

République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche Scientifique



UNIVERSITE SAAD DAHLEB-BLIDA I

Institut des sciences vétérinaire

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Contribution à la caractérisation des abeilles reproductrices
(faux-bourdon et reine) et IA.

Présenté par:

BOUSSILA KHADIDJA

Devant le jury :

<i>President :</i>	BESSAAD.A	MCA	FSNVBlida
<i>Examineur :</i>	BESBACI.M	MAA	ISVBlida
<i>Promoteur :</i>	KAIDI.R	PR	ISVBlida

Année universitaire:2017/2018.

Remerciement

Nous remercions en premier lieu Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la force et la volonté à mener ce travail, et nous tenons également à remercier notre promoteur Mr KAIDI. D'avoir accepté de diriger ce travail.

Nous exprimons nos respects et nos remerciements à : Mr BESSADE qui nous a guidé pour effectuer ce mémoire. Nos remerciements s'adressent à Tous les Enseignants qui ont contribué à notre formation. Et à toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à la bonne réalisation de ce travail. .

Dédicace :

Je dédie ce travail

MES chers parents qui sont la bougie qui éclaire toujours ma vie

-A mes frères : ABD EL HALIM, FARES, ANES, YUCEF.

-A ma sœur : ROUMAÏSSA.

-A ma grande famille.

-A l'équipe d'AGRO-ASIL-PISICOL.de BOUMERDES.

-A mes amies AMAL SOUMIA MAROI IMANE MERIEME

-A la promotion de vétérinaire 2018.

Résumé :

L'apiculture a connu plusieurs changements ces dernières années c'est ce qui a induit une nette amélioration dans la productivité de la ruche ; exemple comme la technique de greffage des larves pour la production des jeunes et nouvelles reines. Ces jeunes reines sont introduites à des ruches orphelines après leur insémination

Cette technique permet d'éviter le gaspillage du temps et avoir une fécondation contrôlée et assurée, la production de population de bonne qualité à partir des semences et des mères sélectionnées.

Ces reines sont utilisées lors d'essaimage artificiel ou bien pour remplacer des reines perdues, ou vieilles ou bien de mauvaises qualités.

Ces dernières, sont vendues avec un paquet d'abeille dans plusieurs pays européens.

Nous, souhaitons que cette technique soit pratiquée dans notre pays dans les années qui suivent.

للخص:

عرف يدان تربي فالن حلت طور امل حوظا الاللسن وات الأخرة ذلك من تنقية الإنتاج داخل للاخوية
فبغى سويل الصال استع عمال طويق ققل العرق التي افعلقتي لايتج اوز عمره ا هي ام لأجلن إنتاج ملك اتي افعة تم وضع ها مكان
المسنة.

تدمج ملكات لاجهية والص غير ف يلس رب عدلتي حصلن اعى الى خلاي تي مة ألم لأجل استقبال ها.

النتلتي لظهن اعلي ملك اتي تم بغي مستوى مخبر خصرة و مج هز لفل ك.

تس م ح هتة التربي بقفادي لضع لقوقت ذلك أن هتس م صا ح صولت لتي ح موء لظهل ملكة وال شرروا ب ك رل لابض قلدى هته
الأخرة ك ما أن هتس م صا ح نتاج طك تم حسنة و ذاتن وعية حقا زة م من الال لتيق اء بلاء ال طكة.

تستعمل ملكات ال م حصل علي ها من اجل لظطري لظهن اعى أو مكان ال ملكات المسنة فالض طعة أو ذات الن وعي لظسوية .

إننا نتاج ملكات ال م ل قح قق هبا تي عرف علمي ا تي مبي ع ها مع مجموعة من الاعا الملكات يتتبعن ييب ها.

زان اظطعون أمل أرتي تم لتاقل هف يلبدن ا.

Summary:

Beekeeping has included several changes in recent years to improve the productivity of the hive as an example larval grafting technique aimed at producing young, new queens and replacing old queens. These young are introduced to orphaned hives after their inseminations to accept.

The insinuation of queens is practiced in specific laboratories it voids zester of time, has a controlled fertilization, ensure an early return to controlled laying, it also all we to produce well populates fro; seed and selected others.

Insemination queens are used during, either to replace lost queens, old queens, or poor qualities. These sold with a bee package in several European countries.

We hope that this kind of techniques developed in a few years to be well prettied and nattered in our country.

Liste des tableaux:

Tableau I : Morphologie et anatomie de la reine (1 996).....P4

Tableau II : Développement des mâles et des reines durant *la synchronisation d'élevage (1986)*.....p10

Tableau III : nombre de spermatozoïdes par faux bourdon.....p39

Liste des figures :

FIGURE 1 : La reine dans la ruche.....	p4.
FIGURE 2 : Appareil génital de la reine	p6.
Figure 3 : La reproduction chez l'abeille.....	p7.
FIGURE 4 : Les Différente parties de corps de faux-bourdon.....	p8.
FIGURE 4 : L'appareil génital mal et une éversion complète de l'endophallus.....	p8.
Figure N 5 : <i>Développement des mâles et des reines durant la synchronisation d'élevage</i>	p9.
Figure 6 : Un Cadre à mâles gaufré.....	p11.
FIGURE 7 : Un Cadre d'élevage de mâles.....	p11.
FIGURE 8 : n Cadre d'élevage de la reine	p12.
FIGURE 9 : les constitutions de cadre d'élevage.....	P12.
Figure N 10 : capture de la reine	p13.
Figure N 11 : Volière de capture de faux-bourdons.....	p14.
FIGURE 12 : Volière de capture de faux-bourdons.....	p15.
FIGURE 13 : Récolte des mâles dans la hausse et récolte des males sur un cadre	p15.
FIGURE14 : la CHAMBRE DE VOL pour faux-bourdons.....	p16.
FIGURE 15 : un appareil d'insémination.....	p18.
FIGURE 16 : Système d'anesthésie de la reine.....	p19.
FIGURE 17 : le technicien introduit le co2 (tube vert) dans le bocal contenant les cages des reines.....	p19.
FIGURE18 : matériel et produits à préparer pour chaque manipulation	p20.
Figure 19 : une Seringue schley.....	p22.

FIGURE 20: la Mise en place de la seringue.....	p23.
FIGURE21 : Capillaire et aiguille et serinage.....	p23.
FIGURE 22: Position de la seringue par apport au tube de contention.....	p24.
FIGURE 23 : Position du Capillaire par rapport au tube de contention.....	p24.
FIGURE 24: Fixation du système de contention, éviter le risque de bouger pendant la manipulation.....	p25.
FIGURE 25: <i>Positionnement de mâle et l'éversion de l'appareil génital.....</i>	26p.
FIGURE 26: Goutte de sperme aspirée par le capillaire.....	p26.
FIGURE 27 : Introduction de la reine dans le tube de contention.....	p28.
FIGURE28 : contention de la reine au système d'Anesthésie.....	p29.
FIGURE 29 : Ajustement en douceur de la reine.....	p30.
FIGURE 30 : les étapes de l'ouverture de la reine.....	p31.
FIGURE31 : Reine ouverte vue à travers l'objectif de la binoculaire.....	p31.
FIGURE 32 : extrémité de l'abdomen d'une reine correctement préparé pour l'insémination	p32.
Figure 33 : Dépôt de sperme dans la reine.....	p33.
Figure 34 : Appareil génital du faux bourdon.....	p36.
Figure 35 : éversion de l'endophallus.....	p37.
Figure 36 : Mouvement serpentin des spermatozoïdes (x300).....	p38.

Références bibliographiques

Annexes

Sommaire :

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Résumé en arabe	
Résumé en anglais	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1
I. Les caractéristiques des reproducteurs.....	3
I.1. La reine.....	3
I.1.1. Son importance dans la colonie	3
I.1.2. Morphologie et Anatomie.....	4
I.1.2.1. Appareil génital.....	6
II. Faux-bourdon.....	7
II.1. Son importance dans la colonie.....	7
II.2. Morphologie et Anatomie	8
II.2.1. Anatomie de l'appareil génital	9
II.3. Difficultés dans la production de mâles pour l'élevage et la conservation.....	9
III. L'accouplement.....	12
III.1. Naturel.....	12
III.2. Artificiel.....	12
III.3. Synchronisation d'élevage.....	12
III.3.1. Intérêt.....	12
III.3.2. La durée d'élevage.....	13

III.3.3.	Les Méthodes d'élevages des reines	13
III.4.	Préparation des reines à l'Insémination.....	15
III.4.1.	Préparation des reines au laboratoire.....	15
III.4.2.	Traitement des reines au laboratoire	15
III.5.	Transfert des mâles au labo.....	16
III.5.1.	La chambre de vol.....	17
III.5.2.	Influence de vol sur la Maturation des Mâles.....	18
III.5.3.	Nombre de Mâles utilisés.....	19
IV.	Laboratoire et Matériels d'Insémination.....	19
IV.1.	Appareil Insémination.....	19
IV.2.	Système.....	20
	d'Anesthésie.....	20
IV.3.	Matériel de manipulation des insectes	22
IV.4.	Les produits Chimiques.....	22
V.	Principe Etapes d'insémination.....	23
V.1.	Désinfection du Matériels.....	23
V.2.	Préparation et Réglage de la Seringue.....	24
V.2.1.	Réglage de l'Appareil d'Insémination.....	27
V.3.	Manipulation des mâles et Récolte du sperme.....	28
V.3.1.	Collection manuel (manuel éversion).....	28
V.3.2.	Anesthésié et Mise en place de la reine.....	30
V.3.3.	Positionnement des crochets.....	31
V.3.4.	Ouverture de la reine.....	32
V.4.	L'insémination.....	34
V.4.1.	Pénétration de la reine.....	35
VI.	Traitement après insémination	36
VII.	Traitement après insémination	34
I.	TROISIEME PARTIE	35
a.	Objectif.....	35
II.	Matériels et méthodes	35

a.	Présentation de la période et de la zone d'étude.....	35
III.	Matériel biologique.....	35
IV.	Méthodes de travail.....	35
a.	Choix et capture des mâles.....	35
b.	Dissection.....	35
V.	Récolte des mâles.....	36
a.	Comptage.....	37
VI.	Résultats et Discussion.....	37
a.	Maturité sexuelle.....	37
b.	Nombre de spermatozoïdes par faux bourdon	38

Conclusion

Références bibliographiques

Introduction:

« *Tant vaut la reine, tant vaut la ruche* » Robert Beldame, Technique Apicole Moderne, 1942.

Nous commençons notre introduction par cette phrase lourde de sens de Robert Beldame reprise depuis 1942 par beaucoup d'articles scientifiques et d'applications.

Avec les pertes de colonies qui augmentent, il est devenu très important de veiller à la qualité des colonies, et donc la qualité de la reine.

L'homme élève des abeilles depuis environ 12 000 ans. L'apiculture concerne l'élevage de l'abeille domestique (*Apis mellifera*, déjà présente il y a quatre millions d'années sur Terre).

L'abeille est un hyménoptère, appartenant au genre *Apis* qui comporte quatre espèces sociales dont trois originaires d'AFRICAINES : ***Apis mellifera intermissa*** Buttel-Reepen (abeilles Telliennes) elle existe au nord de l'Afrique favorables (Louveau, cité par Ruttner 1975).

Apis mellifera lamarckii Cockerell (abeille égyptienne auparavant appelée ***fasciata***) sont trouvées dans le nord-est africain (von Frisch 1967).

Apis mellifera scutellata Lepeletier (**abeilles** de l'est africain) Ruttner (1975).

L'apiculture, branche de l'agriculture, est l'élevage d'abeilles par l'homme pour exploiter les produits de la ruche. L'apiculteur doit procurer à l'abeille un abri, des soins et veiller sur son environnement, et de ce fait, il pourra récolter une partie mesurée de ces produits, tel que : Miel, pollen, cire, gelée royale et propolis.

La ruche d'abeille comprends trois individus ; le faux-bourdon, les ouvrières et la reine.

Cette dernière est la mère des abeilles et qui assure une continuité génétique .Elle est fécondée une seule fois dans sa vie par une dizaine de mâles. Elle stocke la semence de ces derniers dans un sac spermathèque qui sera utilisé durant toute sa vie (3 à 5ans.)

La fécondation naturelle de la reine se fait à l'air libre par plusieurs mâles, parfois elle nécessite plusieurs vols jusque au remplissage de se sac spermathèque. Sa fécondation peut être retardée suite à des conditions climatiques défavorables.

Il y a donc un retard de ponte, considéré comme un gaspillage de temps.

La reine peut être fécondée par des mâles ne portant pas les caractères génétiques demandés, comme elle peut être perdue où mourir pendant ce vol nuptial.

Afin de palier à ces difficultés et pour aussi, s'assurer de l'amélioration génétique des descendants, il est recommandé d'appliquer l'une des biotechnologies les plus utilisées en production animale en général et en apiculture en particulier, en l'occurrence l'Insémination

Artificiel ou encore appelée : l'instrumentation Artificielle. Cette dernière permet une utilisation de semences sélectionnées avec un contrôle de la fécondation.

Elle permet aussi d'avoir une ponte précoce.

Nous nous sommes intéressés à l'élevage des reines. De ce fait, une approche synthétique des différents travaux réalisés par l'équipe du Prof KAIDI Rachid du laboratoire des Biotechnologies liées à la Reproduction Animale (LBRA) est présentée dans ce mémoire.

Ce dernier est divisé en trois parties :

La première comporte les caractéristiques anatomiques et physiologiques des reproducteurs (faux bourdons et reine).

La deuxième s'intéresse à l'instrumentation artificielle.

La troisième est une synthèse de quelques travaux réalisés au sein du laboratoire 'LBRA'.

Première partie : les reproducteurs.

I. Les caractéristiques des reproducteurs :

I.1. La reine :

La reine seule pond des œufs fécondés (diploïdes) qui donneront des femelles. La différence entre reine et ouvrière provient uniquement de la nourriture, différente, qu'elles ont reçue à partir du 3ème jour de leur développement larvaire.

Elle ne possède ni les organes sécréteurs de la cire, ni les appareils de récolte du pollen ou du miel (Voir Figure 01). Elle ne sait même pas s'alimenter seule et peut mourir de faim même en présence de nourriture (William, 2010).

I.1.1. Son importance dans la colonie :

La reine, seule vraie femelle de la colonie, est la mère de toutes les abeilles d'une ruche. Elle passe la plus part de son temps à pondre la durée de vie généralement 4 ans à 5ans, elle ne butine pas et ne construit pas d'alvéoles. Elle est alimentée et soignée par des ouvrières qui constituent sa suite, elle joue aussi un rôle important de part la sécrétion d'une phéromone.

On lui attribue deux rôles :

- Attirer les ouvrières et maintenir ainsi l'effet de groupe dans la colonie.
- Bloquer le développement ovarien des ouvrières et la constitution des cellules royales, empêchant ainsi la naissance de nouvelles reines.

Cependant, il est important de signaler que la valeur d'une colonie est fortement liée à celle de la reine. Cette valeur dépend des caractères qu'elle transmettra à sa descendance et qui sont inscrit dans ses gènes. D'où l'importance de choisir une reine de bonne qualité à la tête d'une population. Mais elle dépend également de sa vigueur, de sa fécondité, liée non seulement à son hérédité, mais aux conditions dans lesquelles elle a été élevée.

La reine intervient également d'une façon directe pour assurer son unicité et sa souveraineté dans la colonie, c'est ainsi que la première reine formée détruit celles qui ne sont pas encore éclos. Si deux reines apparaissent simultanément, leur rencontre donnera lieu à un duel à l'issue duquel il n'y a qu'une survivante.

Après son éclosion, cette reine s'accouple et commence à pondre. Elle a une capacité de produire les phéromones empêchant la construction de nouvelles cellules royales. La quantité d'œufs pondus par jour est variable, et peut dépasser les 3000 (William, 2010).



Figure 01 : la reine dans la ruche. (Photo personnelle, 2018).

I.1.2. Morphologie et Anatomie :

Le tableau n°1 résume les caractéristiques morphologiques et anatomiques de la reine.

Partie du corps	Caractéristiques morphologiques et anatomiques
<p>1°/ Tête : composée</p> <ul style="list-style-type: none"> • A la partie postérieure • A la partie supérieure • De côté • A la partie antérieure moyenne et inférieure 	<ul style="list-style-type: none"> - Relativement arrondie. - L'occiput. - Vertex. - Le front sur lequel s'insèrent 3 yeux simples. - Les antennes. - Les joues portant latéralement les yeux composés. - Le chaperon. - La bouche comprend : La lèvre supérieure ou labre. Deux mandibules. Deux mâchoires avec les palpes maxillaires. Le submenton. Le menton portant la lèvre inférieure qui porte la langue et les palpes labiaux.
<p>2°/ tronc : comprend</p> <ul style="list-style-type: none"> • Le thorax 	<p>Le thorax comprend 3 segments soudés d'avant.</p> <ul style="list-style-type: none"> - En arrière : - Prothorax, porte la première paire de pattes.

-
- Mésothorax, porte la deuxième paire de pattes et la première paire d'aile.
 - Métathorax, porte la troisième paire de patte et la deuxième paire d'aile.
- L'abdomen comprend : C'est la partie la plus volumineuse, elle comprend 10 segments.
 - L'appareil respiratoire Chaque segment porte deux stigmates en rapport avec 20 trachées, dont 6 sur le prothorax et 14 sur les anneaux abdominaux.
 - L'appareil circulatoire. Comprend une cavité allongée au cœur terminée par une courte aorte, le sang de l'aorte et il est reparti dans tout le corps autour des organes.
 - Le tube digestif. Comprend la bouche, l'œsophage, l'intestin moyen, le tube de Malpighi, l'intestin postérieur et le rectum.
Longueur : 35.5 mm
Diamètre : 0.25 à 2.5mm
Volume : 150 à 160mm³
 - Le système nerveux Constitué en un certain nombre de petits amas ou ganglions, en partant de la tête nous trouvons :
 - * Un ganglion cérébroside
 - * Un ganglion sous œsophagien.
 - * Deux ganglions thoraciques.
 - * Une épine abdominale comprend 4 ganglions.De chaque ganglion partent des nerfs aux organes des sens, aux muscles de tronc et aux muscles des membres de chaque segment.
 - L'appareil génital Il comprend : deux ovaires, l'oviducte, le vagin et la spermathèque.
 - L'appareil vulnérant C'est une dépendance de l'organe de l'appareil génital femelle ; la reine ne tire pas l'aiguillon contre l'homme, mais seulement contre sa ou ses rivales.

Chettouf et Klai, 1996.

I.1.2.1. l'appareil génital de la reine :

D'après Ruttner et Koeniger (1989) ; l'appareil génital de la reine comprend 4 parties Principales :

Organes de production d'œuf : Deux ovaires (voir Figure 02).

Organes conducteurs : Deux oviductes et Une cavité vaginale.

Organes annexes : spermatiques avec la glande en y.

Organes d'accouplement : la chambre d'aiguillon ou poche copulatrice.

Chaque ovaire est constitué par 150 à 180 tubes ovariens ou varioles débouchant dans un oviducte latéral.

Les deux oviductes latéraux se rejoignent pour former un court oviducte médian, celui-ci, en se dilatant, constitue la cavité vaginale, séparée transversalement en deux par un repli muqueux situé au-dessous de l'orifice du canal de la spermathèque.

La spermathèque est une sphère creuse où s'emmagent les spermatozoïdes.

Les tubules ovariens constituant les ovaires sont alors en mesure d'élaborer les cellules germinatives qui sont à l'origine de la formation des ovules, lesquels en se développant formeront les œufs.

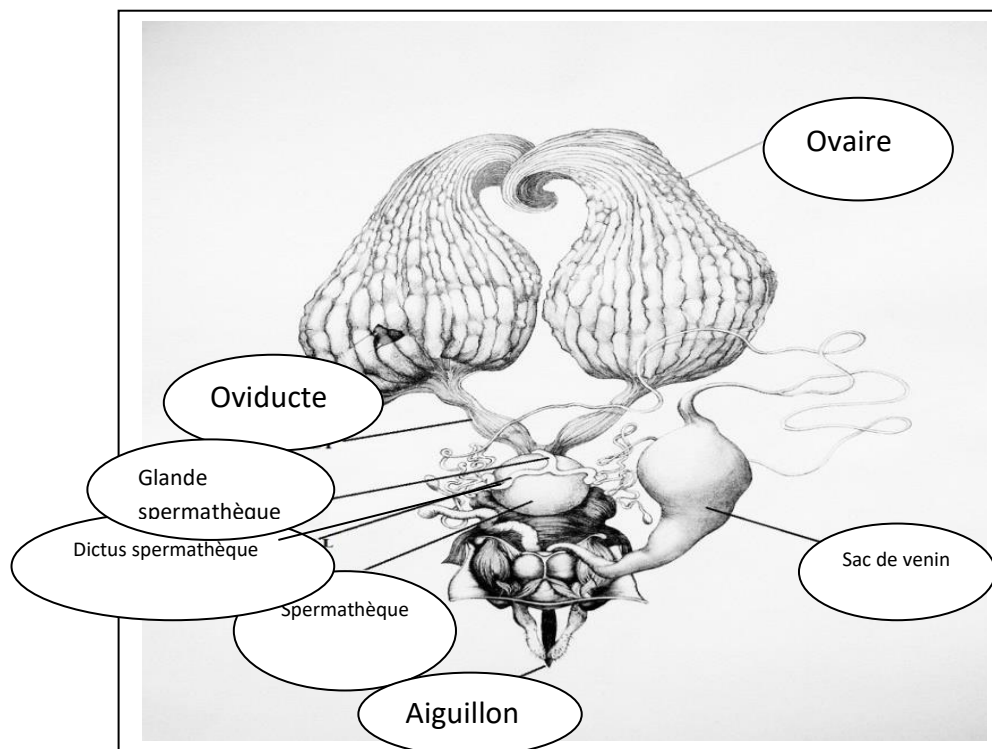


Figure 02 : Schéma de l'Appareil génital de la reine. <http://www.apistory.fr>

Consulté le : 01/05/2018.

La cavité vaginale est séparée de la chambre de l'aiguille par un repli circulaire. De chaque Côté de l'ouverture vaginale deux autres cavité (les bourses copulatrices).

La chambre de l'aiguille est située au-dessous de l'appareil vulnérant au niveau du 6eme segment.

Les ovaires de la reine relativement réduits à sa naissance, se développent très rapidement après la fécondation.

II. Le faux bourdon(le mâle) :

Le faux-bourdon est le mâle des abeilles, c'est le plus gros insecte de la colonie.

Les mâles sont issus d'œufs non fécondés (haploïde) qui peuvent provenir de la reine ou des ouvrières (fausses reines ou ouvrières pondeuses).

II.1. Son importance dans la colonie :

Est fécondé les jeunes reines.

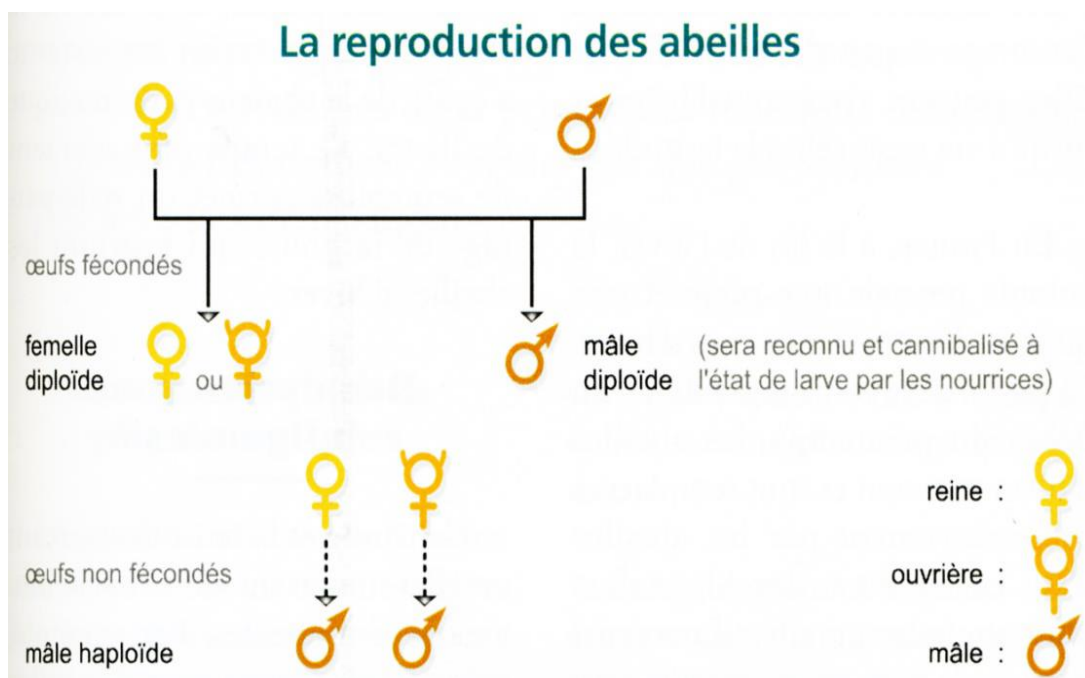


Figure 03 : la reproduction chez l'abeille.

Extrait du traité Rustica de l'apiculture – août 2009, ISBN 978-2-84038-734-3 – p54-55.

II.2. Morphologie et Anatomie :

Il est trapu et son thorax est couvert de poils. L'abdomen est arrondi (Voir Fig 04). Ils n'ont point d'aiguillon. Pas appareille de récolte de pollen, pas production de cire ni de Miel, ils sont éliminés après la fin de saison.

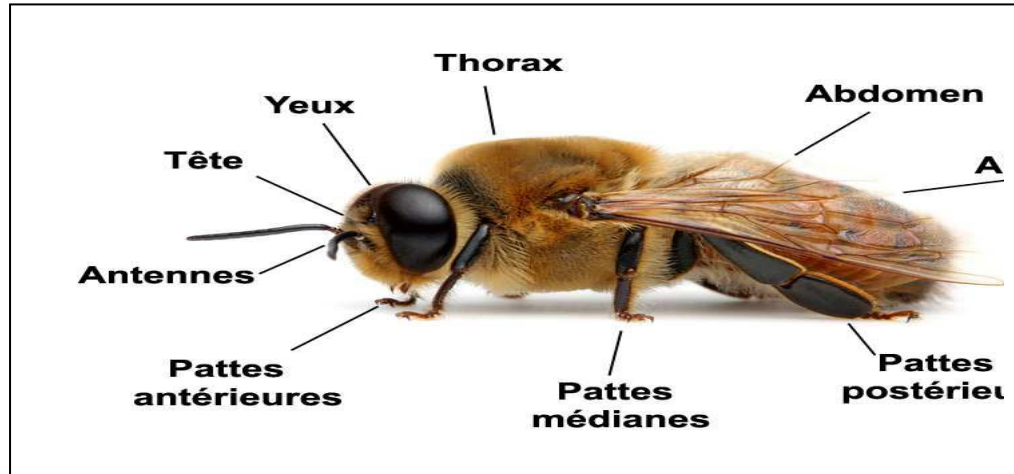


Figure 04 : les Différente parties de corps de faux-bourdon. <http://www.apistory.fr>, consulté le 05/01/202018.

II.2.1. Anatomie de l'appareil génital mâle :

Les mâles possèdent des organes sexuels plus volumineux en proportion des dimensions de leur corps par rapport à ceux des autres animaux. (Voir Figure 05)

D'après Guth, et Al 2008, les organes génitaux des mâles comprennent:

- 02 Testicules.
- 02 Vésicules séminales.
- 02 Glandes à mucus.
- 01 Canal éjaculateur.
- 01 Bulbe de l'End phallus avec lobe plissé.

Les deux testicules situés dans la partie supérieure abdominale sont de forme approximativement triangulaire. Ils sont constitués par des faisceaux de tubes séminifères (270 à 275 par testicule).

Les tubes séminifères débouchent, à la base du testicule, au canal déférant qui aboutit à la vésicule séminale.

La vésicule séminale élabore le liquide séminal devant servir de nourriture et de produit de conservation aux spermatozoïdes.

Chaque vésicule débouche à la base de la glande à mucus.

Les glandes à mucus dans le canal éjaculateur; lequel; simple conduit, aboutit au bulbe ou pénis.

Les glandes séminales et à mucus sont fermées par une membrane très mince.

Le bulbe est très globuleux et fortement musclé. Il se situe entre les 6ème et 7ème segments abdominaux ; sur le bulbe, on peut remarquer le champ spiral, le lobe plissé et, avec la base, la bourse et les coronules ou pneumo physes qui serviront à la fixation des organes mâles lors de l'accouplement.

Les mâles, à leur sortie de l'alvéole ont des testicules non fonctionnels et d'une taille réduite au tiers de celle qu'ils possèdent à l'état nymphal.

Les spermatozoïdes migrant par le canal déférant s'amassent dans les parois, ils mûrissent et se transforment en spermatozoïdes.

Les spermatozoïdes sont mûrs à partir du 12ème jour de la vie du mâle. (Guth et Al, 2008).

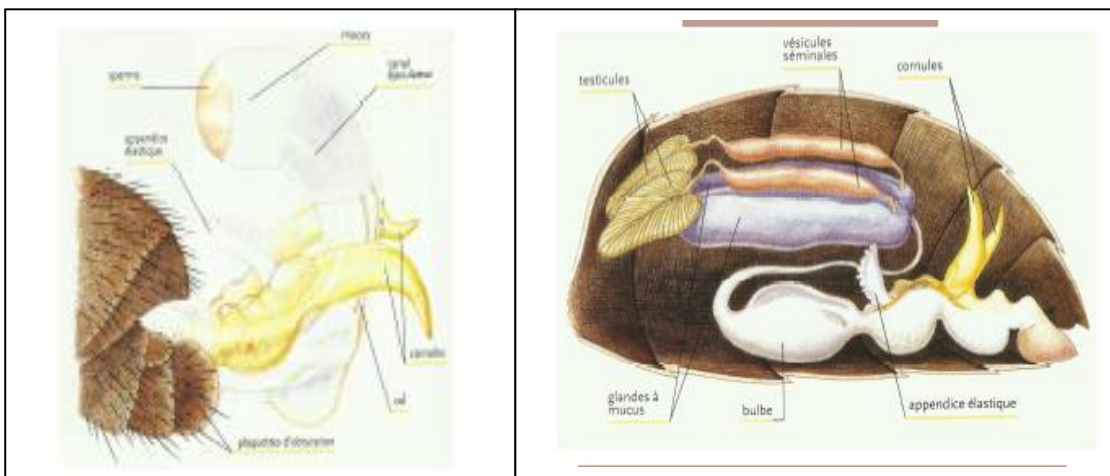


Figure 05: schéma représentant l'appareil génital mâle et une éversion complète de l'endophallus. <http://www.apistory.fr>, consulté le

II.3. Difficultés dans la production de mâles pour l'élevage et la Conservation :

L'incapacité totale d'une reine à procréer des mâles peut, selon Mackensen (1947), être déterminée par un gène récessif, cause de défaillance, à l'état l'opération est répétée 2 ou 3 jours plus tard. On peut escompter que la ponte commencera entre le 12^{ème} et le 14^{ème} jour. Il est recommandé de garder ces reines uniquement sur un rayon à mâle dans un nucléus vigoureux.

Bottcher (1967) fait état d'un autre procédé d'obtention de mâles par une reine fécondée. Celle-ci est réfrigérée deux jours de suite, chaque fois pendant 3 à 6 heures entre + 5 et 0°C. La reine est immobilisée par le froid mais se rétablit très vite à la chaleur et commence vers le Jour qui suit ce traitement à pondre des œufs dont aucun n'est fécondé.

Deuxième partie : Insémination artificielle

III. L'accouplement :

III.1. L'accouplement naturel :

Selon Woyke, 1975 lors de la naissance de la reine à partir 5^{ème} au 15^{ème} jour, entre 10 h et 17 h, par temps calme et chaud (au moins 20°C), cette dernière effectue un ou plusieurs vols d'accouplement, ou vol nuptial en plein vol à une hauteur de 6 à 20 m, les mâles sont attirés par l'odeur spécifique de la reine : la phéromone.

III.2. L'accouplement artificiel :

Utilisation des méthodes instrumentales (appareille d'insémination).

III.3. Synchronisation des élevages :

III.3.1. Intérêt :

Il est très important aussi pour mener à bien l'insémination artificielle de synchroniser la maturité sexuelle des deux castes (mâles et reines). En effet les mâles sont à maturité sexuelle 12 à 14 jours après l'éclosion et cette dernière se fait 24 jours de la ponte de l'œuf, alors que chez la reine ce cycle est beaucoup plus court (d'environ 17 jours), elle naît 16 jours après la ponte et devient mature environ une semaine après.

L'inséminateur, doit suivre un calendrier d'élevage pour synchroniser ses élevages.

On suit pour cela le Calendrier d'Accouplement et synchronisation des élevages des reproducteurs : simplifié d'après (Holm, 1964) (voir tableau 02).

Tableau 02 : Développement des mâles et des reines durant la synchronisation d'élevage.

Stade de développement	Les mâles	Les reines
Ponte des œufs	1 ^{er} mai	17 mai
Stade larvaire	3-10 mai	20-25 mai
Nymphe	25-10 mai	26-02 juin
Eclussions	25 mai	02 juin
Maturité sexuelle	08 juin	08 juin

III.3.2. La durée d'élevage :

Les faux-bourçons doivent être élevés (durant les mois de mai –juin, mois de l'essaimage) 45jours avant le démarrage de l'élevage de la reine.

Ceci se fait en utilisation l'appareil de GENTER (cadre artificiel en plastic) ou tout simplement, utiliser un seul cadre gaufré ou la moitié (coupée) sera occupée par les mâles et l'autre partie le sera par les ouvrières. (Voir Figures 06 et 07).



Figure 06 : un Cadre à mâles gaufré. Cliché W. Seyferth .consulté le 13/05/2018.



Figure 07 : un Cadre d'élevage de mâle.

www.leruchesdargonne.com Consulté le : 13/02/2018.

III.3.3. Les Méthodes d'élevages des reines :

D'après Fresnay, 1966 plusieurs méthodes d'élevages existent : nous pouvons citer :
Elevage naturel au moment de l'essaimage (Elevage moderne).

Elevage par transport d'œuf (piking) Prélever une larve un âge ne dépasse pas 24 h, et la déposer dans une cupule (voir Figure 08 et 09) de cire ou artificiel contenant de la gelée royale diluée (50 p 100 de gelée et 50 p 100 d'eau), puis introduire dans la ruche 9 à 10 jours les reines prêtes à naitre.



Figure 08 : un cadre d'élevage de la reine. www.lesruchesdargonne.com consulté le : 04/06/2018.



Figure 09 : les constitutions de cadre d'élevage.

www.alsace.chambagzri.fr/elevage/apiculture.html.fr consulté le : 10/06/2015.

Elevage par double greffage, les larves de 1^{er} greffage sont remplacées par de nouvelles jeunes larves. La Figure 08 et 09 ci-dessous représentent les constitutions de cadre élevage.

III.4. Préparation des reines à l'insémination :

Les reines naissent dans des ruchettes dont le trou de vol est fermé par une grille à reine, pour les empêcher de s'échapper. La maturité sexuelle varie selon les auteurs (6 à 9 jours) et son importance est primordiale pour la sélection des reines. (Jos, 2008).

Si la reine est âgée de plus de 5 jours et si le temps est favorable au vol, elle doit être capturée le matin avant 10 h ou après 16 h, sinon elle s'échappera facilement en vol nuptial libre. On la laisse dans une cagette avec 5 à 10 ouvrières dans le nucleus jusqu'à l'insémination. (Drescher1961).

III.4.1. Transfert et traitement des reines au labo :

La reine est capturée 24 h avant l'insémination (voir Figure 10), Elle est transférée au laboratoire dans une cagette à reine et anesthésiée puis réintroduite dans sa ruchette, cette opération est nécessaire pour faciliter l'ouverture des organes de la reproduction le jour suivant ou accélérer sa maturité.

Quelque temps avant l'insémination, la reine est de nouveau capturée puis libérée dans une enceinte fermée pour déféquer. Elle est anesthésiée 10 minutes avant d'être inséminée. (Tout ce travail se fait au niveau du laboratoire d'insémination). (Jos, 2008).



Figure 10: capture de la reine. Abeilles & Cie 2008. Consulté le 12/05/2018.

III.5. Transfert des mâles au laboratoire :

La récolte des mâles matures se fait par le moyen d'une hausse déposée sur la ruche à mâles (Voir Figure : 11, 12,13).

Le trou de vol est fermé, ce qui les empêche de quitter leur ruche, on connaitra ainsi leurs âges et leurs origines.



Figure 11 : Volière de capture des mâles. Consulté le : 05/01/2018.

<http://home.euphony.net.be/abeille/page/male.html>.

Les mâles commencent à voler à partir des 7 à 15 jours après la naissance, ils deviennent matures à partir 12^{eme} au 14^{eme} jour de leur naissance.



Figure 12 : représente la Volière de capture de faux-bourdons.

<http://home.euphony.net.be/abeille/page/male.html> . Consulté le : 05/01/2018.

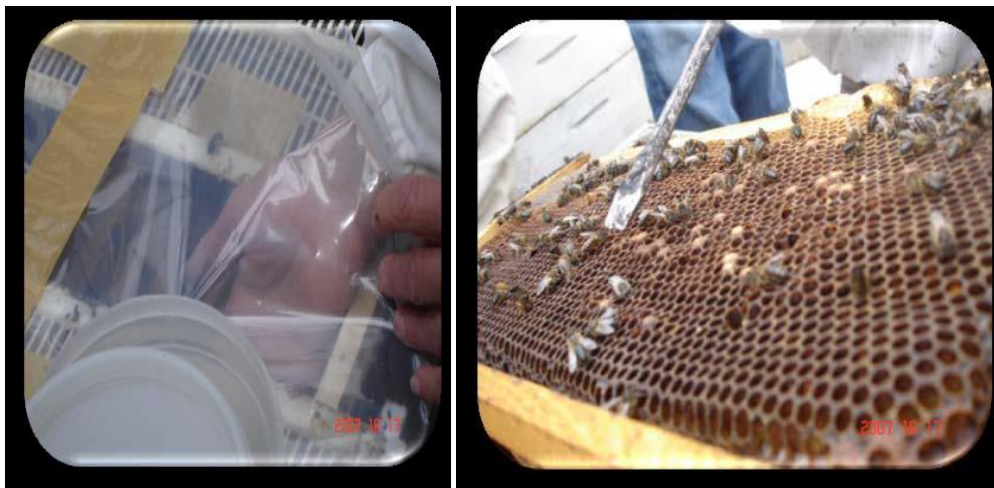


Figure 13 : récolte des mâles dans la hausse et sur un cadre.

www.Lesruchesdargonne.com. Consulté le : 04/06/2018.

III.5.1. La chambre de vol :

Enceinte fermée et aérée pour déposer les mâles et leur permettre de voler avant leur utilisation.

Il est bien connu que la sécrétion du sperme est plus compacte chez les mâles ayant eu la possibilité de voler. La défécation avant la capture permet un travail propre et diminue les dangers d'infection, la chambre de vol est confectionnée à cet effet.

Voir Figure 14.

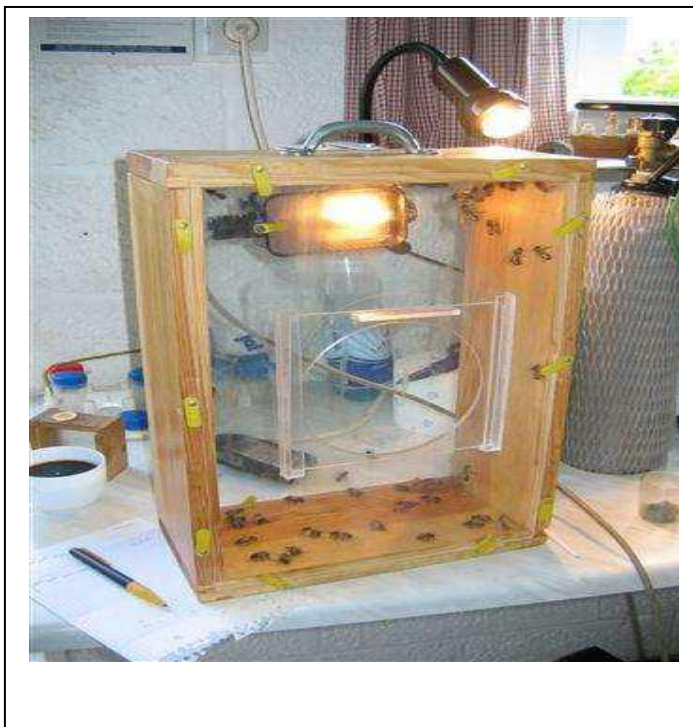


Figure 14 : la chambre de vol pour faux-bourçons

<http://home.euphony.net.be/abeille/page/male.htm>. Consulté le : 05/01/2018.

III.5.2. Influence de l'activité de vol sur le processus de maturation des mâles :

Le début du vol des mâles, à l'âge de 7 à 10 jours, bon nombre de mâles âgés d'environ 10 jours sont déjà capables d'érection : L'érection maximale ne commence à se manifester qu'après le 12^{em} jour.

La maturation des spermatozoïdes s'accomplit pendant leur passage des testicules dans les tubes séminifères et se termine entre le 6^{eme} et le 9^{eme} jour après la naissance. Les glandes muqueuses sont chargées à réplétion au 5^{eme} ou 6^{eme} jour suivant la naissance. (Drescher, 1954).

L'influence favorable des vols sur la faculté d'érection des mâles sont contradictoires. Woyke (1955) nie toute influence, mais Kurenko (1954) l'affirme. Les recherches de Kurenko (1954) révèlent la médiocre excitabilité des mâles avant le premier vol.

Seulement 12 p. 100 des mâles entrent en érection à la décapitation, 52 p. 100 après le vol. L'excitation favorable à l'érection faiblit déjà au bout de 10 minutes.

Le vol actif peut être remplacé par une opération qui consiste à les laisser s'agiter en le tenant à la main. Se constate que la quantité de sperme disponible est supérieure de 10 p. 100 chez les mâles ayant effectué un vol libre à celle relevée chez les mâles encagés. (Mackensen, 1954).

III.5.3. Nombre de mâles utilisés :

La récolte des mâles doit être abondante. En théorie 08 mâles fournissent la dose suffisante de sperme pour inséminer une reine, cependant en pratique, il faut un nombre important de mâles pour la simple raison que ces derniers peuvent être tantôt immatures, tantôt souillés, tantôt stériles.

Les meilleurs mâles utilisés sont ceux âgés entre 16 et 23 jours.

IV. Matériel d'insémination artificielle :

IV.1. L'Appareil d'insémination :

L'appareil d'insémination artificielle comprend (Voir Figure 15) :

Un organe de contention de la reine : Tube d'où seule l'extrémité de l'abdomen peut sortir.

Des écarteurs (crochet ventral, crochet dorsal, et une sonde) pour ouvrir la chambre du dard et tirer en arrière la valvule vaginale.

Une micro seringue : L'appareil dispose d'une seringue avec cylindres interchangeables.

Des accessoires : support des organes précédents.

Une loupe binoculaire : produit deux faisceaux lumineux séparés pour chaque œil.

✚ Remarque :

Il existe actuellement plusieurs marques d'appareils d'insémination, avec certains outils modifiés pour faciliter l'insémination, mais le principe reste le même : exemple des crochets écarteurs ou le crochet dorsal en cuillère est remplacé par un crochet perforé où le dard doit être introduit à l'intérieur, d'autres modèles remplacent le crochet dorsal perforé par une pince qui tire le dard plus facilement.

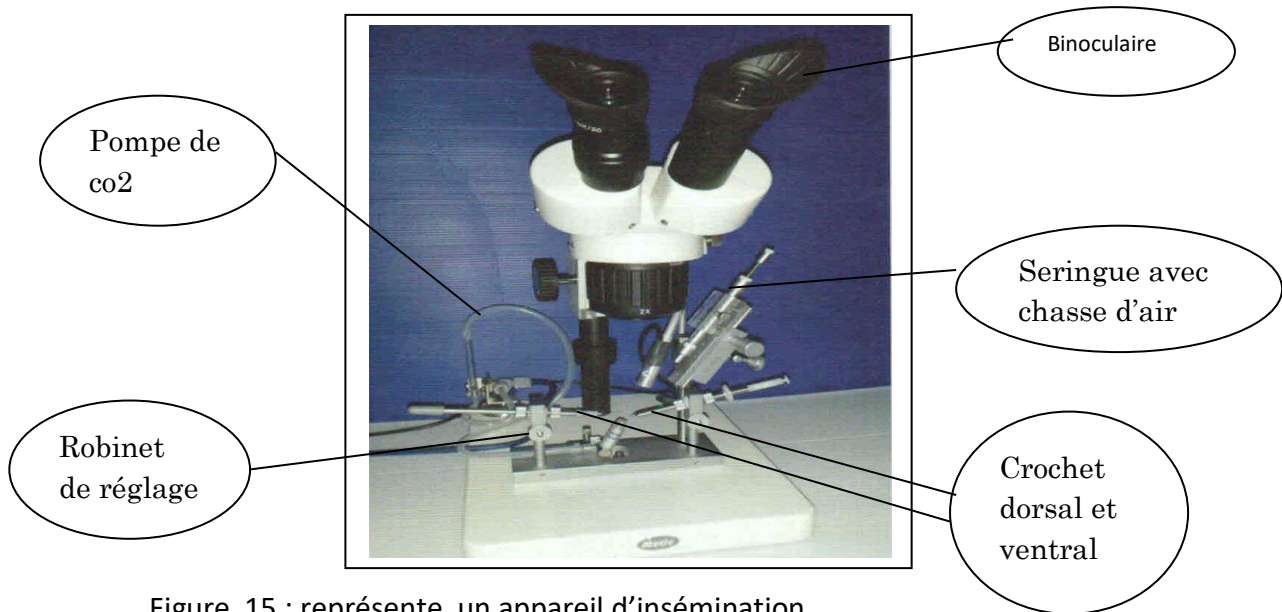


Figure 15 : représente un appareil d'insémination.

www.Post schley complet. Consulté le : 17/02/2015.

IV.2. Un système d'anesthésie de la reine :

Lors de l'insémination, la reine est immobilisée par anesthésie, ce système comprend :

Une bouteille de CO₂, avec un dispositif relié au tube de contention avec réglage du débit, la fiole reçoit le CO₂ et le renvoie à travers un autre tuyau vers le tube de contention (voir Figure 16).

Grâce à ce système, un contrôle du débit visuel et auditif est effectué à travers l'observation des bulles d'air émises dans la fiole et de leur rythme.

C'est le plus récent. (Ruttner et Al, 1957).

Le gaz carbonique CO₂ utilisé généralement sert en premier lieu à l'immobilisation de la reine pendant l'insémination. Un deuxième effet provoque la maturité anticipée de la reine et le déclenchement de la ponte dans un délai de moins d'une semaine. Le gaz CO₂ également utilisé en industrie alimentaire (pression de la bière, doseur crème chantilly, etc.) n'est pas directement nocif (pour les reines), cependant le temps d'exposition ne doit pas être exagéré. Ceci entraînerait un vieillissement excessif et une perte de vitalité.

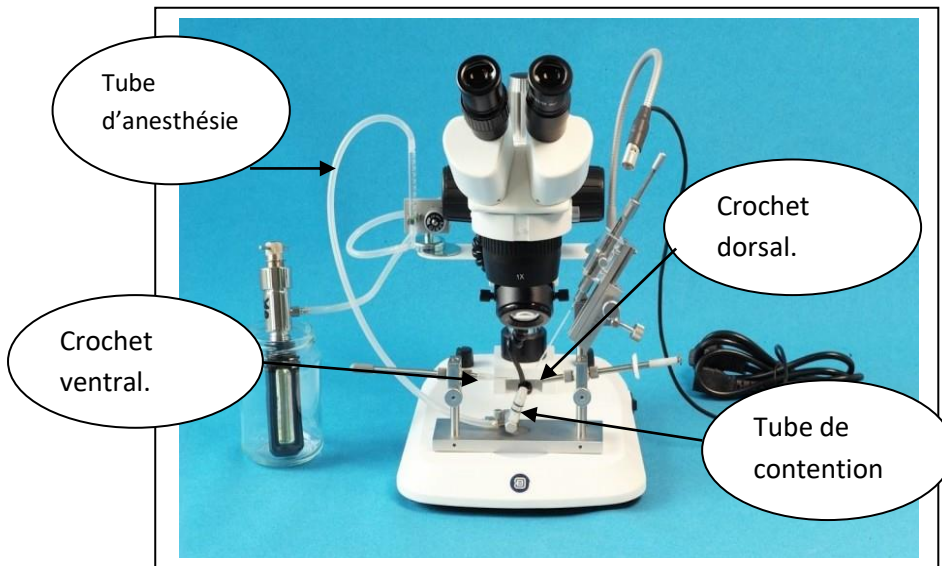


Figure 16 : Système d'anesthésie de la reine.

www.Poste swienty.com. Consulté le : 17/02/2015.



Figure 17 : Le technicien introduit du CO₂ (tube vert) dans le bocal contenant les cages des reines. Comme ce gaz est plus lourd que l'air, il remplit le fond du bocal. Le drap supérieur empêche les mouvements de l'air.

<http://www.pedigreeapis.org/biblio/books/guth/D.shtml>. Consulté le : 30/05/2018.

IV.3. Matériel de manipulation des insectes :

Ciseaux, et pince pointus sur la paillasse de travail, et pour la manipulation, il faudrait avoir :
L'eau distillée, l'alcool, et le sérum physiologique, de la coton tige et des compresses.



Figure 18 : matériel et produits à préparer pour chaque manipulation.

Www. IA bees pfe/appi.com.Consulté le : 03/01/2018.

IV.4. Les produits chimiques :

IV.4.1. Tampon :

- a. 1.1g NaCl
- b. 0.1g Glucose
- c. 0.01g L-Arginine-HCl
- d. 0.01g L-Lysine
- e. Les additifs : 0,02g de Sulfate-Dyhydrostreptogycine
- f. 0,012g de Pénicilline-C-Sodium

Dilué dans 100ml 0.05 TRIS molaire pH 8.7. (: D'après Verma1973 et 1978, William, 2010).

g. **Kiev** : sa composition est :

- 2.43g citrate de sodium hydrate
- 0.21g bicarbonate de sodium hydrate
- 0.04g chlorure de potassium
- 0.30g sulfanilamide
- 0.30g glucoses

- Solution diluée à 90°C dans 100ml d'eau distillée Un additif de 20% de katala accroît la mobilité des spermatozoïdes de sorte que davantage de spermatozoïdes pénètrent dans la spermatique.

Il existe aussi un diluant fabriqué dans les laboratoires de chimie et commercialisée sous forme d'une poudre à dissoudre dans l'eau double distillée avant l'utilisation Cette solution contient :

74,07% trinitratumcitrate-2-hydrate

9,15% D(+)-glucose (monohydrate)

6,40% sodium hydrogène carbonate

1,22% potassium chloride

9,15% sulfanilamide

Chauffer à 90° une fois refroidie, ajouté 1ml de streptomycine (délivré sous forme de solvant) et une pincée de pénicilline.

Dans la préparation du sérum, rajouter un antibiotique pour éviter l'infection du sperme, l'antibiotique inhibe le développement des microorganismes.

Les produits sont conservés au réfrigérateur trois jours au maximum.

V. Principales étapes d'insémination

V.1. Désinfection du matériel :

Avant l'insémination, Vêtement, lieu de travail, appareil d'insémination doivent être désinfectés.

- Nettoyage au détergent spécial pour laboratoire :

Plaque de travail, bloc de logement de la reine, tube de contention, corps de seringue, crochets...

Seringue, cylindres et pistons, points capillaires avec joint d'étanchéité, l'axe mobile, capsule de verre, pincettes, sonde à main.

➤ Avant chaque manipulation :

- Passer tous les instruments dans l'eau savonneuse, l'alcool 70° (sauf Instruments en plastique), puis l'eau stérilisée.

- Nettoyage non prolongé à l'eau savonneuse des instruments métalliques, Passer rapidement à l'alcool puis à l'eau stérilisée.

- Les instruments en plastique ne doivent pas être nettoyés à l'alcool, ils sont directement mis dans l'eau stérilisée.

- Les capillaires sont passés au savon, alcool puis l'eau stérilisée un capillaire bouché par du mucus est nettoyé dans de l'eau chaude dans laquelle on rajoute des cristaux de soude, laisser le temps nécessaire puis rincer de nouveau à l'eau distillée, l'alcool puis l'eau stérilisée.

Les capillaires sont très fragiles, on risque facilement de casser la pointe capillaire, pour cela il faut manipuler avec prudence.

V.2. Préparation et Réglage de la seringue :

Le circuit de la seringue est rempli par du sérum, la manipulation de la seringue par la vis (voir Figure 19) du bouton moleté permet d'éliminer l'air et une fois le capillaire placé, permet de pousser le Sperm du capillaire dans le sens désiré.



Figure 19: une Seringue Schley.

www.altigoo.com. Consulté le : 04/06/2018.



Figure 20 : la Mise en place de la seringue.

www.lesruchesdargonne.com. Consulté le : 04/06/2018.

+ Important :

- ✓ Avant leur remplissage par le sérum physiologique, les capillaires sont rincés à la seringue avec l'eau distillée, puis l'alcool et enfin avec du sérum physiologique.
- ✓ s'il n'est pas utilisé de suite, le capillaire une fois remplis de sperme doit être dument conservé dans une compresse imbibé de sérum pour éviter le dessèchement de la pointe du capillaire.



Figure 21 : Capillaire et aiguille et serinage.

www.desktop/appi.com. Consulté le :_04/06/2018.

☞ Réglage de la seringue:

1/Pointe du capillaire positionné sur l'ouverture du tube de contention, seringue bien fixée (voir Figure 22).



Figure 22 : Position de la seringue par apport au tube de contention

Www. Les ruches dargonne.com. Consulté le : 03/06/2018.

2/Si la seringue bouge pendant l'insémination, la reine est blessée est perdue de suite.

3/Réglage de tout le système sous la binoculaire : position bien centrée.

4/ Réglage des crochets : la position des crochets doit être horizontale par rapport à la reine ouverte (voir Figure 23).

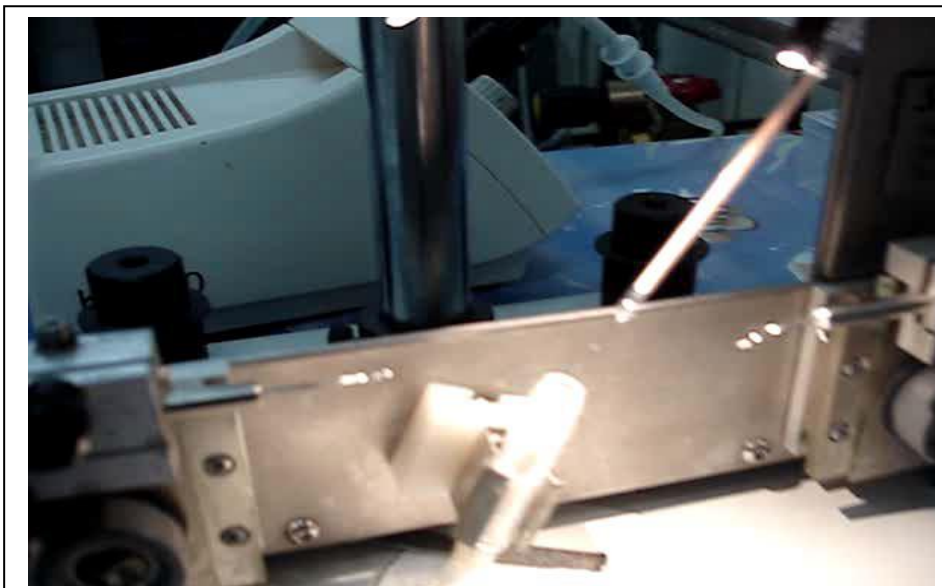


Figure 23 : Position du Capillaire par rapport au tube de contention. www.Les ruches dragonne.com. consulté : 09/06/2018.

5/ Réglage de la luminosité : les fibres optiques de la lampe froide doivent être bien dirigées vers la reine ouverte et bien viser l'orifice vaginal, sous cette lumière et avec un bon écartement, l'orifice vaginal est visible.

6/Réglage du débit de CO2 et vérification du fonctionnement du système d'anesthésie :

On règle le débit du CO2 qui doit être régulier, ni lent, ni rapide, on vérifie que le CO2 atteint le tube de contention, les bulles d'air et leur bruit émis permettent de contrôler le débit. On insiste sur cette étape car un appareil non ou mal réglé avant la mise en place de la reine, risque la blessure et la perte de celle-ci et l'échec de l'insémination.

V.2.1. Réglage de l'appareil d'insémination :

Très important avant de mettre en place la reine de vérifier les paramètres suivants :

1/ Réglage de l'inclinaison du système de contention par rapport au plan horizontal : Inclinaison 70°, une fois réglée à l'aide d'un gabarit, serrer la vis pour la fixer (voir Figure 24). (Ruttner, 1957).

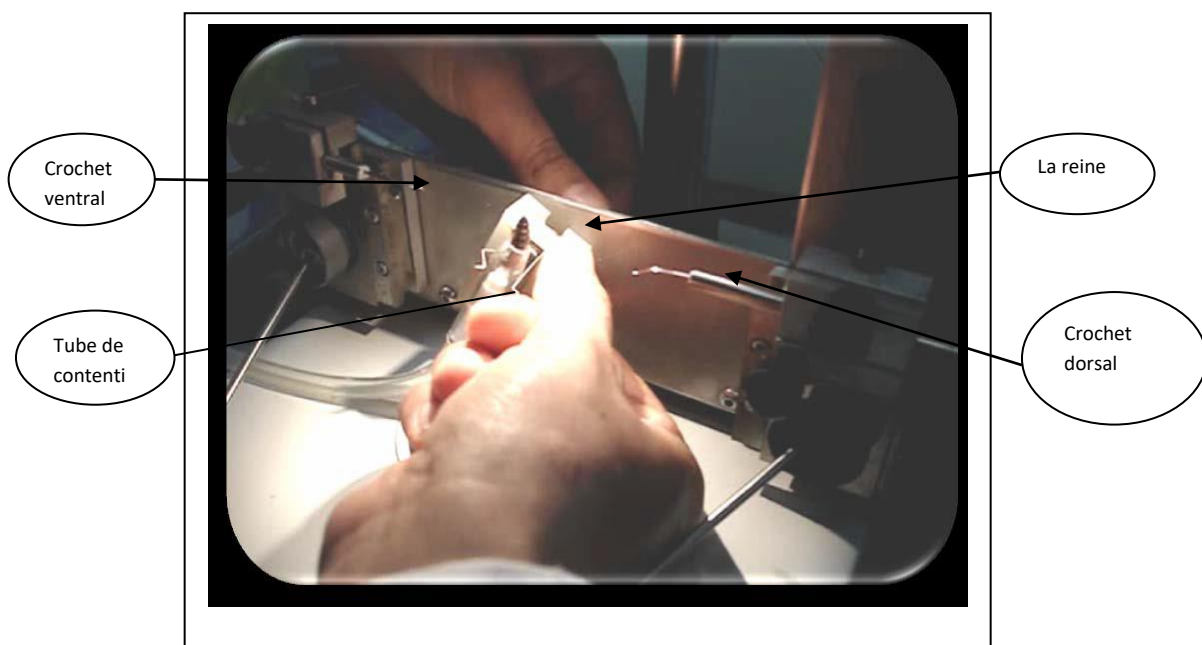


Figure 24: Fixation du système de contention, éviter le risque de bouger pendant la manipulation. Les ruches dargonne.com. Consulté le : 03/01/2018.

V.3. Manipulation des mâles et récolte du sperme :

V.3.1. Collection manuel (manuel éversion) :

Pendant la préparation du matériel, on ramène les mâles et on les laisse voler dans la chambre de vol.

En tenant le mâle de la main gauche entre le pouce et l'index (voir Figure 25), une légère pression sur le thorax permet l'éversion de l'endophallus, lorsque l'érection est complète, on termine on appuyant sur le coté abdominal jusqu'à apparition du sperme (couleur beige clair, se trouvant sur le mucus celui ci est de couleur blanchâtre (Figure 26). (Ben Abdelkader et al.2014).

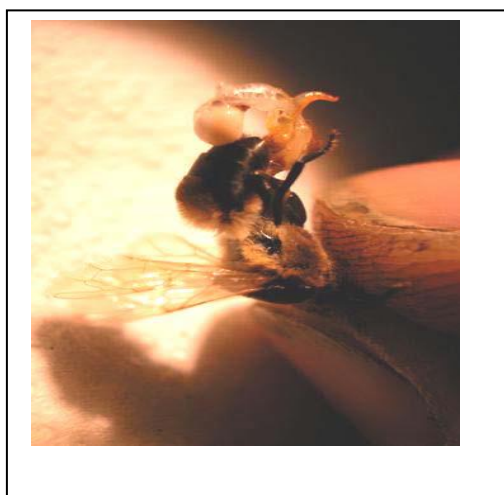


Figure 25 : Positionnement de mâle et l'éversion de l'appareil génital.

www.lesruchesdargonne.com consulté le : 04/03/2018.

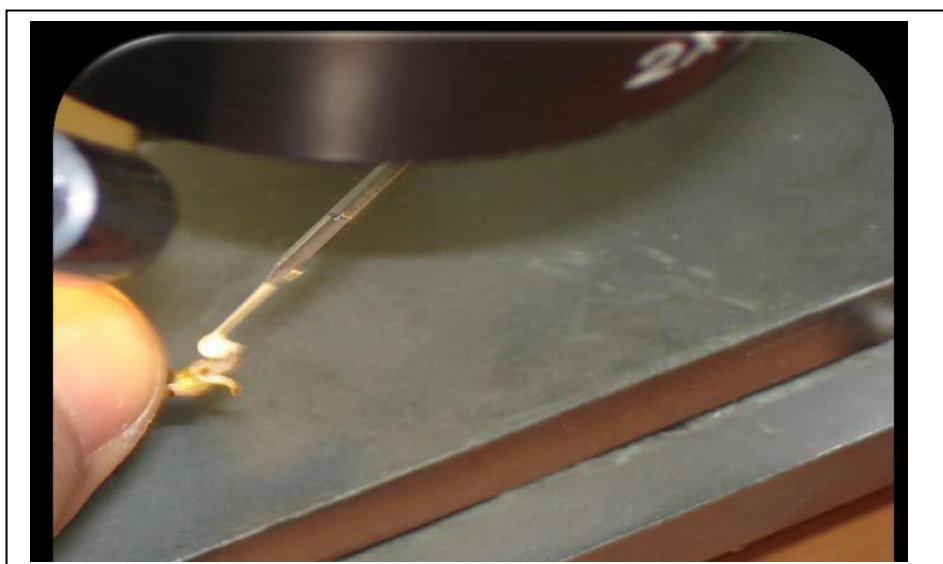


Figure 26 : Goutte de sperme aspirée par le capillaire.

www.Lesruchesdragonne.com Consulté le : 04/06/2018.


Une fois la pointe du capillaire touche le sperme, il se produit une tension superficielle qui colle le sperme à la pointe.

Il faut éviter de pomper le mucus, ce dernier est un obstacle réel, il est épais, bouche facilement le capillaire, on prend ensuite le mâle suivant jusqu'à obtenir une « dose » (08 microlitre ou 12,5 mm de la longueur du capillaire).

On peut remplir 03 doses séparées par des bulles d'air, on pose une bande de carton ajusté pour délimiter chaque dose.

La quantité de sperme varie d'un mâle à un autre (de 1,5 à 1,75 microlitre on ne récolte qu'entre 0,5 à 1,25microlitre.

Chez le mâle adulte, mucus et sperme sont séparé, le contraire chez le mâle immature la séparation n'est pas complète, le sperme est plus clair.

 **Remarque :** une dose représente 10 fois le volume de la spermathèque, cela dit, un dixième de ce volume migre vers la spermathèque, le reste est inutilisable.

Lorsque le capillaire est rempli, on fait remonter le sperme de 4 à 5 mm, et l'on pompe un « bouchon » du sérum pour éviter que le sperme ne sèche au contact de l'air, le sperme se trouve entre deux bulles d'air et deux bouchons de sérum.

 **Remarques importantes :**

Eliminer les bulles d'air contenues dans le capillaire à chaque récolte de sperme, en refoulant le sperme vers la sortie à chaque fois.

Le sperme circule facilement dans le capillaire si il block, signe qu'il ya du mucus mélangé dans le capillaire, c'est raté, on refoule le mucus avant qu'il ne bouche le capillaire, si le mucus persiste, on arrête la récolte, on nettoie le capillaire et on refait.

Essuyer la pointe du capillaire continuellement avec le sérum afin d'éviter le dessèchement du sperme On peut anesthésier les mâles au chloroforme, l'éversion se produit partiellement sous l'effet de l'anesthésie.

Le mâle qui défèque lors de la manipulation est éliminé pour risque de souiller le sperme.

Pour être mieux organisé dans le travail, une personne s'occupe de manipuler les mâles, tandis qu'une autre est concentré avec la récolte sous la binoculaire.

L'étape de la récolte du sperme est la plus difficile et la plus longue, pour mieux s'organiser, il serait préférable de l'effectuer le matin puis inséminer l'après midi, le capillaire conservé dans une compresse imbibé de sérum.

V.3.2. Anesthésié et mise en place de la reine :

Auparavant tout aura été désinfecté : les crochets, la sonde vaginale, et Lapointe de capillaire sont désinfectés à l'aide d'un coton-tige stérile imbibé de désinfectant, puis rincé avec un autre coton-tige imbibé d'eau distillée.

La table de travail sera passée au désinfectant, ainsi que le tube de contention qui sera ensuite rincé à l'eau stérilisée.

Pour que la reine y soit en position d'accueil de la semence elle doit y pénétrer à reculons, on lui introduit la tête la première dans un autre tube, que l'on appelle « tube de transfert », et dans lequel elle pénètre volontiers (voir Figure 27).



Figure 27 : Introduction de la reine dans le tube de contention

Www. Les ruchesdargonnes.com. Consulté le : 03/03/2018.



Figure 28 : contention de la reine au système d'Anesthésie.

www.lesruchesdargonne.com. Consulté le : 04/03/2018.

Après l'introduction dans le tube de contention on relie ce dernier au tuyau de CO2 et on déclenche le CO2 pour anesthésier la reine ; quelques instants après, la reine est immobile, on passe alors à la mise en place sur le support du système de contention (voir Figure 28).

Le CO2 n'est pas dangereux pour la reine, mais il ne faut pas exagérer dans l'anesthésie, car la reine risque de perdre de sa vitalité.

Le débit est diminué au minimum lorsque la reine est immobile, mais si la reine se réveille et commence à bouger ; il faut relancer le CO2 et contrôler le débit à chaque fois, ce sont les bulles d'air formées dans la fiole qui indiquent le rythme ou le débit du CO2.

V.3.3. Positionnement des crochets :

La crémaillère portant la seringue d'injection, doit être relevée pour ne pas heurter la pointe du capillaire qui risquerait d'être souillée, ou cassée.

Les deux crochets seront mis à la position zéro, c'est-à-dire que, se mouvant dans les trois dimensions, leur axe d'oscillation verticale doit passer par le centre du tube de contention, et les deux axes horizontaux doivent diviser le champ visuel selon deux droites Nord-sud et est-ouest, passant par le centre du même tube.

C'est donc sur l'axe est-ouest que l'on amènera les deux crochets dans un même alignement passant par l'axe médian dorsal-ventral de la reine. Cette position est capitale (voir Figure 29)

seuls, les trois derniers anneaux de l'abdomen doivent dépasser du tube contention. Aucune des deux pattes arrière ne doit y paraître. La reine aura le dos tourne A droite, donc l'abdomen à gauche.

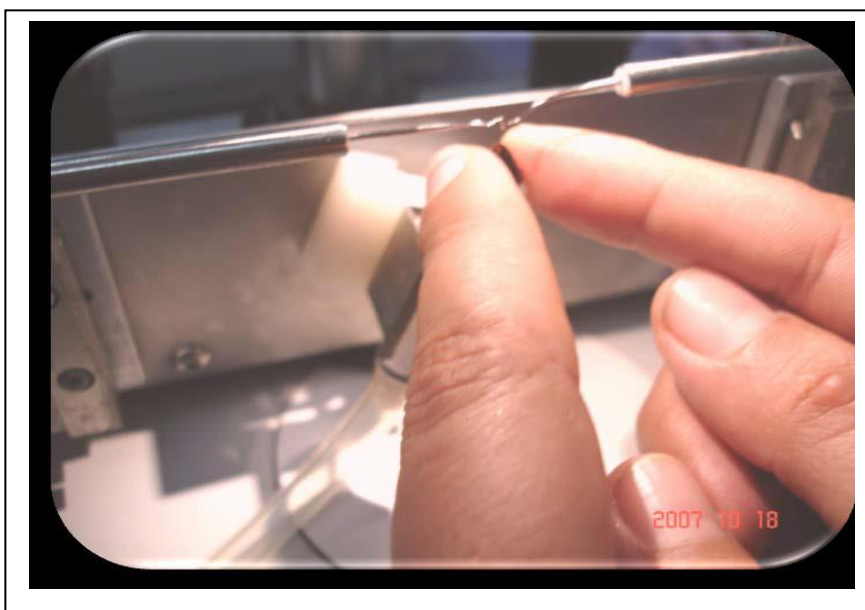


Figure 29 : Ajustement en douceur de la reine.

Www les ruche dragonne.com.consulté le : 12/05/2018.

V.3.4. Ouverture de la reine :

On commence par le crochet ventral (gauche) le lever, l'avancer et le baisser dans la chambre de l'aiguillon. Sous l'anesthésie, la reine s'ouvre presque toujours d'elle-même ; si cela n'était pas, nous l'ouvririons de la main droite tenant la sonde vaginale, en écartant sternite et tergite pour y passer le crochet ventral.

On tire ce dernier vers la gauche, puis approchant le crochet dorsal, en le ramenant vers la droite on achève d'ouvrir la reine en arrêtant ce mouvement à un stade bien précis (voir Figure 30), lorsque le crochet est perforé, y introduire le dard et tirer à droite.

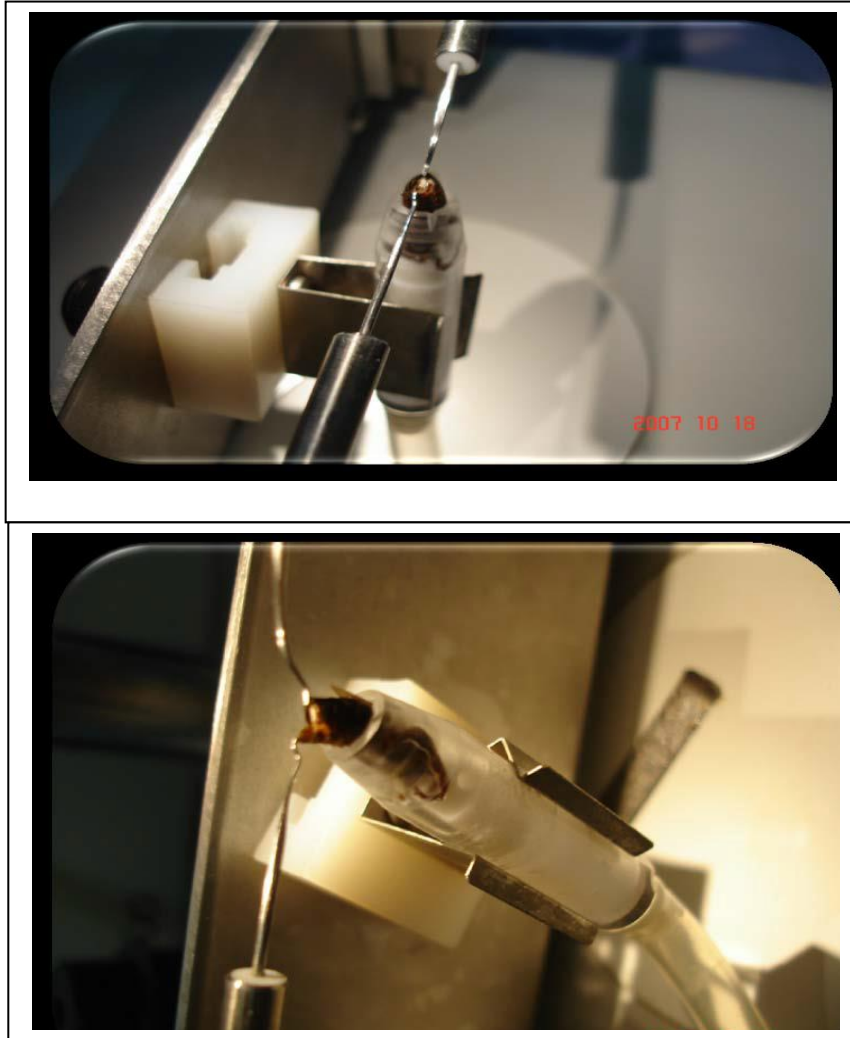


Figure 30 : les étapes de l'ouverture de la reine.

www.lesruchesdargonne.com. Consulté le : 12/05/2018.

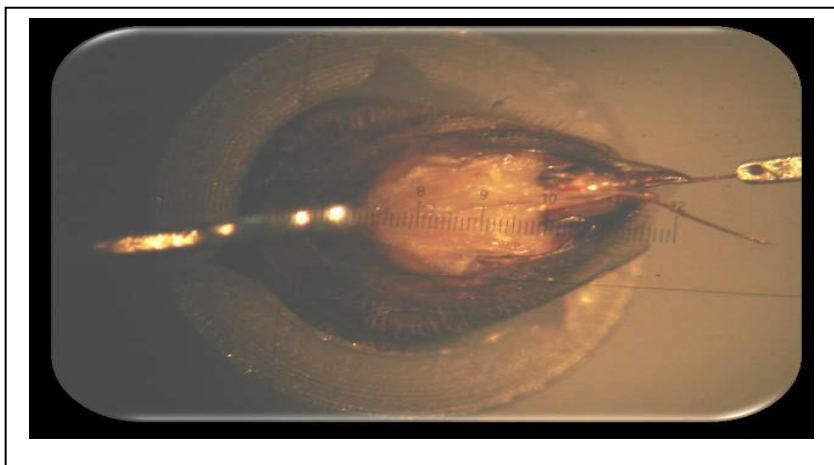


Figure 31 : Reine ouverte vue à travers l'objectif de la binoculaire.

www.lesruchesdargonne.com. Consulté le : 04/06/2018.

Sur cette photo, la position n'est pas l'idéale, mais nous la montrons pour mettre en relief le crochet perforé dans lequel une partie du dard fut introduite.

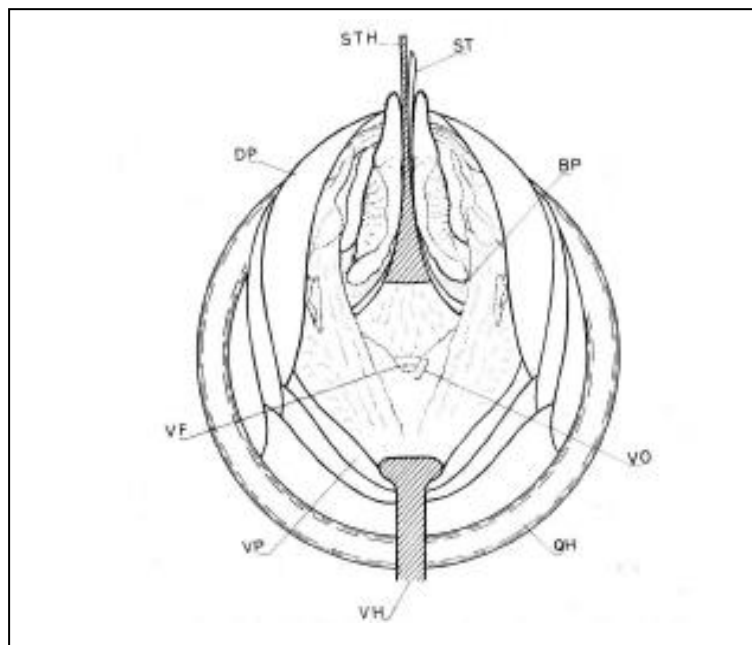


Figure 32 : extrémité de l'abdomen d'une reine correctement préparé pour l'insémination. Consulté le : 16/04/2018.

STH : crochet dorsal, **ST** : aiguillon, **DP** : tergite, **VF** : repli vaginal, **VO** : orifice vaginal, **VP** : Sternite, **VH** : crochet ventral, **QH** : tube de contention de la reine dans l'appareil de Mackensen. (D'après Machensen et Robert, 1948).

V.4. L'insémination :

Décence du capillaire :

Avant cette descente, il convient d'éliminer, en refoulant sur un coton-tige stérile, la goutte de diluant fermant le capillaire, ainsi que la bulle d'air qui sépare sperme et diluant.

On agit donc sur la micro vis de la pompe jusqu'à ce que le sperme apparaisse à la pointe du capillaire.

On descend ensuite lentement ce dernier jusqu'à toucher les téguments de l'orifice vaginal en agissant sur les micros vis de commande en est-ouest ou en nord-sud, pour bien centrer le capillaire.

V.4.1. Pénétration de la reine :

La main droite reste à la commande du capillaire (voir Figure 33).

On approche le capillaire que l'on présente à l'orifice vaginal, puis d'une légère pression sur le piston de la pompe on ne refoule une microgoutte de sperme pour lubrifier le passage.

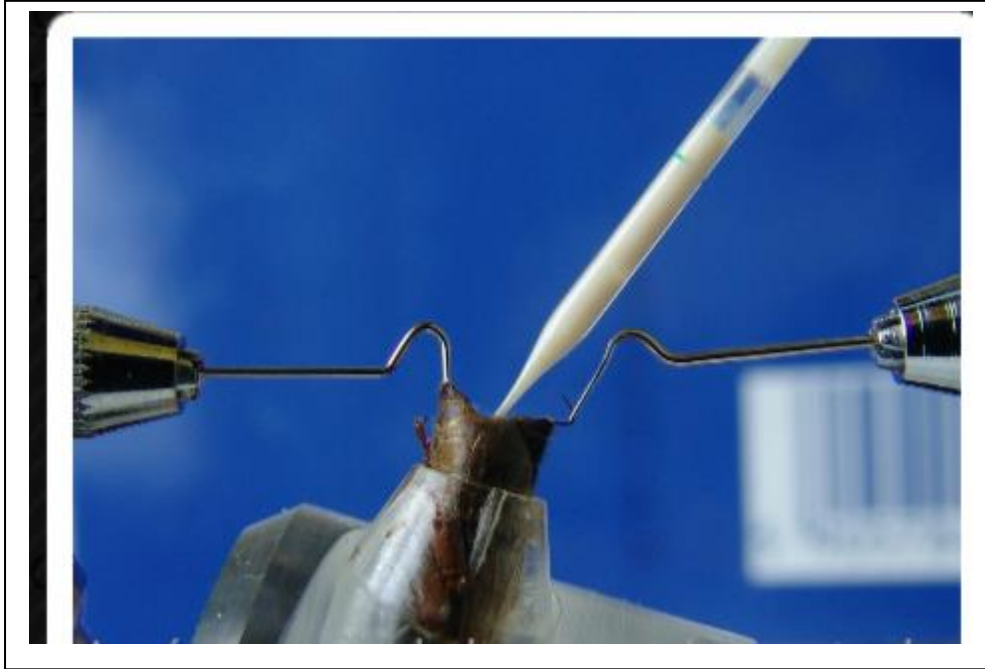


Figure 33:dépôt de sperme dans la reine. [www.Post Kryos de l'insémination.](http://www.PostKryos.de)

Consulté le : 04/06/2018.

VI. Traitement des reines après l'insémination :

Introduire la reine dans la ruche entre les rayons dans le nucleus; elle revenue à l'activité après quelques minutes, on peut lui donner un peu de candi. La tendance au vol nuptial persiste encore après une insémination, même si on a injecté de 6 à 8 mm³ de sperme. La grille à reine doit donc rester en place. La capture en vue d'une seconde insémination, ou d'un traitement au CO₂, est effectuée comme la première capture. Elle ne le sera, La tendance au vol nuptial diminue plus lentement, même après le second traitement au CO₂, chez les reines inséminées avec le sperme de seulement 1 ou 2 mâles que chez celles qui ont reçu plus de 5 mm³ de sperme ou deux fois une injection de sperme. Si la reine doit rester engagée dans le nucleus entre l'ire insémination et la 2^{ème}, ou le traitement au CO₂, il est nécessaire de l'installer dans la ruche. Une température peu élevée a pour effet de ralentir et de rendre moins efficace l'introduction dans la spermathèque de la reine des spermatozoïdes injectés (Laidlaw, 1954).

La grille à reine ne peut être enlevée que lorsque la ponte est indubitablement constatée. L'expérience acquise avec les reines fécondées par accouplement naturel est encore plus valable pour les reines inséminées artificiellement. Ainsi on n'introduira pas des reines qui viennent tout juste de commencer à pondre dans des colonies populeuses auxquelles on a enlevé peu auparavant une reine bien féconde et en pleine ponte. Les reines inséminées avec plus de 5mm³ de sperme peuvent être gardées dans les mêmes conditions que les reines fécondées par accouplement naturel. Les reines inséminées à titre expérimental avec le sperme d'un seul mâle seront gardées de préférence dans un nucleus. Le confinement entrave la ponte intensive il s'ensuit une prolongation considérable de la longévité et de l'aptitude à la ponte d'œufs fécondés.

TROISIEME PARTIE :

I. Objectif : L'objectif de cette partie était de synthétiser quelques travaux réalisés au niveau du laboratoire LBRA dirigée par l'équipe du Professeur KAIDI Rachid.

Nous nous sommes intéressés à l'étude de la qualité de la semence chez le faux bourdon.

II. Matériels et méthodes :

a. Présentation de la période et de la zone d'étude:

Cette étude s'est déroulée en deux parties (terrain et laboratoire) la première partie a été réalisée dans un rucher (station de fécondation) et la deuxième partie s'est déroulée dans le laboratoire des Biotechnologies liées à la Reproduction Animale (LBRA), A l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université de Blida 1.

III. Matériel biologique:

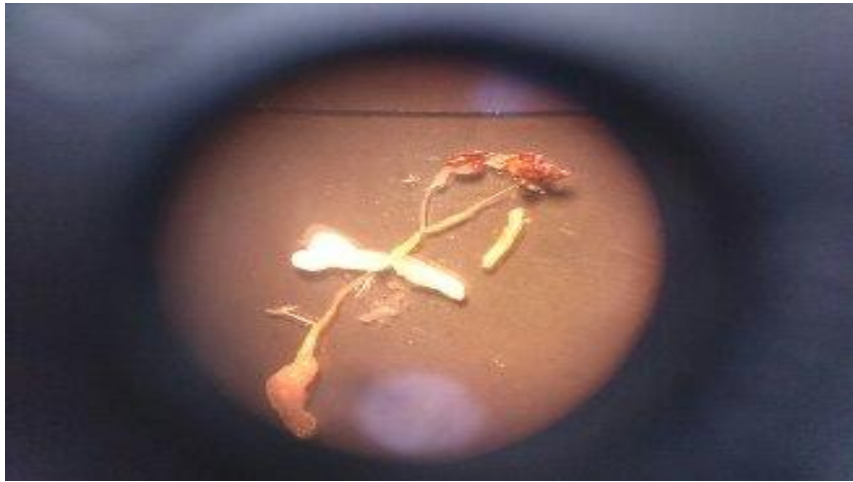
La race d'abeille *Apis mellifica intermissa* ou la tellienne a été utilisée. Elle est présente dans toute l'Afrique du Nord-Ouest (Ruttner ,1975), se répartissant de la Tunisie jusqu'à la côte atlantique du Maroc.

IV. Méthodes de travail:

a. **Choix et capture des mâles:** Ceux qui se trouvaient sur les cadres de provisions aux extrémités de la colonie ont été capturés.

b. **Dissection :** le faux bourdon a été installé sur une plaque de polystyrène, le ventre contre le support, Il a été tenu par une épingle plantée à travers son thorax. Ses ailes ont été coupées (parce qu'elles gênent). Une autre épingle a été plantée au niveau de l'extrémité de l'abdomen Afin de faciliter la dissection.

Les organes génitaux ont été prélevés, et la vésicule séminale a été dégagé et découpée dans une boîte de pétri (figure 34).



Figur34: Appareil génital du faux bourdon.

V. Récolte des mâles :

Une technique dite d'éversion a été réalisé sur chaque faux bourdon pour récolter sa semence.

Pour cela, le mâle a été saisi par la tête et d'un coup franc, celle-ci a été enlevée. Cette action a provoquée chez le mâle mature une éversion partielle. Par la suite, l'abdomen du mâle s'est contracté et est devenu très dur. Suite à cela, une légère pression et rotation de l'abdomen entre le pouce et l'index, a provoqué l'éversion complète, ce qui a laissé apparaître le sperme de couleur crème (Figure 35). L'endophallus a été introduit dans un micro tube renfermant 1ML de solution NaCl (0.9%) puis une agitation s'en est suivie. Après avoir dilué au 1/10 cette solution, une goutte a été déposée sur une lame de Malassez afin de compter le nombre de spermatozoïdes.



Figure35 : éversion de l'endophallus.

a. Comptage :

Le nombre de spermatozoïdes total (N) a été déterminé par la formule suivante :

$$N = \frac{n}{a \times v} \times Fd$$

N : Nombre de spermatozoïdes par faux bourdon.

n : nombre de spermatozoïdes comptés dans 10 grandes rectangles de la cellule de Malassez.

A : nombre d'unités de comptage dénombrées. v : volume de l'unité de comptage.

Fd : facteur de dilution.

VI. Résultats et Discussion :

a. Maturité sexuelle :

Les faux bourdons ont été capturés à un âge qui a été jugé mature. Néanmoins, des erreurs sur l'âge ont été constatées lors de la récolte. Cela est dû probablement à notre manque d'expérience, mais aussi probablement à un manque de données de référence en Algérie. Nous basant seulement sur d'autres travaux obtenus sur d'autres races ; qui peuvent ne pas Avoir les mêmes paramètres et caractéristiques d'élevage.

La semence récoltée de 18 faux bourdons (Tableau 34 et Fig 35), a été analysée.

D'après le tableau 03 il n'a été constaté que la moyenne des spermatozoïdes par faux bourdon était de $3.316.666 \pm 1980270$ (récolté de la vésicule séminale). Ces résultats sont loin de ce que Schluns et al (2003). Leurs chiffres avoisinés les $9\ 190\ 000 \pm 460000$ spermatozoïdes. Rinder (1985) a travaillé sur l'abeille africanisée et a trouvé une moyenne de $4\ 600\ 000$ spermatozoïdes/faux bourdon.

D'après le tableau 03, le nombre des spermatozoïdes variait d'un mâle à un autre. Cela peut être expliqué par le transfert incomplet de spermatozoïdes des testicules vers la vésicule séminale, c'est à dire que les faux bourdons ne sont pas tous pubères à la même période qu'en Europe. Ou tout simplement cette lignée est pauvre en spermatozoïde. Des travaux dans ce sens concernant notre abeille est plus qu'indispensable, dans la mesure où les chiffres de références que l'on utilise sont ceux des travaux réalisés en Europe ou aux Etats Unis et Canada. Ces résultats peuvent être améliorés en utilisant la sélection génétique : massale en premier lieu (progenitest) et génomique plus tard.

Un seul mâle récolté par éversion de l'endophallus a donné un nombre de spermatozoïdes de l'ordre de 7000000 . Cette valeur est proche de celle rapportée par Gençer et Kalya(2011), qui est de 7320000 spermatozoïdes, (même technique de récolte). Ce résultat est plus que satisfaisant et encourageant et démontre encore une fois qu'avec une sélection étudiée, on ne peut qu'améliorer nos résultats, qui seront bénéfiques et qui sont très attendu par nos Apiculteurs.

Cinq (5) faux bourdons ne possédaient de spermatozoïdes dans la vésicule séminale, ce sont Probablement des jeunes non pubères (âgés de moins de 3 jours).

b. Nombre de spermatozoïdes par faux bourdon :

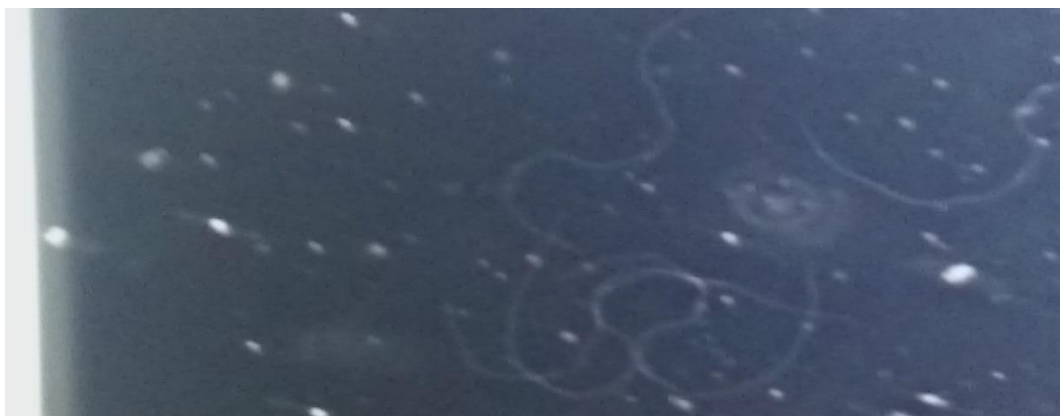


Figure 36: Mouvement serpentifère des spermatozoïdes ($\times 300$).

Tableau 03: nombre de spermatozoïdes par faux bourdon.

(Récolté à partir de la vésicule séminale)

N° Faux bourdon	Nombre de spermatozoïdes
1	6500000
2	3800000
3	5300000
4	900000
5	1300000
6	7800000
7	3900000
8	2400000
9	5100000
10	1900000
11	3100000
12	1900000
13	1400000
14	5000000
15	2200000
16	3700000
17	1000000
18	2500000
19	00
20	00
21	00
22	00
23	00
24 (par éversion)	7000000

Conclusion :

Selon Mackenzen (1954) l'insémination avec des mâles confinés est l'une des causes majeures de la mort de beaucoup de reines. 82% de reine survivantes inséminées avec le sperme de mâles ayant volé librement et 44% chez celles inséminées avec le sperme de mâles confinés.

Donc il est recommandé de laisser les mâles voler librement.

Koehler(1962) a démontré que le sperme des différents mâles qui participent aux fécondations naturel ou artificiel, reste séparé dans la spermathèque donc il n'y a pas des souches pures il ya donc apparition des abeilles hybrides dans la même ruche.

L'âge de fécondation d'après Soczeck(1956) entre 6 à 13 jours et Medvedev (1956) indique que les reines son fécondées 7 à 19 jours. Donc il faut surveiller les reines pour qu'elles ne soient pas fécondées naturellement.

L'insémination artificielle chez l'abeille pratiqué et bien développés dans les pays Européens. Elle est utilisée pour remplacer la fécondation naturelle qui peut être retardée plusieurs jours suite à des conditions climatiques défavorable, tel que : un temps pluvieux, trop froid ou ventilé qui empêche le vol nuptial.

Elle permet aussi de protéger la reine contre les prédateurs (guêpe...). Pour certains apiculteurs l'insémination artificielle est pratiquée à un but lucratif.

Cette technique est à priori largement utilisée chez nous, particulièrement au niveau de l'ITELV mais cette activité a fortement ralenti suite au manque de moyen et d'instruments. Ce même manque de moyens et de structures est la raison de l'absence d'une partie expérimentale dans notre travail, car nous n'avons trouvé aucune structure ouverte pour nous recevoir dans le cadre d'un projet de fin d'études dans le domaine de l'insémination artificielle.

Néanmoins, l'étude de synthèse des travaux concernant la semence des faut bourdons, nous a permis de constater que la concentration des spermatozoïdes est inférieure aux races estrangères. Cela nous pousse à suggérer à ce que cette filière doit être prise en compte afin de multiplier les travaux de recherche pour mieux connaitre nos abeilles locales.

Il est à noter en plus que l'IA est une technique onéreuse nécessitant beaucoup de matériels et doit être pratiquée par des personnes bien formées, qui maîtrisent parfaitement l'anesthésie d'une reine.

L'insémination est un travail programmé : Sélection des géniteurs parentaux, élevage des mâles, élevage des reines, et l'insémination de la nouvelle génération. La réussite dépend de la stricte observation de chaque phase des préparatifs.

Les références :

Abbé Warré (L'APICULTURE POUR TOUS) DOUZIÈME ÉDITION Reproduction Abbé Warré.

Elevage de faux-bourdon par William Seyferth, 2010. <http://tel.archives-ouvertes.fr/>

Drescher, 1961. Elevage et conservation des mâles et des reines. Institut de Landwirtschaftliche zoologie and Bienenkunde. 53-Bonn, Melbweg, 5, R.F.A.

<http://www.pedigreeapis.org/biblio/books/guth/D.shhtml>.

hal.archives-ouvertes.fr/hal-01234717 Submitted on 27 Nov. 2015.

Article-anecea-insemination.pdf.

http://siarp.org/apiculture/doc/jk/insemination_instrumentale_reines.pdf.

<http://www.abeille-hygiene.com>.

[www.poste SWIENTY.com](http://www.posteSWIENTY.com).

Fresnaye. REVUE L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE DES REINES D'ABEILLES. Les Annales de l'Abeille, INRA Editions, 1966, 9 (3), pp.251-263. <Hal-00890239> .Jos Guth, 2008.

Jean-Marie Van Dyck - Jemeppe-sur-Sambre Belgique.

<http://www.lemonde.fr/sciences/article/2014/01/20/le-parfum-persistant>

Kurennoj, 1954. Vol et maturité sexuelle chez le faux-bourdon. En russe. Pchelovodstvo, (12) ,24-48.

Caillas, 1974 ; Ghalem, 1982 ; Aissou, 1984 cité par Chettouf, Klai, 1996.

www.apiservices.com/articles/fr/tunnel-de-vent.html

www.apiculture.com/course/elevage/fecondations.html

Fresnaye, 1964. la claustration des mâles destinés à l'insémination artificielle des reines d'abeilles. Ann Abeille, 7(1) ,55-61.

Fresnaye, 1966. influence des variations de l'âge de maturité sexuelle chez les reines d'abeilles (*Apis mellifica*) fécondées par insémination artificielle. Ann Abeille, 9(3), 237-242.

Laidlaw, 1954 H.H, An anesthesie chamber of the artificial insemination of queen-bees. J. econ. Entromol.

Machensen et al 1948.A new syringe for the artificial insemination of queen-bees.Amer.Bee J, 88(8), 412.

Bottcher, 1967. Elevage et conservation des mâles et des reines. Landwirtschaftliche zoologie and Bienenkunde, 53-Bonn, Melbweg, 5, R, F, A.

Medvedev et Koehler, 1956.Pchelovodstvo (33), 10-13.

Ruttner.1964et Al 1957.Technik and Anwendung der Kunslicheng Bienenkonini. Z.Bienenforsch, 7(2), 25-34.

Rinder, 1985.Relation of semen volume to success in artificial insemination of queen hony-bees.J.econ.Entonoil, 57(4), 581-583.

Soczeck 1956, influence of some factors on queen's flights and mating.2m109-119.

Ruttner et Al 1957. The sexual function honeybee m39m577-600.

Woyke, 1955.multiple mating of the honeybee-queen in one nuptial flight .Bull.Qcqd.Polon.sci.m11, 3(5), 175-180.

Vesely, 1957.sur le problème de l'insémination artificielle des reines d'abeilles(en thèque).Fol.Zool, 10(3) ,203-210.

Kurenoi1954.Quand les mâles sont –ils sexuellement mure ?(en russe).Pchelovodsto, 11,28-32.

Koehler, 1962.Recherches expérimentales sur la fertilité du receplaculum seminis à l'aide de la fécondation artificielle .Bull.Apic.Inform, (2)219-224.

Mackensen, 1956.Experiments in the technique of artificial insemination of queen bees.J.econ.Entoniol.48 (4), 418-421.

Mackensen, 1954. Some Improvements in method and syringe design in artificial insemination.J.econ.Entoniol.47 (5), 756-768.

Mackensen, 1947. Effet of carbon dioxide on initial ovipositor of artificially insemination and virgin queen-bees. J. econ. Entomol. 40 (3), 344-349.

Verma, 1973 Biology of honeybee (*Apis mellifera* L.) Spermatozoa. 1. Effect of different diluents on motility and survival. Apidologie 9(3), 167–173.

Abdelkader, Guillaume Kairo, Sylvie Tchamitchian, Marianne Cousin, Jaques Senechal, et al. Semen quality of honey bee drones maintained from emergence to sexual maturity Under laboratory, semi field and field conditions. Apidologie, Springer Verlag, 2014, 45 (2), pp.215-223. <10.1007/s13592-013-0240-7>.

Schluns, H., Schluns, E.A., Praagh, J.V., Moritz, R.F.A. (2003) Sperm numbers in drone honeybees (*Apis mellifera*) depend on body size. Apidologie 34(6), 577–584.

Woyke 1975. Nature and artificial insemination of *Apis*. Rec. 14m153-159.

www.pedigreepis.org/biblio/artcl/moon-du-gat75fr.htm

Ruttner et Koeniger (1989). Mating behavior and anatomy of the reproductive organs. In Moritz RFA (ed) the instrumental insemination of the queen bee (*Apis mellifera*), Bucharest: 19).

L'ADARA et le CETA Val de Saône en février 2016.

daniel.petit.chez-alice.fr/index.htm,

www.pep.chambagri.fr/apicole-accueil

www.Instrument de l'insémination.com

www.Lesruchesdargonne.com

www.alsace.chambagri.fr/elevage/apiculture.html

www.abeille-hygienique.magix.net/recolte%20sperme.htm

www.apiservices.com/articles/fr/tunnel_de_vent.htm.

www.mathieua.fr/blog/lelevage-de-reines .