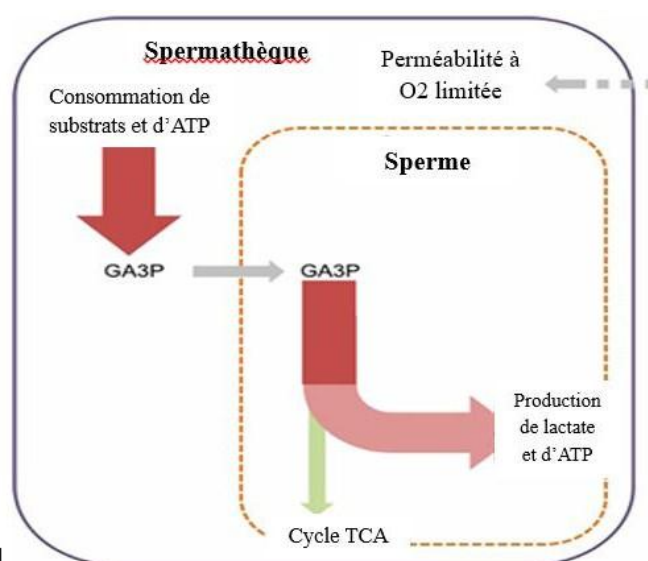


Figure 10 : Métabolisme coopératif proposé via le métabolisme glycolytique acidifiant pendant le stockage des spermatozoïdes.. (Paynter et al., 2017)

Des analyses protéomiques ont montré une forte abondance d'enzymes glycolytiques dans le sperme stocké et le fluide spermathéal. Parallèlement, les voies métaboliques des glycérophospholipides, de la lysine et de la signalisation mTOR sont enrichies après accouplement, contribuant à la stabilité membranaire, à la résistance au stress et à la maintenance énergétique passive (Baer et al., 2019).

2.3. Organisation cellulaire, motilité et quiescence :

L'organisation spatiale des spermatozoïdes dans la spermathèque de la reine d'abeille est caractérisée par une répartition distincte : les spermatozoïdes en forme enroulée se situent en périphérie, tandis que les formes déroulées s'accumulent au centre, où la densité cellulaire est la plus élevée. Cette organisation pourrait refléter une stratégie adaptative de libération échelonnée des spermatozoïdes, permettant à la reine de réguler progressivement la disponibilité du sperme au cours de sa vie reproductive.

Cependant, la question de la motilité des spermatozoïdes pendant leur stockage reste controversée. Certains chercheurs rapportent une immobilité totale des spermatozoïdes, suggérant un état de quiescence complet, tandis que d'autres ont observé un mouvement circulaire lent, principalement localisé à la périphérie de la spermathèque, qui peut persister jusqu'à plusieurs semaines après l'insémination. Ces divergences peuvent s'expliquer par les différences dans les méthodes d'observation utilisées (comme l'extraction capillaire, l'observation directe ou le test de broyage), ainsi que par la variabilité des états fonctionnels des spermatozoïdes à différents moments ou conditions (Collins et al., 2006).

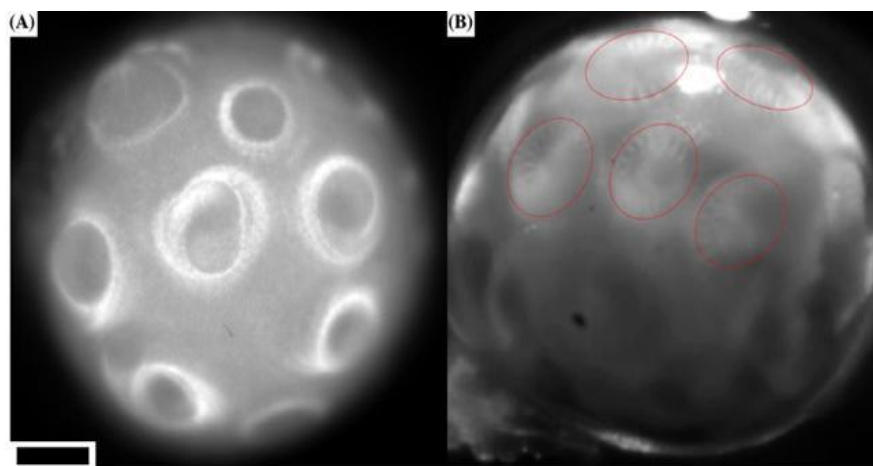


Figure 11 : Tourbillons de spermatozoïdes à l'intérieur de la spermathèque d'une reine d'abeille inséminée artificiellement (a) ou naturellement (b). (Tofilski, A., Chuda-Mickiewicz, B., & Czekońska, K., 2018)

Il est également établi que la motilité des spermatozoïdes peut être réactivée par l'exposition aux sécrétions contenues dans la spermathèque ou à certains diluants, indépendamment des variations de pH ou de la composition ionique du milieu. Cette capacité à basculer entre un état de quiescence contrôlée et une motilité active est essentielle pour la longévité du sperme : en limitant leur activité motrice, les spermatozoïdes réduisent leurs dépenses énergétiques et évitent ainsi une détérioration prématurée, ce qui contribue à leur conservation sur le long terme (Baer et al., 2019).

En résumé, l'organisation spatiale et la motilité variable des spermatozoïdes dans la spermathèque reflètent une adaptation complexe visant à optimiser la conservation et la libération progressive du sperme, bien que les mécanismes précis et les conditions influençant ces phénomènes nécessitent encore des investigations approfondies.

2.4. Facteurs physiologiques, environnementaux et chimique :

De nombreux facteurs influencent la qualité et la viabilité du sperme stocké. Par exemple, les températures extrêmes (6 °C ou 40 °C) affectent significativement la fertilité. Le type de boîte (plastique vs carton) et la présence d'abeilles accompagnatrices influencent la régulation thermique, bien que la chaleur reste difficile à maîtriser. À basse température (6 °C), la diminution excessive de l'activité enzymatique et métabolique peut provoquer un stress physiologique, entraînant une altération des membranes cellulaires par formation de cristaux de glace intracellulaires ou extracellulaires, ce qui compromet l'intégrité des spermatozoïdes. À haute température (40 °C), l'augmentation de la fluidité membranaire et l'accélération des réactions métaboliques génèrent un stress oxydatif accru, par la surproduction de radicaux libres, qui endommage l'ADN, les protéines et les lipides membranaires des spermatozoïdes. Ces altérations biochimiques et structurales réduisent significativement la capacité des spermatozoïdes à féconder les ovocytes. Ainsi, le maintien d'une température stable et optimale est crucial pour préserver la fonctionnalité et la longévité des spermatozoïdes dans la spermathèque.

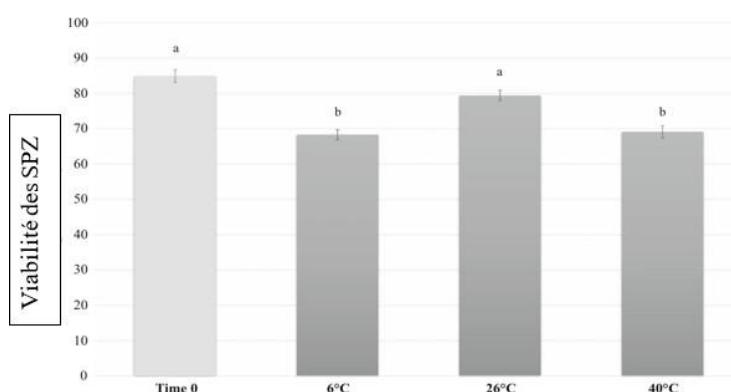


Figure 12 : Pourcentage de viabilité des spermatozoïdes à l'intérieur de la spermathèque de la reine, évalué au temps 0 et après 2 heures d'exposition à 6, 26 ou 40 °C

Les pesticides et résidus chimiques comme les miticides ou le methoxyfénozide réduisent la capacité de stockage spermatique sans affecter la morphologie ou les phéromones. Cela suggère une action directe sur la spermathèque ou sur le sperme lui-même (Rangel & Tarpy, 2015).

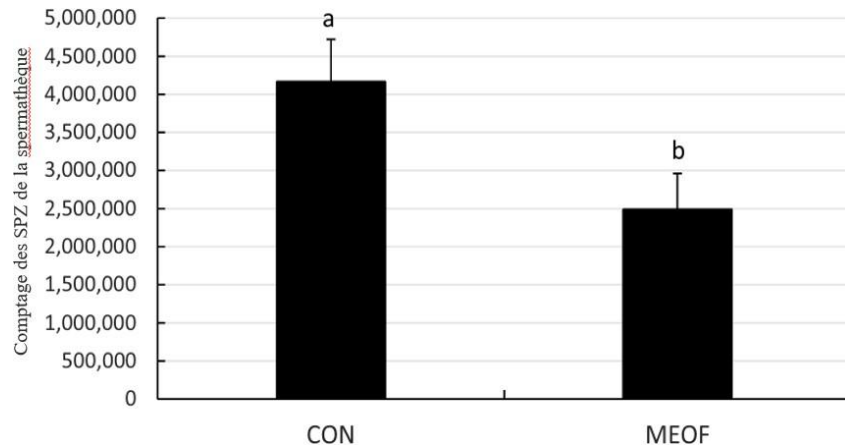


Figure 13 : Contenu spermatique stocké chez des reines remplaçantes nouvellement établies, élevées par des colonies exposées au méthoxyfénozide (MEOF) et des colonies témoins non exposées (CON). (Gonzalez, Ing, & Rangel, 2018)

Il existe également une corrélation positive entre la taille de la reine, le poids de la spermathèque et le nombre de spermatozoïdes stockés. Avec l'âge, la viabilité décline : les reines âgées montrent une augmentation du nombre de spermatozoïdes morts, sans mécanisme actif d'élimination.

Conclusion et perspectives

L'étude analytique du contenu de la spermathèque de la reine d'abeille (*Apis mellifera*) met en lumière un système de conservation des spermatozoïdes à la fois complexe et finement régulé, résultant d'une coévolution entre la biologie reproductive de l'espèce et son organisation sociale.

La spermathèque ne se limite pas à un simple réservoir passif : elle constitue un microenvironnement dynamique, hypoxique, biochimiquement actif, riche en protéines et en enzymes antioxydantes, garantissant la viabilité des spermatozoïdes sur plusieurs années.

L'analyse des seize articles scientifiques étudiés dans ce mémoire révèle que cette longévité repose sur des adaptations métaboliques spécifiques, une régulation moléculaire précise, et un isolement physique efficace du contenu spermathéal.

Les différentes méthodologies utilisées dans ces travaux, allant de la dissection à l'analyse protéomique, ont permis de mieux comprendre les mécanismes fonctionnels et les conditions internes favorables à la conservation du sperme.

Cette synthèse répond ainsi à la problématique posée en identifiant les principales caractéristiques biochimiques et fonctionnelles du contenu spermathéal qui assurent le stockage à long terme des spermatozoïdes.

Elle met également en évidence le rôle déterminant de facteurs environnementaux tels que la température, les pesticides ou le stress oxydatif dans le maintien de la fonctionnalité de la spermathèque.

Ces connaissances sont précieuses non seulement pour renforcer les pratiques apicoles et les stratégies de reproduction, mais aussi pour orienter les actions de conservation des abeilles face aux pressions environnementales croissantes

Perspectives

1. Approfondir l'analyse protéomique et métabolomique du fluide spermathéal
L'identification plus précise des protéines et des métabolites spécifiques pourrait permettre de mieux comprendre les mécanismes de conservation à long terme du sperme (Zareie et al., 2013 ; Liu et al., 2019).
2. Développer des techniques d'évaluation rapide de la qualité du contenu spermathéal
Des outils de diagnostic fondés sur la composition enzymatique ou antioxydante du milieu spermathéal pourraient servir en apiculture pour évaluer la fertilité des reines (Collins & Pettis, 2013 ; Paynter et al., 2017).
3. Explorer l'impact de nouveaux stress environnementaux (pollution, microplastiques, chaleur extrême)

La littérature met déjà en évidence l'impact des pesticides, mais peu d'études approfondissent les effets combinés de stress environnementaux émergents (Carroll et al., 2022 ; Degueldre & Aron, 2023).

4. Améliorer les techniques d'insémination instrumentale et de conservation des reines

Une meilleure compréhension du contenu spermathécal peut guider l'optimisation des milieux de dilution du sperme utilisés lors de l'insémination (Lodesani et al., 2004).

5. Mettre en place un programme de suivi de la fertilité des reines à l'échelle des exploitations apicoles

Le lien entre la fertilité de la reine et la stabilité de la colonie justifie le développement d'indicateurs de viabilité du sperme stocké (Kovačić et al., s.d.).

6. Étendre les recherches aux autres sous-espèces d'abeilles et aux espèces sociales apparentées.

Comparer différentes espèces ou sous-espèces permettrait de mieux comprendre l'évolution et la diversité des stratégies de stockage spermatique (Degueldre & Aron, 2023).

Références bibliographiques

- Adam, G. (2023). *Les individus de la colonie d'abeilles*. École d'apiculture Ruchers du Sud-Luxembourg.
- Adhimen, F., & Allaoui, M. (2010). *Élevage de reines d'abeilles* [Mémoire de fin d'étude, École Nationale Vétérinaire Supérieure – Alger].
- Baer, B. (2005). *Sexual selection in Apis bees*. *Apidologie*, 36(2), 187–200.
- Baer, B., Armitage, S. A. O., & Boomsma, J. J. (2006). Sperm storage induces an immunity cost in ants. *Nature*, 441(7095), 872–875.
- Baer, B., Armitage, S. A., & Boomsma, J. J. (2006). *Sperm storage induces an immunity cost in ants*. *Nature*, 441(7095), 872–875.
- Baer, B., Collins, J., Maalaps, K., & den Boer, S. P. A. (2009). Sperm use economy of honeybee (*Apis mellifera*) queens. *Ecology and Evolution*, 17(2), 408–416.
- Baer, B., Eubel, H., Taylor, N. L., O'Toole, N., & Millar, A. H. (2006). Does the royal jelly of honeybee queens protect stored sperm? *Ecology Letters*, 9(9), 1088–1094.
- Camargo, J. M. F. de, & Mello, M. L. S. (1970). Anatomy and histology of the genital tract, spermatheca, spermathecal duct and glands of *Apis mellifica* queens (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 1(4), 351–373.
- Carroll, M. J., Corby-Harris, V., Brown, N., Snyder, L., & Rietz, D. C. (2022). Methoxyfenozide has minimal effects on replacement queens but may negatively affect sperm storage. *Apidologie*.
- Carroll, M. J., Corby-Harris, V., Brown, N., Snyder, L., & Rietz, D. C. (2022). *Methoxyfenozide has minimal effects on replacement queens but may negatively affect sperm storage*. *Apidologie*.
- Catalase. (2005). Wikipédia.
- Clements, A. N., & Potter, S. A. (1967). The fine structure of the female reproductive system of *Aedes aegypti*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61(5), 637–646.
- Cobey, S., Tarpy, D. R., & Woyke, J. (2013). *Standard methods for instrumental insemination of Apis mellifera queens*. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1–18.
- Collins, A. M. (2004). Reproductive health of honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 35(3), 215–224. <https://doi.org/10.1051/apido:2004018>
- Collins, A. M., & Pettis, J. S. (2013). Correlation of queen size and spermathecal contents and effects of miticide exposure during development. *Apidologie*.

- Collins, A. M., Williams, V., & Evans, J. D. (2004). *Sperm storage and antioxidative enzyme expression in the honey bee, Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 13(2), 141–146.
- Czekońska, K., Chuda-Mickiewicz, B., & Chorbiński, P. (2009). The effect of induced defecation in honey bee queens on the number and viability of spermatozoa in the spermatheca after instrumental insemination. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 48(3), 153-158.
- Degueudre, F., & Aron, S. (2023). Long-term sperm storage in eusocial Hymenoptera. *Biological Reviews*.
- Ecole d'apiculture Sud-Luxembourg. (2010). *La biologie de l'abeille*.
- ESA-Mosta. (2024). *Chapitre I : Biologie de l'abeille*.
- Evans, J. D., & Schwarz, R. S. (2011). *Bees brought to their knees: Microbes affecting honey bee health*. *Trends in Microbiology*, 19(12), 614–620.
- Evans, J. D., & Schwarz, R. S. (2011). *Bees brought to their knees: Microbes affecting honey bee health*. *Trends in Microbiology*, 19(12), 614–620.
- Gallai, N., Salles, J. M., Settele, J., & Vaissière, B. E. (2009). *Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline*. *Ecological Economics*, 68(3), 810–821.
- Gonzalez, V. H., Engel, M. S., & Lattke, J. E. (2018). Evolution of sperm storage organs in bees and their role in female reproductive success. *Journal of Insect Physiology*, 104, 49–57.
- Guerriat, H. (2000). *Être performant en apiculture*. Éditions Rucher du Tilleul.
- Harano, K., Sasaki, M., & Sasaki, K. (2020). Regulation of sperm motility in honeybee queens: temporal and biochemical perspectives. *Journal of Apicultural Research*, 59(3), 291–299.
- Haydak, M. H. (1970). *Honey bee nutrition*. *Annual Review of Entomology*, 15, 143–156.
- Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2007). *Importance of pollinators in changing landscapes for world crops*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1608), 303–313.
- Klenk, M., Koeniger, G., Koeniger, N., & Fasold, H. (2004). Proteins in spermathecal gland secretion and spermathecal fluid and the properties of a 29 kDa protein in queens of *Apis mellifera*. *Apidologie*, 35, 371-381.
- Kovačić, M., Puškadija, Z., Šurlan Spitzer, I., & Krnjak, D. (s.d.). Number of spermatozoa in spermatheca of honey bee (*Apis mellifera carnica*) queens 0 and 1 year old reared in the conditions of continental Croatia. *Agriculture in Nature and Environment Protection*.
- Lehnherr, B., & Duvoisin, N. (2003). *Biologie de l'abeille*. Éditions VDRB.
- Lensky, Y., & Schindler, H. Motility and reversible inactivation of honeybee spermatozoa in vivo and in vitro. The Hebrew University, Faculty of Agriculture,

Rehovoth, The National and University Institute of Agriculture, Rehovoth (Israel).

- Liu, Z., Liu, F., Li, G., Chi, X., Wang, Y., Wang, H., Ma, L., Han, K., Zhao, G., Guo, X., & Xu, B. (2019). Metabolite support of long-term storage of sperm in the spermatheca of honeybee (*Apis mellifera*) queens. *Frontiers in Physiology*, 10, 994.
- Lodesani, M., Balduzzi, D., & Galli, A. (2004). Functional characterisation of semen in honeybee queen (*A.m. ligustica* S.) spermatheca and efficiency of the diluted semen technique in instrumental insemination. [Rapport scientifique].
- Martins, G. F., Serrão, J. E., & Dallai, R. (2008). Ultrastructural organization of the spermatheca in *Apis mellifera* queens. *Apidologie*, 39(5), 511–518.
- Michener, C. D. (2007). *The bees of the world* (2nd ed.). Johns Hopkins University Press.
- Pascini, T. V., & Martins, G. F. (2017). The insect spermatheca: An overview. *Zoology*, 121, 56–71.
- Paynter, E., et al. (2017). Insights into the molecular basis of long-term sperm storage in the honeybee queen. *Nature Communications*, 8(1), 1–11.
- Paynter, E., Eubel, H., Millar, A. H., & Baer, B. (2017). Insights into the molecular basis of long-term storage and survival of sperm in the honeybee (*Apis mellifera*). *Scientific Reports*, 7, 40236.
- Paynter, E., Gageda, M., Danka, R. G., Collins, A. M., Tarpy, D. R., & Oldroyd, B. P. (2017). *Insights into the molecular basis of long-term storage and survival of sperm in the honeybee queen spermatheca. Nature Communications*, 8, 982.
- Paynter, E., Gageda, M., Danka, R. G., Collins, A. M., Tarpy, D. R., & Oldroyd, B. P. (2017). *Insights into the molecular basis of long-term storage and survival of sperm in the honeybee queen spermatheca. Nature Communications*, 8, 982.
- Ricard, M. (2010). *Je fais mon miel : Manuel pratique d'apiculture*. Hachette Livres.
- Robinson, G. E. (1992). *Regulation of division of labor in insect societies. Annual Review of Entomology*, 37, 637–665.
- Rousseau, A., Houle, É., & Giovenazzo, P. (2020). Effect of shipping boxes, attendant bees, and temperature on honey bee queen sperm quality (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 51, 724-735.
- Seeley, T. D. (1995). *The wisdom of the hive: The social physiology of honey bee colonies*. Harvard University Press.
- Seeley, T. D. (2010). *Honeybee democracy*. Princeton University Press.
- Tarpy, D. R., Keller, J. J., Caren, J. R., & Delaney, D. A. (2012). Evaluating the mating ‘health’ of commercial honey bee queens. *Journal of Economic Entomology*, 105(1), 20–25.
- Tarpy, D. R., Pettis, J. S., & vanEngelsdorp, D. (2011). *The role of queens in colony collapse disorder. American Bee Journal*, 151(5), 391–394.

- Tarpy, D. R., vanEngelsdorp, D., & Pettis, J. S. (2012). *Genetic diversity affects colony survivorship in commercial honey bee colonies*. *Naturwissenschaften*, 99(1), 30–38.
- von Frisch, K. (1967). *The dance language and orientation of bees*. Harvard University Press
- Winston, M. L. (1987). *The biology of the honey bee*. Harvard University Press.
- Zareie, R., Eubel, H., Millar, A. H., & Baer, B. (2013). Long-term survival of high quality sperm: Insights into the sperm proteome of the honeybee *Apis mellifera*. *Journal of Proteome Research*.
- Zennouche, O. S., Iguer-Ouada, M., Benmeradi, N., & Mohammedi, A. (2016). Structure and organization of the spermatozoa within the spermatheca of honey bee queens *Apis mellifera intermissa* L. *Journal of Apicultural Research*.

Annexes

Tableau I : tableau de toutes les stratégies de méthodologie de chaque articles étudiés.

Titre de l'article	Techniques utilisées	Objectif de chaque technique
1- Aperçu des bases moléculaires du stockage à long-terme et de la survie des spermatozoïdes chez l'abeille domestique (<i>Apis mellifera</i>)	- Mesures de respiration cellulaire - Mesure de l'acidification du milieu (glycolyse) - Dosage de l'ATP - Test de viabilité cellulaire - Capteurs d'oxygène in situ - RT-qPCR (quantification des ARNm)	- Évaluer le métabolisme aérobie des spermatozoïdes - Quantifier le métabolisme anaérobie (glycolyse) - Mesurer la production énergétique selon le substrat utilisé - Déterminer l'effet des substrats sur la survie des spermatozoïdes - Mesurer l'environnement hypoxique de la spermathèque - Comparer l'expression de gènes métaboliques clés entre spermatozoïdes
2. Caractéristiques du contenu de la spermathèque	-Dissection, microcentrifugation et perturbation par sonication - Comptage des spermatozoïdes par hémacytomètre -Analyse de la mobilité par microscopie et logiciel CASA -Analyse enzymatique par spectrophotomètre(LDH, CS, GAPDH, Arg-K). -Analyse statistique	-Prélever les spermathèques et analyser leur contenu. - Évaluer la quantité de sperme stockée. -Étudier le mouvement des spermatozoïdes. -Évaluer le métabolisme énergétique des spermatozoïdes et des tissus.

3. Mouvement circulaire des spermatozoïdes	-Dissection et observation sous microscope fluorescent, après insémination instrumentale des reines par des spermatozoïdes colorés. -Coupes histologiques	-Suivie du comportement des spermatozoïdes avec le temps. -Evaluer la distribution des spermatozoides dans la spermathèque.
4. Upregulation of antioxidant genes in the spermathecae of honey bee (<i>Apis mellifera</i>) queens after mating	-Décapitation des reines sur un lit de glace carbonique -Mesures morphométriques -évaluation du nombre et viabilité des spermatozoides (microscope à fluorescence). -Purification d'ARN et production d'ADN complémentaire. -RT-qPCR sur 7 gènes antioxydants	- afin de préserver les tissus pour l'extraction d'ARN -comparer les paramètres morphologiques entre les reines vierges et accouplées. - Tester la viabilité des spermatozoïdes stockés -Évaluer les niveaux d'expression génique dans les spermathèques
5. L'effet de la defecation induite chez les reines d'abeilles sur le nombre et la viabilité des spermatozoides dans la spermathèque après l'insémination instrumentale	-Provocation de la défécation d'un des 2 groupes des reines avant l'insémination -Dissection et enlèvement de la trachée -Ecrasement des spermathèques et mixage de leurs contenues avec un tampon. -analyse du sperme par le système CASA, coloration fluorescente, comptage par la cytométrie en flux avec SYBR-14/IP	-preparation d'échantillons -récupération des spermathèques avec facilitation de manipulation -maintien des conditions physiologiques optimales - evaluation qualitative et quantitative

6. Les protéines dans les sécrétions de la glande spermathèque et le fluide spermathèque et les propriétés d'une protéine de 29 kDa chez les reines de <i>Apis mellifera</i>	Dissection de différents stades de développement des reines d'abeilles - Séparation des protéines solubles par SDS-PAGE 1D et 2D - Test immunologique (anticorps) - Séquençage de protéines - Dosage enzymatique	-Récupération des sécrétions glandulaires et du fluide spermathèque et d'hémolymphe - Identifier les profils protéiques - Confirmer l'identité des protéines - Analyser les séquences peptidiques - Évaluer l'activité enzymatique
7. Motilité et inactivation réversible des spermatozoïdes d'abeilles in vivo et in vitro	-Prélèvement des spermathèques des reines âgées 1an et des spermatozoïdes de faux-bourçons - Observation microscopique directe -Crush test avec ou sans glandes spermathécales. - Extraction capillaire du liquide spermathèque. - Ajout de différents diluants (tampon de PH, composants variés, eau distillée) Test de température	- Observer la motilité des spermatozoïdes issus de différents organes dans divers milieux - Tester l'effet des sécrétions des glandes spermathécales sur l'activation des SPZ - Prélever le liquide sans contamination par les glandes pour vérifier la mobilité naturelle des SPZ. -tester l'effet du PH, la composition ionique et la dilution sur l'activation des spermatozoïdes. - évaluer la résistance des SPZ à différentes T°
8. Effet des boîtes d'expédition, des abeilles accompagnatrices et de la température sur la qualité du sperme des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera</i>)	- Suivi des températures avec capteurs -Dissection des reines, rupture et homogénéisation des spermathèques dans un tampon. - Tests de viabilité du sperme (coloration fluorescence par SYBR-14 et iodure de propidium) - analyse statistique	- Enregistrer les conditions de transport -extraction et conservation du contenu de la spermathèque. - Évaluer les effets thermiques sur le sperme -comparer les mesures morphométriques des reines et la viabilité des spermatozoïdes entre les groupes expérimentaux.

9-Stockage à long terme des spermatozoïdes chez les insectes eusociaux : adaptation, mécanismes et conséquences	- Revue systématique de la littérature -Analyse comparative -Synthèse des données moléculaires -Approche intégrative	- Rassembler et comparer les données sur le stockage du sperme chez divers insectes sociaux - Identifier les convergences et divergences entre espèces et groupes taxonomiques - Mettre en évidence les gènes, protéines et voies métaboliques impliqués - Relier les niveaux physiologique, cellulaire et évolutif pour comprendre le phénomène
10. structure et organization des spermatozoides dans la spermathèque chez les reines d'abeilles <i>Apis mellifera intermissa</i> L.	- Microscopie électronique à balayage - Dissection des spermathèques - Observation de la forme des spermatozoïdes	- Visualiser la structure interne - Étudier l'organisation spatiale du sperme - Identifier des formes morphologiques
11.Methoxyfenozone has minimal effects on replacement queens but may negatively affect sperm storage	-Supplémentation en pollen + cire contaminée -Greffage de larves dans des cupules reines -Pesage des reines et comptage des ovarioles. -dosage des protéines (BCA assay), acides gras (FAME) -Extraction des phéromones mandibulaires (QMP/QRP) -Comptage des spermatozoïdes (fluorescence + hémocytomètre) et phéromones. - Analyses statistiques (ANOVA, Wilcoxon)	-simuler une exposition réaliste aux pesticides -Observer si l'exposition au MEOF perturbe le développement des reines. - Évaluer la maturation sexuelle et la taille corporelle. - Évaluer l'état nutritionnel des tissus reproducteurs et non-reproducteurs - vérifier si la communication chimique de la reine est altérée. - Évaluer la qualité du stockage spermatique -Comparer les données entre groupes MEOF et contrôle.

12. Caractérisation fonctionnelle du sperme dans la spermathèque de la reine des abeilles (<i>A.m.ligustica</i> S.) et efficacité de la technique de dilution du sperme dans l'insémination instrumentale.	-Dilution et analyse du contenu des spermathèques des reines de différents ages inséminées avec sperme frais. (1mois,1an, 2 an) -comptage des SPZ par hémocytomètre -analyse et Comparaison de viabilité entre les SPZ des spermathèques et des faux-bourçons par fluorescence. -insémination de reines vierges par des SPZ vivants, morts, 50% vivants 50% morts, puis diversification des jours d'inspection des spermathèques -dilution et comptage des SPZ -analyse statistique (ANOVA)	-Évaluer la viabilité et la concentration du sperme selon différents protocoles (sperme frais ou dilué). -Pour vérifier si les SPZ morts ont un effet sur le délai normale du remplissage de la spermathèque après insémination
13. Soutien métabolique au stockage à long terme des spermatozoïdes des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera</i>)	-Collecte des reines vierges (témoins) et fécondées -Dissection de la spermathèque -chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS). -Filtrage et analyse des données. -Analyse de l'enrichissement des voies métaboliques	-pour récupérer les spermathèques -extraction de métabolites -Quantifier les métabolites -Identifier les différences métaboliques significatives. -identifier les voies métaboliques enrichies.
14. Corrélation entre la taille de la reine et le contenu de la spermathèque et les effets de l'exposition aux mitocides pendant le développement	-exposition des groupes de reines aux 10, 100 ou 1000 ppm de mitocides depuis le stade larvaire. -Dissection des reines -photographie numérique. -chambre de comptage et technique spectrophotométrique	-Echantonnage - Mesure du poids des reines et des spermathèques. -Mesure du volume des spermathèques - Comptage des spermatozoïdes stockés -

	-analyse de la variance du poids des reines et des spermathèques	
15-Survie à long terme des spermatozoïdes de haute qualité : aperçus sur le protéome spermatique de l'abeille domestique <i>Apis mellifera</i>	-Mesures de respiration cellulaire - Mesure de l'acidification du milieu (glycolyse) - Dosage de l'ATP - Test de viabilité cellulaire - Capteurs d'oxygène in situ - RT-qPCR (quantification des ARNm) - Analyse protéomique (spectrométrie de masse)	- Évaluer le métabolisme aérobie des spermatozoïdes - Quantifier le métabolisme anaérobie (glycolyse) - Mesurer la production énergétique selon le substrat utilisé - Déterminer l'effet des substrats sur la survie des spermatozoïdes - Mesurer l'environnement hypoxique de la spermathèque - Comparer l'expression de gènes métaboliques clés entre spermatozoïdes - Identifier les protéines et enzymes impliquées dans la survie du sperme
16. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera carnica</i>) âgées de 0 et 1 an élevées en Croatie continentale	-Pesée des reines âgées de 0 et 1an -Dissection et extraction de la spermathèque -mesure du diamètre des spermathèques -Ecrasement des spermathèques et comptage par hémocytomètre -Analyse statistique	- mesurer la corrélation entre le poids et la taille de la spermathèque -pour le comptage des spermatozoïdes -evaluer la taille des spermathèques selon l'âge -quantifier le nombre des SPZ stockés -déterminer la significativité des différences observées

Tableau II : L'ensemble des résultats de chaque articles étudiés.

Titre de l'article	Principaux résultats	Conclusion
1- Aperçu des bases moléculaires du stockage à long-terme et de la survie des spermatozoïdes chez l'abeille domestique (<i>Apis mellifera</i>)	-Spermatozoïdes éjaculés : métabolisme aérobie et anaérobie, substrats efficaces (glucose, fructose, GA3P). -Spermatozoïdes stockés : glycolyse anaérobie via GA3P, production d'ATP supérieure. -Spermathèque : très hypoxique. -GAPDH : 60 fois plus exprimé dans le sperme stocké. -Viabilité : meilleure avec GA3P	-la survie exceptionnelle des spermatozoïdes chez l'abeille domestique repose sur une adaptation métabolique unique : le recours à la glycolyse anaérobie via le substrat GA3P dans des conditions hypoxiques. Cette adaptation minimise les dommages oxydatifs et maximise la durée de vie des spermatozoïdes stockés, assurant ainsi la fertilité de la reine sur plusieurs années. Ce travail éclaire les mécanismes évolutifs ayant permis aux insectes sociaux de développer des stratégies reproductives extrêmement efficaces.
2. Caractéristiques du contenu de la spermathèque	-Diminution du nombre et de la motilité des spermatozoïdes avec l'âge de la reine -changement de l'activité enzymatique selon l'enzyme et l'âge.	Changements considérables du profil du métabolisme énergétique de la spermathèque, du sperme ou des deux pendant le stockage du sperme.

3. Mouvement circulaire des spermatozoïdes	-Mouvement stationnaire des spermatozoides au début -Aparition d'un mouvement circulaire 16h après l'isémiation et se maintient jusqu'à 72 jours ; localisé près de la paroi. -Distribution homogène des spermatozoides chez les abeilles jeunes contrairement aux autres.	Les spermatozoïdes restent mobiles dans la spermathèque, et leur mouvement peut contribuer à la longévité du sperme.
4. Upregulation of antioxidant genes in the spermathecae of honey bee (<i>Apis mellifera</i>) queens after mating	- le poids humide des reines accouplées était en moyenne 12 % plus élevé que celui des reines vierges. -3 gènes (catalase, TXN2, TXNRD1) étaient exprimés 2× plus dans les reines accouplées.	-les gènes peuvent être induits transcriptionnellement après l'accouplement. -La surexpression des gènes antioxydants peut aider à maintenir la viabilité des spermatozoïdes à l'intérieur des spermathecae des reines fécondées.
5. L'effet de la defecation induite chez les reines d'abeilles sur le nombre et la viabilité des spermatozoides dans la spermathèque après l'insemination instrumentale	Aucune différence dans le nombre de spermatozoïdes, mais leur viabilité était plus forte chez les reines ayant déféqué.	La défécation induite des reines d'abeilles avant l'insémination n'affecte pas le nombre des spermatozoides stocké dans la spermathèque, mais augmente leur viabilité.
6. Les protéines dans les sécrétions de la glande spermathécale et le fluide spermathécale et les propriétés d'une protéine de 29 kDa chez les reines de <i>Apis mellifera</i>	- La concentration des protéines est plus élevée dans le fluide spermathécale et chez les reines fécondées non pondeuses. -Chez les reines sexuellement matures, présence de 2 bande de 79kDa et 29kDa dans la sécrétion glandulaire et le fluide respectivement. -La protéine 29 kDa a de faible activité enzymatique.	-Le fluide spermathécal contient une forte concentration en protéines, plus élevée chez les reines non pondeuses. -À partir de 10 jours, une protéine spécifique de 29 kDa apparaît uniquement dans le fluide spermathécal des reines matures. -Cette protéine présente une homologie partielle avec la TPI, mais son activité enzymatique est très faible, suggérant une

		fonction non enzymatique. Elle pourrait être impliquée dans le stockage prolongé des spermatozoïdes. -Les résultats montrent que des protéines d'origine féminine sont probablement essentielles à la survie des spermatozoïdes chez la reine d'Apis mellifera
7. Motilité et inactivation reversible des spermatozoides d'abeilles in vivo et in vitro	-selon l'observation et crush test : les SPZ sont immobiles dans la spermathèque, mais leur exposition aux sécrétions spermathécales et à certains diluants rend leur motilité observable. - l'extraction capillaire : les SPZ ne sont mobiles qu'en présence de sécrétions des glandes. - divers tempons et l'eau distillé activent les SPZ. -l'activation est indépendante de PH et de la composition ionique. -une simple dilution suffit à activer les SPZ, mais leur activité cesse rapidement dans l'eau distillé. -test de température : les SPZ d'abeilles résistent à une large gamme de T° (2°C à 45°C).	Les spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la reine d'abeille sont conservés immobiles pour économiser de l'énergie et prolonger leur viabilité sur de longues périodes. Leur activation peut se faire rapidement au contact de la sécrétion des glandes spermathécales ou par dilution, indépendamment du pH ou de la composition ionique du milieu.
8. Effet des boîtes d'expédition, des abeilles accompagnatrices et de la température sur la qualité du sperme des reines d'abeilles (Apis mellifera)	-Des températures extrêmes (6 °C ou 40 °C) réduisent significativement la viabilité du sperme. -Les abeilles accompagnatrices stabilisent la température.	-L'exposition des reines à 6 °C ou 40 °C pendant 2 h nuit à leur fertilité. Il est donc essentiel d'améliorer les conditions de transport pour éviter les variations de température, depuis la préparation jusqu'à l'introduction dans la colonie. Les abeilles accompagnatrices

	-à 40°C, Les abeilles accompagnatrices n'a pas suffi à éviter la surchauffe des boîtes -Le type de boîte (plastique ou carton) a eu un effet modéré sur la vitesse de changement de température.	aident à protéger contre le froid, mais ne suffisent pas face à la chaleur. -Les conditions de transport doivent être optimisées pour préserver la fertilité des reines.
9-Stockage à long terme des spermatozoïdes chez les insectes eusociaux : adaptation, mécanismes et conséquences	- Les reines d'insectes sociaux stockent du sperme viable pendant des années, parfois plus de 20 ans. La spermathèque est un organe spécialisé, hypoxique, limitant les dommages oxydatifs. Les spermatozoïdes stockés réduisent leur métabolisme, utilisent la glycolyse anaérobie (GA3P). Les sécrétions de la spermathèque contiennent des enzymes protectrices. Conséquences évolutives : accouplement unique, compétition spermatique intense, impact sur la structure sociale	-Le stockage à long terme du sperme chez les insectes eusociaux est un exemple remarquable d'adaptation évolutive, impliquant des modifications profondes au niveau physiologique, moléculaire et comportemental. Cette stratégie assure la fertilité des reines sur de longues périodes et a permis l'émergence de sociétés complexes et pérennes. Comprendre ces mécanismes offre des perspectives pour la biologie de la reproduction, l'écologie évolutive et la préservation des insectes pollinisateurs.
10. structure et organization des spermatozoides dans la spermathèque chez les reines d'abeilles Apis mellifera intermissa L.	-Distribution régulière des spermatozoïdes depuis la périphérie jusqu'au centre de la lumière. -Formes enroulées en périphérie et non enroulées au centre. -forte densité de spermatozoides dans le centre que dans la périphérie	-La longue durée de vie des spermatozoides n'est pas liée à un contact intime avec les cellules épithéliales. -Les gamètes sont réparties dans tout le volume de la spermathèque avec une disposition particulière selon les régions centrales et périphériques

11. Methoxyfénozide a des effets minimes sur les reines de remplacement, mais peut affecter négativement le stockage du sperme	Le développement des reines et leurs phéromones n'ont pas été affectés. -la quantité de sperme stocké a diminué chez les reines MEOF.	Le methoxyfénozide n'altère pas le développement des reines ni leurs signaux chimiques, mais il réduit la quantité de sperme stocké, ce qui pourrait raccourcir leur durée de vie reproductive.
12. Caractérisation fonctionnelle du sperme dans la spermathèque de la reine des abeilles (<i>A.m.ligustica</i> S.) et efficacité de la technique de dilution du sperme dans l'insémination instrumentale.	-Diminution du nombre des SPZ avec vieillissement des reines. - les reines âgées 2ans avaient le nombre plus élevé des SPZ morts. - la mortalité des spermatozoïdes augmente rapidement avec le temps -les reines inséminées artificiellement ont de faibles proportions de SPZ morts dans la spermathèque par rapport aux sperme de faux-bourçons -Pas d'élimination des SPZ morts lors du passage dans la spermathèque car ils sont entraînés par la migration des SPZ vivants -pas de SPZ dans la spermathèque des reines inséminées avec les SPZ tués - l'insémination par le sperme dilué et mélangé avait un taux de survie des SPZ élevé après 15 mois	-La motilité du sperme est essentielle pour son stockage -la méthodologie du mélange du sperme est plus efficace et fiable et est bénéfique du point de vue génétique et de la sélection mais avec un inconvénient qui est la double insémination.
13. Soutien métabolique au stockage à long terme des spermatozoïdes des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera</i>)	-Le stockage du sperme chez la reine d'abeille repose sur des adaptations métaboliques spécifiques	Le stockage à long terme du sperme chez la reine d'abeille s'appuie sur des adaptations métaboliques qui protègent et maintiennent la viabilité des spermatozoïdes, principalement grâce à une augmentation de certains lipides et

	-Les lipides protecteurs et certains acides aminés augmentent dans la spermathèque après l'accouplement -Le métabolisme anaérobie devient prédominant, ce qui limite la production de radicaux libres -Les voies métaboliques des glycérophospholipides, de la lysine et de la signalisation mTOR sont enrichies -Ces adaptations favorisent la viabilité du sperme et ont des implications pour l'apiculture et la conservation des abeilles	acides aminés, ainsi qu'un métabolisme anaérobie adapté.
14. Corrélation entre la taille de la reine et le contenu de la spermathèque et les effets de l'exposition aux miticides pendant le développement.	-les reines non traitées par les miticides étaient plus lourdes et avaient des spermathèques plus lourdes et remplies -Corrélation hautement significative entre le nombre de spermatozoides stockés, volume de spermathèque et le poids des reines non traitées -le poids de la spermathèque est bien corrélé au nombre des spermatozoides stockés chez les 2 groupes de reines -pas de corrélation significative entre le poids des reines traitées et leur nombre des spermatozoides stockés -pas de corrélation significative entre le poids des reines et le poids des spermathèques pour le groupe traité, mais hautement significatives pour l'autre	-Dans les conditions d'élevage normale, il ya une corrélation positive entre la tailles des reines, tailles et poids des spermathèques et le nombre des spermatozoides stockés -Les miticides affectent négativement le développement des reines et la capacité de stockage de sperme indépendamment de la taille.

15-Survie à long terme des spermatozoïdes de haute qualité : aperçus sur le protéome spermatique de l'abeille domestique <i>Apis mellifera</i>	- Les spermatozoïdes éjaculés utilisent métabolisme aérobie et anaérobie, avec glucose, fructose et GA3P comme substrats efficaces - Les spermatozoïdes stockés privilégient la glycolyse anaérobie avec GA3P, produisant plus d'ATP qu'avec fructose. - L'environnement de la spermathèque est très pauvre en oxygène. - Le gène GAPDH est 60 fois plus exprimé dans le sperme stocké. - Les enzymes glycolytiques sont plus abondantes dans le sperme stocké et le liquide de la spermathèque. - La viabilité du sperme est meilleure avec GA3P	- La longévité exceptionnelle des spermatozoïdes d'abeille repose sur l'utilisation de la glycolyse anaérobie via GA3P, soutenue par une forte expression d'enzymes glycolytiques. Cette adaptation minimise les dommages oxydatifs et maximise la durée de vie du sperme stocké, assurant la fertilité de la reine sur plusieurs années.
---	--	---

16. Nombre de spermatozoides dans la spermathèque des reines d'abeilles (<i>Apis mellifera carnica</i>) âgées de 0 et 1 an élevées en Croatie continentale	-Les reines d'un an sont plus lourdes que les jeunes reines -une corrélation positive entre le poids de la reine et le diamètre de la spermathèque. -les jeunes reines ont un nombre plus élevé de SPZ dans leurs spermathèques. -les reines d'un an conserve environ 66,7% du stock de SPZ de reine jeunes . -Corrélation positive et significative entre l'âge de la reine et la diminution du nombre des SPZ. -les reines plus lourdes ont des spermathèques plus grandes, capable de stocker plus de SPZ	-Le nombre des spermatozoides stockés dans la spermathèque des reines <i>Apis mellifera carnica</i> diminue significativement avec l'âge. -Une reine bien fécondée ayant stocké plus de 5millions de SPZ, peut assurer une ponte intensive pendant 2 ans. -Les reines lourdes ont des spermathèques plus grandes qui peuvent stocker plus de SPZ et ainsi assurer un meilleur développement de la colonie.
--	---	--

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université de Blida-1

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département de biologie



Mémoire de fin d'étude

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie et physiologie de la reproduction.

Thème

**Analyse d'études sur le contenu de la
spermathèque chez les abeilles**

Présenté par :

Ben Hamouche Nesrine

Soutenue le

16 Juillet 2025

Soutenu devant le jury:

Présidente : Mme. BENAZOUZ F.

MAA

USDB1

Examinatrice : Mme. KANANE A.

MCB

USDB1

Encadreur : Mr. BESSAAD A.

MCA

USDB1

Signature of Ben Hamouche Nesrine

Signature of the jury member

Année Académique 2024/2025