

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Saad Dahleb -Blida 1-



Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie des populations et des organismes

Mémoire de fin d'études
Pour l'obtention du Diplôme de Master II en Reproduction Animale

Thème

Etude de la qualité du sperme des faux bourdons Apis Mellifera Intermissa

Soutenu publiquement le 17/09/2017

Présenté par:

HAMEL Mouna

et

BOUGUETTOUF Rania Ghozlane

Devant le jury :

Président:	BESSAAD M.A.	M.C.B.	Univ Blida 1
Examinatrice :	CHAICHI W.	M.A.A	Univ Blida 1
Promoteur :	Pr. KAIDI R.	Professeur	ISV Blida
Co-promoteur :	Dr. LATRECH H.	Vétérinaire/Master	ISV Blida

Année: 2016/2017

Remerciements

Ces quelques lignes du manuscrit sont les plus agréables à écrire. Elles signifient que le mémoire est enfin terminé et elles permettent de remercier l'ensemble des personnes qui ont participé de près ou de loin à ces quelques semaines de projet.

À l'issue de cette fin de travail, nous adressons nos remerciements premièrement au Bon Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces longues années d'études.

En premier lieu nous tenons à présenter mes plus sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre promoteur, Pr KAJDI Rachid; un exemple à suivre, pour son aide précieuse, ses conseils et sa disponibilité, Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour vos qualités scientifiques et humaines.

Nous remercions également à DR LATRECH Hamidou, Dr BELABDI Ibrahim et Dr ABDALI Amine, pour leurs gentillesse, leurs disponibilités et leurs contribution au bon déroulement du travail réalisé , pour tous leurs conseils et les idées, Et à Mr Tahar SOUNA, directeur de l'exploitation SOUNA MIEL, pour son accueil.

Que les membres de ce prestigieux et distingué jury soient assurés de notre gratitude pour nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail.

Enfin, que toutes les personnes ayant contribuées, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, soient chaleureusement remerciées.

DEDICACES

Grace à Dieu que j'ai achevé ce travail que je dédie à :

A mon très cher père, source d'amour, d'affection, de générosité et de sacrifices. Tu étais toujours là près de moi pour me soutenir, m'encourager et me guider avec tes précieux conseils. Que ce travail soit le témoignage des sacrifices que vous n'avez cessé de déployer pour mon éducation et mon instruction. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et l'admiration que je porte au grand homme que vous êtes. Puisse Dieu le tout puissant vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma très chère mère source d'amour et de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vous m'avez toujours aidé par vos conseils et vos sacrifices. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et l'admiration que je porte à la grande femme que vous êtes. Puisse Dieu le tout puissant vous accorder meilleure santé et longue vie.

A mon frère et ma sœur pour leurs patiences, soutiens et leurs sentiments d'amour aux moments les plus difficiles. Je vous souhaite plein de succès, de joie et de bonheur. Que Dieu vous garde et illumine vos chemins.

A tout ceux qui m'ont aidé, encouragé, apprécié mon effort et créé le milieu favorable, l'ambiance joyeuse et l'atmosphère joviale pour me procurer ce travail.

Mouna

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail en signe de gratitude, de reconnaissance et d'affection.

Aux êtres les plus chers au monde, qui resteront toujours vivants dans mon cœur, qui ont guidé mes pas et qui continuent et continueront toujours à le faire, mon adorable père et ma mère chérie qui m'ont toujours encouragé et m'ont aidé à réaliser mes ambitions. Sachez que je suis fier d'être votre fille. Je vous aime de tout mon cœur.

A la mémoire de ma regrettée grand-mère que Dieu le tout-puissant lui accorde sa Sainte miséricorde dans son vaste paradis.

Je remercie mes chères tantes Warda, Mennouba, mon père Mohamed, Soumia, Rima, Sameh en reconnaissances de leurs encouragements. Sans oublier Charuki et mon oncle Rabie.

A toute ma famille, mes deux frères Salah Eddine et Ferhat Theb, ma sœur Dounia Phourouk.

Je vous dis à tous merci de tout cœur.

Rania ghozlane

Résumé

Très longtemps le rôle des faux bourdons a été sous-estimé, parfois même considéré comme inutiles portant ils ne semblent accomplir qu'une seule fonction mais la plus importante de toute, la fécondation de la reine. La durée de vie de cette dernière est dépendante du nombre de spermatozoïdes qu'elle acquiert durant le processus d'accouplement. Des apiculteurs notent l'échec précoce des reines après leurs introductions dans des ruches productrices de miel. Des données suggèrent que les échecs peuvent être dus à des problèmes avec le processus d'accouplement, soit à un nombre ou une qualité insuffisante de faux bourdons. Des expériences ont été menées de février 2017 à juin 2017 pour examiner la production et la qualité du sperme des faux bourdons *Apis mellifera intermissa* à partir d'un certain nombre de paramètres dont l'âge, le poids ainsi que le moment d'élevage. Le nombre de spermatozoïdes a été évalué aux âges de 14, 21 et 35 jours. Les résultats montrent que 34.45 % des faux bourdons examinés ont libéré du sperme par l'endophallus après éversion manuelle, le nombre de spermatozoïdes produits par faux bourdon 5.75×10^6 se situe dans la moyenne par rapport à la majorité des données publiées, le nombre de spermatozoïdes augmente avec l'âge et le poids des faux-bourdons testés et le moment de l'élevage influence le nombre de spermatozoïdes. Cela dans le but de fournir des informations visant à améliorer la gestion de la production d'abeille et de réduire les pertes des reines.

Mots-clés : *Apis mellifera intermissa*, faux bourdon, reine, nombre de spermatozoïdes, endophallus, éversion manuelle.

Abstract

For a long time, the role of the drones honey bees has been underestimated, sometimes even considered as useless, They seem to perform only one function, but the most important of all, the fertilization of the queen. The lifetime of the queen depends on the number of spermatozoa that she acquires during the mating process. Beekeepers note the early failure of queens after their introduction into honey producing hives. Data Suggest that failures may be due to problems with the mating process, either to an insufficient number or quality of drones. Experiments were conducted from February 2017 to June 2017 to examine the production and quality of sperm from the *Apis mellifera intermissa* drones from a number of parameters including age, weight and time of rearing. The number of spermatozoa was evaluated at the ages of 14, 21 and 35 days. The results show that 34.45% of the drones examined released sperm at endophallus after manual eversion, the number of spermatozoa produced by drone 5.75×10^6 is on average compared to the majority of published data, the number of spermatozoa increases with the age and weight of the drones tested and the time of breeding influences the number of spermatozoa. In order to provide information to improve the management of bee production and reduce queen losses.

Keywords: *Apis mellifera intermissa*, drones, queen, number of spermatozoa, endophallus, manual eversion.

ملخص

لفترة طويلة من الزمن قد تم التقليل من دور ذكور النحل حتى في بعض الأحيان تعتبر عديمة الفائدة ويبدو أنها تؤدي وظيفة واحدة فقط ولكنها الأهم ألا وهي تخصيب الملكة، إن حياة الملكة يعتمد على عدد الحيوانات المنوية التي حصلت عليها خلال عملية التزاوج. لاحظ النحالون الفشل المبكر للملكات بعد إدخالها إلى خلايا إنتاج العسل. البيانات تشير إلى أن الفشل قد يكون بسبب مشاكل في عملية التزاوج، إما إلى عدم كفاية عدد أو نوعية ذكور النحل. أجريت التجارب الأولوية من فبراير 2017 إلى جوان 2017 لدراسة جودة وإنتاج الحيوانات المنوية لذكور *أبيس مليفيرا أنترميسا* وذلك اعتمادا على عدد من المعلومات بما في ذلك العمر، الوزن وفترة التربية. تم تقييم عدد الحيوانات المنوية في سن 14 و21 و35 يوما. أظهرت النتائج أن 34.45 من الذكور المفحوصة أصدرت السائل المنوي في الأندوفالوس بعد الانقلاب المنوي وأن عدد الحيوانات المنوية التي تنتجها الذكور 5.75×10^6 في المتوسط مقارنة مع غالبية البيانات المنشورة، وأن عدد الحيوانات المنوية يزداد مع العمر و الوزن، و أن فترة التربية تؤثر على عدد الحيوانات المنوية. من أجل توفير المعلومات لتحسين إدارة إنتاج النحل وتقليل خسائر الملكات.

كلمات مفتاحية: *أبيس مليفيرا أنترميسا*، ذكور النحل، الملكة، عدد الحيوانات المنوية أندوفالوس، إنقلاب اليدوي.

SOMMAIRE

RESUME	3
LISTE DES FIGURES	8
LISTE DES TABLEAUX.....	9
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	10
CHAPITRE I: ETAT DE CONNAISSANCE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE, APIS MELLIFERA	12
I.1 GENERALITES SUR L'ABEILLE APIS MELLIFERA	12
I.1.1 Position systématique de l'abeille	12
I.1.2 Répartition géographique	12
I.2 BIOLOGIE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE	13
I.3 CASTES ET TACHES DANS LA COLONIE	14
I.3.1 Reine	15
I.3.2 Ouvrières.....	15
I.3.3 Faux-bourçons : des individus spécialisés pour la reproduction	15
I.3.3.1 Développement du mâle d'abeille.....	16
I.3.3.2 Déterminisme du sexe	16
I.3.3.3 Caractéristiques morphologiques et anatomiques des mâles d'abeilles	17
I.3.3.4 Une anatomie spécialisée dans la détection des reines.....	18
I.3.3.5 Importance du mâle dans la colonie d'abeille	18
I.3.3.6 Durée de l'existence des mâles	18
CHAPITRE II: REPRODUCTION ET EVALUATION DE LA PRODUCTION ET LA QUALITE DU SPERME.....	19
II.1 ANATOMIE DE L'APPAREIL DE REPRODUCTION DES MALES	19
II.2 REPRODUCTION	20
II.2.1 Essaimage	20
II.2.2 Reproduction sexuée.....	20
II.2.3 Influence de l'apiculteur sur la reproduction de ses colonies	22
II.2.3.1 Essaimage artificiel.....	22
II.2.3.2 Greffe de reine	23
II.2.4 Compétition des faux bourçons.....	23
II.2.5 Compétition de sperme	23
II.3 LA CONSERVATION DU SPERME.....	24
II.3.1 La collecte du sperme	24
II.3.2 Préservation du sperme	25
II.3.3 Dilution et diluant.....	26
II.3.4 Température	26
II.4 EVALUATION DE LA PRODUCTION ET LA QUALITE DU SPERME.....	27
II.4.1 Semence et spermatozoïdes du faux bourdon.....	27
II.4.1.1 La semence.....	27
II.4.1.2 Le spermatozoïde.....	27
II.4.2 Volume de sperme.....	28

II.4.3	<i>Viabilité des spermatozoïdes</i>	29
II.4.4	<i>Motilité des spermatozoïdes</i>	31
II.4.5	<i>Nombre des spermatozoïdes</i>	32
CHAPITRE III:	ETUDE DE LA QUALITE DU SPERME DU FAUX BOURDON	33
III.1	INTRODUCTION.....	33
III.2	OBJECTIFS	33
III.3	CANEVAS GENERAL.....	33
III.3.1	<i>Au niveau du rucher</i>	33
III.3.2	<i>Au niveau du laboratoire</i>	34
III.4	PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE.....	34
III.4.1	<i>Station Chebli</i>	34
III.4.2	<i>Station de sidi moussa</i>	34
III.4.3	<i>Choix de l'exploitation</i>	35
III.4.4	<i>Emplacement du rucher</i>	35
III.4.5	<i>Le climat</i>	35
III.4.5.1	<i>Température</i>	36
III.4.5.2	<i>La pluviométrie</i>	36
III.5	MATERIELS ET METHODES	37
III.5.1	<i>Matériel biologique</i>	37
III.5.2	<i>Matériel apicole destiné à l'élevage</i>	37
III.5.3	<i>Matériels du laboratoire</i>	38
III.5.4	<i>Elevage des mâles destinés à l'expérimentation</i>	38
III.5.4.1	<i>Première technique</i>	38
III.5.4.2	<i>Deuxième technique</i>	39
III.5.5	<i>Eversion de l'endophallus</i>	40
III.5.6	<i>Collection de sperme</i>	42
III.5.7	<i>Nombre de spermatozoïdes</i>	42
III.6	RESULTATS ET DISCUSSION	43
III.6.1	<i>Faux bourdon libérant du sperme à l'éversion</i>	43
III.6.1.1	<i>Elimination des mâles</i>	45
III.6.2	<i>Taux des faux bourdons issus soit d'ouvrière pondeuse soit de reine vierge libérant du sperme à l'éversion</i>	46
III.6.3	<i>Nombre de spermatozoïdes</i>	47
III.6.4	<i>Effet saison sur le nombre de spermatozoïdes</i>	49
III.6.5	<i>Effet poids sur le nombre de spermatozoïdes</i>	50
	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	53
	BIBLIOGRAPHIE	55
	ANNEXES	69
	ANNEXE 1 : MATERIELS D'APICULTURE	70
	ANNEXE 2 : MATERIELS DU LABORATOIRE	71

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I-1 : Classification de l'abeille (<i>Apis mellifera</i>) (RAVAZZI, 2003).	12
Tableau I-2 : Durées de développement des couvains d'abeilles pour les trois castes (VON FRISCH, 2011).	14
Tableau II-1 : Volume moyen de sperme prélevé par faux-bourdon (<i>Apis mellifera</i>) étendue et nombre de faux-bourdon évalués pour différentes études.	29
Tableau II-2 : Nombre de spermatozoïdes par faux-bourdon, nombre de faux-bourdon évalués et technique utilisée pour différentes études.....	32
Tableau III-1 : Nombre de faux bourdon à l'émergence et proportion de faux bourdon avec du sperme après éversion manuelle à différents âges.....	43
Tableau III-2 : Nombre de faux bourdon pris à l'émergence et proportion de faux bourdon de l'ouvrière pondreuse et la reine vierge avec du sperme après éversion manuelle à différents âges.....	46
Tableau III-3 : Les nombres de spermatozoïdes libérés par trois types de faux bourdon par ruche en fonction de l'âge.	47
Tableau III-4 : Les nombres de spermatozoïdes libérés par trois types de faux bourdon par ruche en fonction de la saison.....	49
Tableau III-5 : Les nombres de spermatozoïdes libérés par les faux bourdon issus des trois catégories par ruche en fonction du poids.	50

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les faux bourdons sont une composante biologique importante des populations d'abeilles, bien qu'ils ne forment pas ou ne produisent pas de travail à l'intérieur de la colonie d'abeilles, ils portent des informations génétiques importantes qu'ils contribuent à la prochaine génération d'ouvrière. Sous un climat modéré, les faux bourdons (*Apis mellifera*) sont présents dans les colonies de mai à août (**Boes 2010**).

Leur nombre dans une colonie ne dépasse pas 10% de la population adulte et dépend de la saison, du nombre d'individus dans la colonie, de la présence et de l'âge de la reine, du nombre de nids de mâles et de la quantité de nourriture disponible (**Boes 2010; El-Kazafy and AL-Kahtani 2013**). Seuls quelques faux bourdons meurent après s'être accouplés avec la reine. La plupart des mâles, dont la durée de vie moyenne est de 30 jours, décèdent d'autres causes telle que vieillesse, prédation, facteurs environnementaux, nutrition, température. Les faux bourdons sont nourris et soignés par les ouvrières, et leur grande taille requiert des ressources importantes. La reine produit des faux bourdons au début du printemps (**Winston, 1987**). La colonie se développe rapidement à la fin du printemps et les mâles matures ainsi que les reines vierges sont nécessaires à ce moment-là pour recoloniser la ruche.

La quantité de sperme dans leurs spermathèques diminue avec le temps, ainsi la fin de la vie reproductive d'une reine est déterminée par l'épuisement de son approvisionnement en spermatozoïdes. En cas d'utilisation excessive de sperme, les reines peuvent être prématurément épuisées et commencer à mettre des œufs non fertilisés qui se développeront en mâles. Avec la pression sur la performance, il est essentiel pour la reine d'avoir une consommation équilibrée de sperme elle devrait utiliser un nombre suffisant de spermatozoïdes par œuf pour assurer le succès de la fécondation. La qualité du mâle est primordiale pour le succès de l'accouplement des reines, avec suffisamment de mâles matures, produisant chacun un grand volume de sperme contenant un grand nombre de spermatozoïdes.

Cependant, l'abondance et la diversité des abeilles sont maintenant en déclin et des pertes mondiales sévères de miel ont été observées. Les niveaux élevés d'acceptation de la reine après l'introduction dans les ruches et les mauvaises performances préalables des reines qui ont été acceptées lors de l'introduction, ainsi qu'une augmentation du nombre de jeunes reines défaillantes qui se traduit par un remérage précoce, par une ponte irrégulière en cours de saison, par une incapacité à reprendre la ponte au printemps, ont été signalés par les apiculteurs. L'apparition d'une reine défaillante durant la saison apicole entraîne d'importants coûts de production pour l'apiculteur. L'hypothèse de l'existence d'un problème au niveau du

processus de fécondation est souvent soulevée, un nombre insuffisant de faux bourdons ou une qualité inadéquate du sperme.

L'objectif principal de notre étude est d'optimiser les qualités reproductives des faux bourdons utilisés pour la fécondation des reines, de caractériser notre race locale et essayer d'identifier l'implication du mâle abeille dans l'échec précoce de la préparation des reines.

Ce mémoire est organisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une présentation générale de l'abeille domestique, *Apis Mellifera*. Le deuxième chapitre est réservé à l'étude de la reproduction et évaluation de la production et la qualité du sperme. Le troisième chapitre portera sur l'étude expérimentale de la qualité spermatique du faux bourdon se basant sur le nombre de spermatozoïdes produits par faux bourdon et la détermination si l'âge, le poids et la saison d'élevage influence la qualité de ce dernier. Bien entendu, on terminera ce mémoire par une conclusion générale résumant le travail effectué et les perspectives envisagées.

Chapitre I

Etat de connaissance de L'abeille domestique, Apis Mellifera

CHAPITRE I: ETAT DE CONNAISSANCE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE, *APIS MELLIFERA*

I.1 GENERALITES SUR L'ABEILLE *APIS MELLIFERA*

I.1.1 Position systématique de l'abeille

Apis est un genre qui regroupe neuf espèces d'insectes sociaux de la famille des Apidae (Tableau I-1). C'est le seul genre de la tribu des Apini. Ces espèces produisent du miel en quantité notable. Ce genre regroupe les espèces qui sont principalement exploitées pour l'apiculture. Les membres de ce genre sont communément désignés par le terme abeilles, quoique ce terme puisse désigner aussi les taxons supérieurs Apoidea, Apidae et Apinae. Il existe d'autres espèces d'abeilles à miel en dehors du genre *Apis*, qui produisent du miel en très petites quantités (PROST et LE CONTE, 2005).

Tableau I-1 : Classification de l'abeille (*Apis mellifera*) (RAVAZZI, 2003).

Règne	Animal
Embranchement	Arthropodes
Classe	Insectes
Ordre	Hyménoptères
Sous-ordre	Apocrites
Super-famille	Apoidés
Famille	Apidés
Sous-famille	Apinae
Tribu	Apinés
Genre	<i>Apis</i>
Espèce	<i>Apis mellifera intermissa</i>

I.1.2 Répartition géographique

L'abeille appartient à la classe des insectes. La plus répandue dans le monde est *Apis mellifera*, qui s'étend depuis la pointe sud des savanes africaines, passant par la méditerranée jusqu'à atteindre la limite de son expansion en Europe du nord et en Scandinavie du sud. Une telle variété d'habitat, de conditions climatiques et de flore, a permis l'apparition de nombreuses sous espèces ou races géographiques qui sont interfécondes, chacune avec ses caractéristiques morphologique et physiologique adaptées à chaque région (CHAUVIN, 1968). La race présente en Algérie *Apis mellifera intermissa*, également appelée abeille tellienne. *Apis mellifera sahariensis*, ou abeille saharienne, a été décrite par (HACCOUR, 1961). C'est une abeille jaune de petite taille, à indice cubital élevé. Elle est peu agressive et possède une

résistance remarquable aux conditions difficiles du milieu. Elle se retrouve au sud du Maroc et de l'Algérie.

Les sous espèces identifiées en Algérie sont :

- ✚ *Apis mellifera intermissa* Buttel-Reepen (1906) : également appelée abeille tellienne rencontrée au nord (**BELAID, 2011 et BAROUR, 2012**). Elle est de couleur noire, se caractérise par une grande agressivité, une productivité en miel élevée et une sensibilité à toutes sortes de maladie (**WINSTON, 1993**).
- ✚ *Apis mellifera sahariensis* Balden sperger (1922) : connue sous le nom "la saharienne ", est répandue dans le sud et caractérisée par sa douceur et sa couleur jaune (**BERKANI et al, 2005**).

I.2 BIOLOGIE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE

L'abeille possède un développement de type holométabole, c'est-à-dire une métamorphose complète, passant par les stades d'œuf, de larve, de puppe et finalement d'adulte (**Winston, 1987**). On appelle couvain l'ensemble des stades immatures, soit les œufs, les larves et les nymphes. La reine pond des œufs dans les alvéoles construites par les ouvrières. Avant de pondre, la reine détermine d'abord si elle est en présence d'une cellule d'ouvrière ou de faux-bourdon à l'aide de ses pattes avant ou de son abdomen (**Gary, 2008**).

Lorsque la reine ne relâche aucun spermatozoïde au moment de la ponte d'un œuf, celui-ci deviendra un individu haploïde, le faux-bourdon. Ainsi, les mâles de la colonie ne possèdent que le bagage génétique de la reine (**Page et Laidlaw, 2008**). Au contraire, lorsque la reine fertilise l'œuf avec un ou plusieurs spermatozoïdes, (phénomène appelé polyspermie) (**Meusel et Moritz, 1993**), l'individu produit deviendra une femelle diploïde (**Klenk et al. 2004; Seeley, 2010**). La plupart du temps, le noyau d'un seul spermatozoïde fusionne avec le noyau de l'œuf alors que les spermatozoïdes dits accessoires dégénéreront rapidement après la fertilisation (**Page et Laidlaw, 2008**).

Le temps de développement pour chaque caste de l'abeille est variable (Tableau I-2) : 21 jours sont nécessaires pour produire une femelle ouvrière adulte, 24 jours pour le faux-bourdon et seulement 16 jours pour la reine (**Winston, 1987**). Le stade de l'œuf est de 3 jours pour toutes les castes. Une larve éclot au bout de 3 jours et est nourrie par les abeilles nourricières. C'est la quantité et la composition de l'alimentation larvaire qui déterminera si une femelle deviendra une ouvrière ou une reine (**Page et Peng 2001; Laidlaw 2008**). En effet, pour les 3

premiers jours du développement larvaire, les larves issues d'œufs fécondés ont le potentiel de se développer autant en abeille ouvrière qu'en reine (**Evans et Wheelers, 2000; Winston 2008**). Les abeilles nourricières sont chargées d'alimenter les larves en développement avec un mélange de sécrétions de leurs glandes mandibulaires et hypopharyngiennes et de pollen (**Winston, 1987**). Les larves de reines sont alimentées avec la gelée royale qui contient une plus grande proportion de sécrétions des glandes mandibulaires riche en sucre. De plus, les larves royales reçoivent plus de nourriture que les larves d'ouvrières. L'alimentation particulière des larves destinées à devenir des reines influence la détermination de la caste de la femelle via le système endocrinien, plus particulièrement l'hormone juvénile connue pour sa régulation du développement chez les insectes (**Nijhout, 2003**). Plus récemment, (**Kamakura 2011**) a identifié une protéine de la gelée royale, la royalactine, qui induit le développement ovarien et la croissance corporelle et diminue le temps de développement des reines.

Tableau I-2 : Durées de développement des couvains d'abeilles pour les trois castes (VON FRISCH, 2011).

Stade	Durée (jours)		
	Reine	Ouvrière	Faux-bourdon
Œuf	3	3	3
Larve	8	6	10
Nymphe	4	12	11
Total	16	21	24

I.3 CASTES ET TACHES DANS LA COLONIE

Il existe 3 castes distinctes chez l'abeille domestique : la reine, l'ouvrière et le faux-bourdon (Figure I-1). Une colonie d'abeilles domestiques est habituellement constituée d'une seule reine, de 10 000 à 60 000 femelles ouvrières et de 0 à quelques milliers de faux-bourbons, dépendamment du moment dans la saison (**Winston, 1987**). La reine et les ouvrières sont des femelles issues d'œufs fertilisés et donc diploïdes alors que les mâles, appelés faux-bourbons, proviennent d'œufs non fertilisés et sont donc haploïdes (**Boes, 2010**).

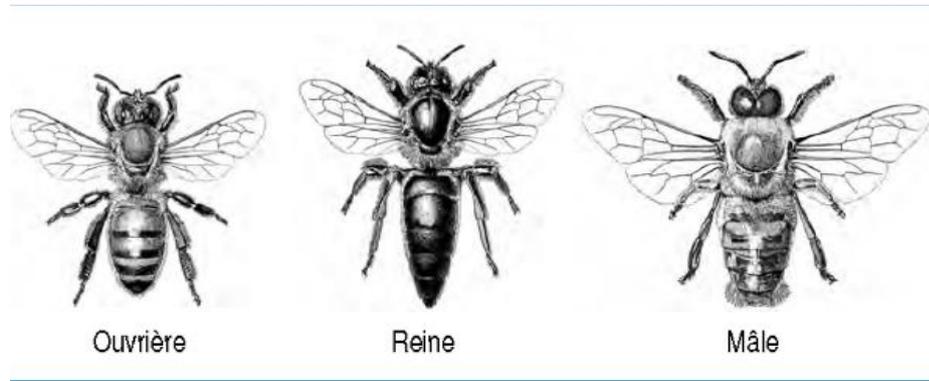


Figure I-1: Morphologie des trois castes d'abeilles (**Bourg, 2006**).

Les œufs fécondés diploïdes engendrent soit des reines possédant la capacité de reproduction, soit des ouvrières ne se reproduisant pas en présence de la reine (**Fries et Camazine, 2001**). La différenciation est déterminée au stade larvaire par une nourriture différente entre larves d'ouvrières et larves de reines durant les 3 premiers jours et demi de la vie larvaire (**Rembold et al;1980**).

I.3.1 Reine

La reine est entourée par des ouvrières qui lui prodiguent les soins nécessaires, en la nourrissant avec une nourriture riche lui permettant d'assurer ses rôles principaux. Son premier rôle de pondreuse est indispensable à la survie de la colonie. A l'intérieur de son abdomen se trouvent deux ovaires de taille importante ainsi qu'une spermathèque ou réserve de spermatozoïdes faisant de la reine une puissante « machine à pondre ». Son deuxième rôle, permet la cohésion de la colonie par le biais des phéromones régulant la physiologie et le comportement des ouvrières (**WINSTON et PUNNETT, 1982**).

I.3.2 Ouvrières

L'ouvrière, occupera plusieurs fonctions au cours de sa vie : nettoyage de la ruche, soins au couvain et à la reine, production de cire, construction de rayons, butinage, défense de la ruche. Toutes ces tâches peuvent être inters changés au besoin de la colonie (**SPÜRGIN, 2008**).

I.3.3 Faux-bourçons : des individus spécialisés pour la reproduction

Une ruche peut comporter plusieurs centaines de mâles, voir jusqu'à 2000 quand elle totalise plus de 50000 ouvrières (**Gôut, 2008**). Facilement reconnaissable à sa taille plus imposante, à son corps trapu, poilu, de couleur sombre, à ses deux yeux resserrés et à son vol

lourd et bruyant (Clément, 2009). Les mâles sont nourris par les ouvrières et ne s'approvisionnent pas directement sur les fleurs. Leur principale fonction est l'accouplement qui a lieu au printemps après l'essaimage, et parfois en cours d'été en cas de la mort d'une reine ou d'épuisement des réserves en spermatozoïdes de celle-ci (ALPHANDERY, 2002).

Le mâle de la ruche se distingue aussi parce qu'il n'a pas d'activité bien précise, comme pour les abeilles. Quand on ouvre une ruche, ils se tiennent souvent dans le haut des cadres et ne sont guère sensibles à la fumée (Gôut, 2008).

I.3.3.1 Développement du mâle d'abeille

Les anciens ont abondamment disserté sur l'origine du faux-bourdon. Nous savons maintenant qu'il est issu d'un œuf non fécondé-phénomène, appelé parthénogénèse. Ainsi, lorsqu'une reine est âgée, sa provision de spermatozoïdes peut s'épuiser ; elle ne pond alors que des œufs des faux-bourçons. De tels œufs proviennent également de jeunes reines non fécondées ou d'ouvrières, qui apparaissent parfois en cas d'orphelinage (Cardinaux, 1995). Les ouvrières pondeuses déposent dans les alvéoles d'ouvrières, des ovules non fécondés d'où sortiront des mâles de petite taille, mais fertiles. Chez le mâle, les différents stades de développement (Figure I-2), œuf, larve (qui reçoit gelée royale, miel et pollen comme la larve d'ouvrière) et nymphe, se succèdent plus lentement que ceux des reines ou des ouvrières (Prost et Le conte, 2005). Le cycle biologique des mâles est plus long que celui des ouvrières : on compte 24 jours entre la ponte et la naissance (Gôut, 2008).

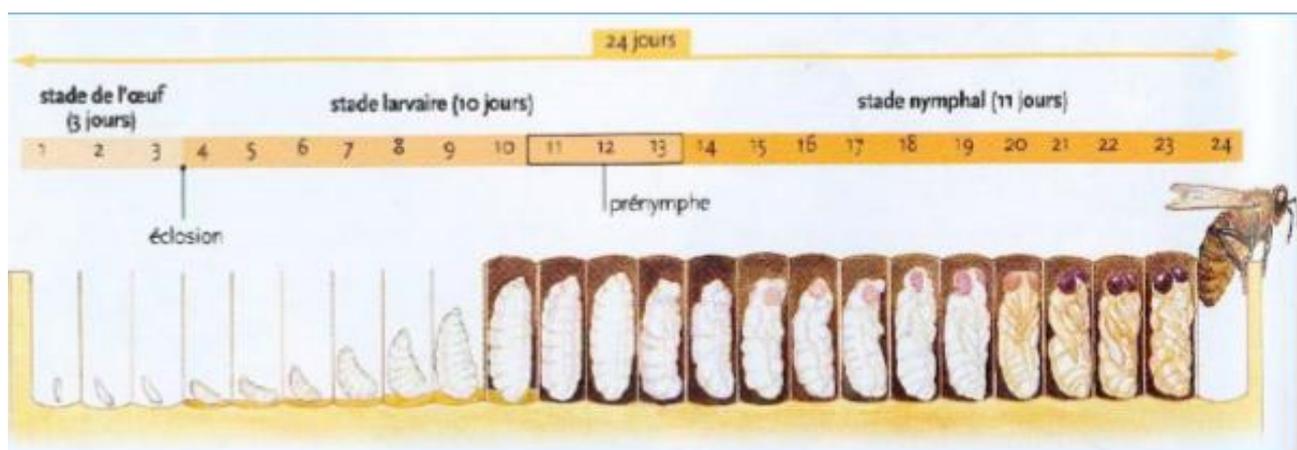


Figure I-2 : Développement des faux-bourçons (Le conte, 2003).

I.3.3.2 Déterminisme du sexe

Le déterminisme du sexe chez de nombreux hyménoptères est assez particulier et dépend du nombre d'allèles différents à un ou plusieurs locus de détermination du sexe (CROZIER

and PAMILO 1996). Si les individus possèdent deux allèles distincts pour au moins un des locus, ils deviendront femelles. Dans le cas contraire (un seul allèle), ils deviendront mâles. Chez certaines espèces, comme l'abeille, le déterminisme du sexe n'est lié qu'à un seul locus. Ainsi, les œufs non fécondés haploïdes sont hémizygotes au locus concerné et deviennent toujours des mâles, on parle de parthénogenèse arrhénotoque. Les mâles haploïdes portent 16 chromosomes distincts. En revanche, les œufs diploïdes peuvent a priori devenir mâles ou femelles et porter 32 chromosomes. Ces mâles diploïdes, s'ils ne sont pas dévorés, à l'état larvaire par les ouvrières, sont généralement stériles (COOK 1993 ; KRIEGER et al. 1999), leur production représente donc un fardeau pour la colonie (Figure I-3).

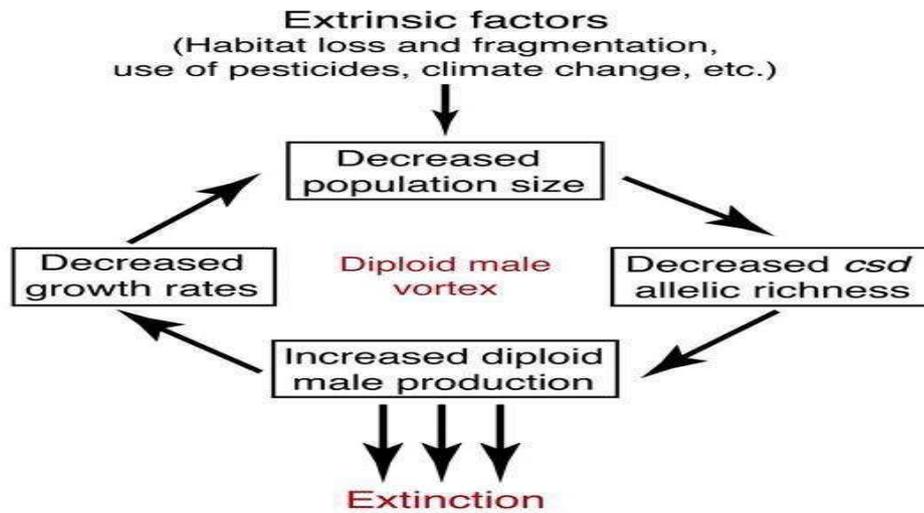


Figure I-3 : Effets de la production de mâles diploïdes sur des petites populations (ZAYED and PACKER 2005).

I.3.3.3 Caractéristiques morphologiques et anatomiques des mâles d'abeilles

Lorsqu'une colonie atteint son plein développement, elle entretient plusieurs centaines de mâles. Ces lourdauds, avec leur grosse tête ronde qui semble ne se composer que d'yeux et avec leur abdomen cylindrique, tronqué à l'arrière sont faciles à reconnaître. Comme ils ne participent à aucun travail dans la ruche, ils n'ont évidemment pas besoin de glandes nourricières, cirières, de Nasanov (Weiss, 1985). D'autres particularités morphologiques moins visibles méritent d'être signalées, parce qu'elles peuvent expliquer la biologie particulière des mâles : langue courte, 7000 à 8500 facettes, sur chacun de ses yeux composés qui ne voient pas le jaune. Champ de vision très étendu, antennes perfectionnées à 30.000 plaques poreuses, pattes dépourvues de structures permettant la récolte du pollen, jabot de faible capacité. De plus, caractère rassurant, le mâle n'a pas d'aiguillon (Prost et Le conte, 2005).

I.3.3.4 Une anatomie spécialisée dans la détection des reines

Les mâles *Apis mellifera* sont ultra spécialisés pour la reproduction. Le mâle possède des muscles allaires beaucoup plus développés que les femelles (**Winston, 1987**). Ces muscles vont lui permettre d'effectuer des vols nuptiaux à de longues distances et sur des durées plus importantes. Ils vont aussi faciliter la copulation en permettant un vol plus rapide pour rattraper la reine. Leurs yeux sont aussi beaucoup plus gros que ceux des femelles, portant ainsi de plus nombreuses ommatidies, leur permettant de mieux repérer les reines dans les congrégations (**Sandoz, 2007**). Dix Mille (10000) ommatidies pour seulement cinq mille cinq cent (5500) chez l'ouvrière, (**Streinzer et al, 2013**). De plus, les antennes des mâles couvrent une surface 2 fois plus grande et possèdent 7 fois plus de sensilles olfactives que celles des ouvrières (**Esslen et Kaissling, 1976**). Ils possèdent un système olfactif adapté spécifiquement à la détection des phéromones de reine (**Loper et al, 1993**).

I.3.3.5 Importance du mâle dans la colonie d'abeille

Les études sur les mâles chez les abeilles sont beaucoup moins nombreuses que celles réalisées sur les ouvrières. En effet, les mâles sont moins présents dans une ruche (100 mâles contre des dizaines de milliers d'ouvrières) et à des périodes de l'année courtes et précises (été), cependant sa seule fonction apparente consiste à féconder les jeunes reines des ruchers environnants, mais la connaissance de son rôle dans la colonie demeure à ce jour encore bien limitée (**Clément, 2009**). Ils jouent peut être un rôle dans l'équilibre phéromonal de la colonie mais cela n'a pas encore été démontré (**Le conte, 2009**). **Warré (2009)**, rapporte que l'avis de certains apiculteurs, qui pensent que les mâles seraient plus utiles à entretenir la chaleur nécessaire à l'éclosion du couvain, à un moment donné. Il participe à la transformation du nectar en miel et sa présence incite les ouvrières à travailler d'avantage (**Ravazzi, 2003**).

I.3.3.6 Durée de l'existence des mâles

Les mâles sont présents dans la colonie au printemps et à l'automne, et on les trouve en plus grand nombre en Juin, au moment des essaimages. A la fin de cette période, les ouvrières cessent de les nourrir et commencent à les chasser de la ruche. Lorsque les ressources diminuent, elles peuvent les tuer d'une pique. On ne rencontre généralement aucun mâle en hiver, sauf dans les colonies bourdonneuses (**Le conte, 2003**).

Chapitre II

***REPRODUCTION ET
EVALUATION DE LA
PRODUCTION ET LA
QUALITE DU SPERME***

CHAPITRE II: REPRODUCTION ET EVALUATION DE LA PRODUCTION ET LA QUALITE DU SPERME

II.1 ANATOMIE DE L'APPAREIL DE REPRODUCTION DES MALES

La fonction principale des faux-bourçons est de féconder la reine afin de perpétuer la colonie. Ils ont donc un appareil génital développé, mais leur maturité sexuelle n'est atteinte qu'à partir d'une dizaine de jours après leur naissance (Adam, 2010a).

L'appareil reproducteur du mâle a une structure complexe, on peut le résumer en un organe pair produisant les spermatozoïdes formés par les testicules et un organe impair servant la transmission mécanique de spermatozoïdes c'est l'organe copulateur (endophallus). Ils produisent des spermatozoïdes au niveau de leurs deux testicules, qui seront ensuite acheminés dans les vésicules séminales via un canal déférent (figure II-1), dans lesquelles ils sont stockés. Deux grosses glandes à mucus accessoires sont annexées au système reproducteur, elles ont pour fonction de protéger le sperme autour de la copulation (Adam, 2010b).

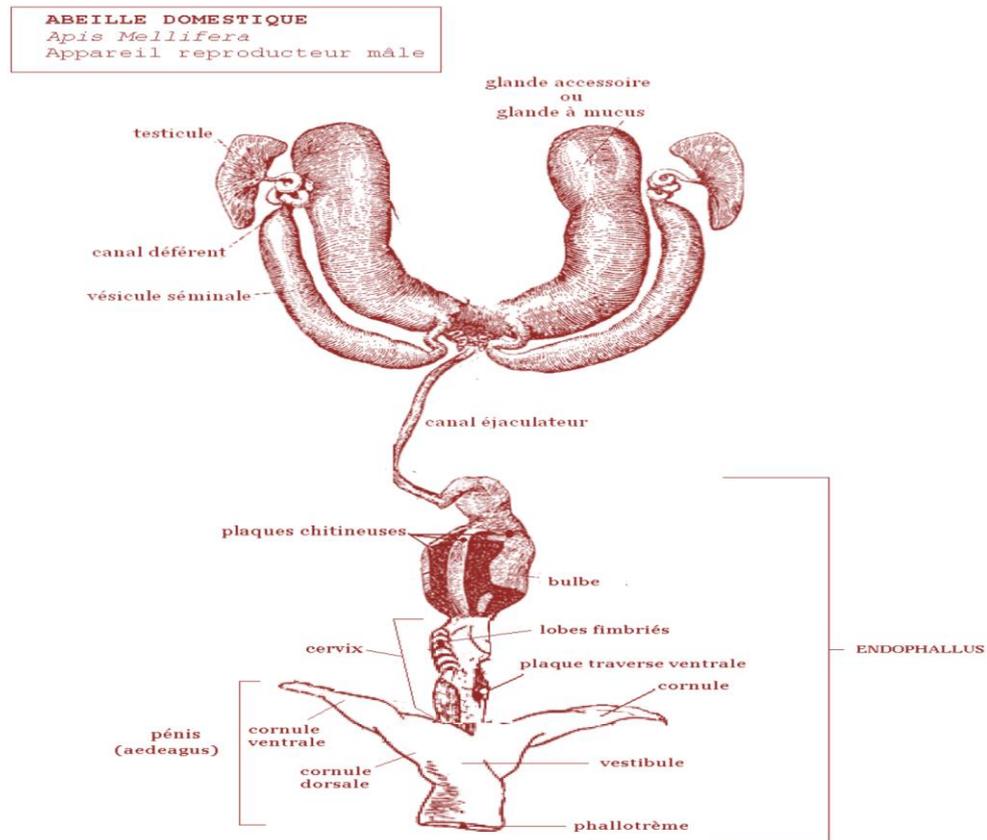


Figure II-1 : Anatomie de l'appareil reproducteur du faux-bourçon (encyclopédie universelle 2013).

II.2 REPRODUCTION

Une colonie d'abeilles se multiplie de 2 façons : par essaimage, un processus de division naturel de la colonie (**Winston, 1987**) ainsi que par reproduction via la production et le maintien des mâles dont la seule fonction véritable est la copulation avec les reines vierges. Cette dernière façon permet l'introduction de nouveaux gènes dans la population (**Boes, 2010**).

II.2.1 Essaimage

L'essaimage est le moyen naturel de reproduction d'une colonie d'abeilles. C'est un processus préparé au cours duquel la vieille reine part avec deux tiers à trois quarts des habitants de la ruche (**Grozinger et al, 2014**), le tiers restant élevant une nouvelle reine (**Seeley, 2010**). Le comportement d'essaimage est observé à la fin du printemps-début de l'été chez les colonies d'abeilles populeuses (**Seeley et al, 2006**). Un des premiers signes de la préparation à l'essaimage dans une colonie est la présence de cellules royales, grosses cellules allongées vers le bas, pouvant facilement être identifiées et détruites par l'apiculteur qui souhaite freiner le comportement d'essaimage afin de conserver la totalité de la population d'abeilles à l'intérieur de la ruche (**Boucher et al, 2011**).

II.2.2 Reproduction sexuée

Les abeilles sont polyandres et ce comportement n'est pas observé dans la plupart des insectes sociaux (**Gencer et al, 2011**). La polyandrie signifie que la reine s'accouple avec plusieurs mâles (**Palmer et Oldroyd 2000**). C'est un phénomène important pour les abeilles mellifères, car les reines accouplées à un seul male produisent des colonies plus faibles (**Page et al, 2006**). Par conséquent, les profils génétiques des ouvrières sont plus diversifiés ce qui optimisent leur productivité (**Koeniger et al, 2014**). Lorsque la reine vierge est sexuellement mature, soit 5-6 jours après l'émergence (**Gary, 2008**), elle effectue de 1 à 3 vols de fécondation (**Tarpy et Page, 2001**) afin de favoriser l'acquisition d'un nombre maximal de spermatozoïdes.

Les abeilles ont une sex-ratio masculine intense estimée à 1 000 à 2 000 mâles par femelle reproductrice (**Koenig et al, 2014**). L'accouplement a lieu l'après-midi, pendant le vol, lorsque les conditions météorologiques sont optimales, ce qui doit convenir aux faux bourdons et à la reine de voler aux DCA (**Koeniger et al, 2014**). La météo est un facteur important dans les régions du nord. La température idéale pour le vol d'accouplement est de 18 ° C pour les drones et de 20 ° C pour la reine (**Koeniger et al, 2014**). On ne sait pas comment les faux bourdons et

les jeunes reines, résidant dans la ruche, sont capables de sentir ces conditions météorologiques, puisque la ruche est thermo régulée par les ouvrières. la reine vole jusqu'à 2 kilomètres (**Estoup et al, 1995**) pour se rendre à l'aire de rassemblement des faux-bourçons où plus de 10 000 à 30 000 faux bourçons de différentes lignées génétiques, provenant d'environ 240 colonies volent à une hauteur du sol variant de 15 à 40 mètres et formant un cercle de 60 à 200 m de diamètre (**Koeniger 1986, Loper et al. 1987, Baudry et al. 1998**).Lorsqu'une reine se rend à l'aire de congrégation des faux-bourçons, ces derniers volent à sa poursuite, attirés par une phéromone, l'acide 9-oxo-2- décénoïque (9-ODA) (**Koeniger et Koeniger, 2000**) et par des signaux visuels (**Gary, 1963**).

Les faux bourçons peuvent exécuter un maximum d'environ six vols par jour (**Koeniger et al, 2014**). Quant à la reine, environ une semaine après l'émergence, elle exécute des vols d'orientation courts d'environ cinq minutes (**Koeniger et al, 2014**). La reine vole vers la DCA environ 30 à 60 minutes après que les drones aient quitté la ruche. Ses vols d'accouplement peuvent durer entre 13 (**Taber, 1954**) et 21 minutes (**Woyke, 1960**), et se produisent entre 14h30 et 16h.

Il y a alors une succession rapide d'accouplements en vol. Lorsqu'il y a éversion de l'endophallus, organe génital du faux-bourçon dans la chambre à aiguillon de la reine, le mâle devient paralysé (Figure II-2). L'éversion complète de l'endophallus est favorisée par les mouvements actifs de l'abdomen de la reine et le sperme est alors transféré dans ses oviductes (**Woyke, 2010**), l'éjaculation provoque la rupture des organes génitaux du faux-bourçon qui meurt et tombe au sol (**Koeniger, 1990**). Une partie de l'endophallus, ainsi que le mucus provenant de l'éjaculat, demeureront coincés dans la chambre à aiguillon de la reine; c'est ce que l'on appelle le «signe de copulation» (**Woyke, 2010**). Le « signe de copulation» est facilement retiré par le faux-bourçon suivant à l'aide d'une paire de poils spécialisés de l'endophallus (**Koeniger, 1990**) alors que les ouvrières retireront le signe du dernier mâle lorsque la reine retournera à la colonie (**Franck et al, 2002**).

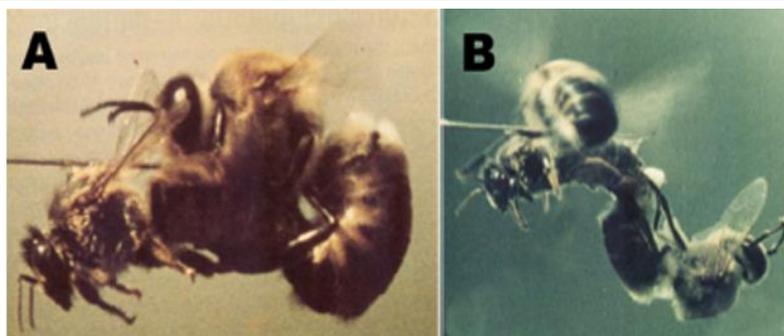


Figure II-2: A : un faux bourdon montant la reine par derrière, prêt à s'accoupler. B : le faux bourdon tombe en arrière, paralysé, après la première éversion de l'endophallus (Koeniger et al. 2014).

La reine reçoit environ 200 millions de spermatozoïdes dans ses oviductes latéraux. Cependant, la spermathèque ne peut retenir que 5 à 7 millions de spermatozoïdes (Woyke 1962, Koeniger 1991). Par conséquent, le sperme de certains faux bourdons n'atteindra pas avec succès la spermathèque. L'excès sera expulsé des oviductes de la reine, en contractant les muscles abdominaux, lorsque les spermatozoïdes retenus migrent dans la spermathèque. La migration des spermatozoïdes se terminée environ 40 h après l'accouplement (Woyke, 1983).

Une fois les vols nuptiaux terminés, la reine pourra alors débiter la ponte; elle pondra de 175 000 – 200 000 œufs / an (Gary, 2008) durant toute sa vie, soit de 1 à 3 ans (Page et Peng, 2001).

II.2.3 Influence de l'apiculteur sur la reproduction de ses colonies

II.2.3.1 Essaimage artificiel

Afin de prévenir la survenue d'un essaimage tout en augmentant la taille de son cheptel ou en remplaçant des colonies mortes, l'apiculteur peut procéder à la création d'un essaim artificiel. Il s'agit d'un procédé assez simple pouvant être réalisé de plusieurs manières (Nicollet, 2014). La plus commune est une simple duplication par division. Ainsi, les abeilles, au même titre que les réserves de miel et de pollen vont être réparties dans deux ruches différentes, en s'assurant que la ruche qui se retrouve sans reine possède des cadres remplis de couvain jeune à partir duquel les ouvrières vont créer une nouvelle reine (Beekman et al, 2002). Il s'agira ensuite de déplacer la ruche nouvellement créée suffisamment loin de la ruche d'origine (au moins 5 km) afin d'éviter que les butineuses y retournent. En outre, un tel procédé permet à l'apiculteur d'opérer une sélection en reproduisant ses meilleures colonies à moindre coût. Ces opérations se réalisent la plupart du temps en début de saison, au printemps, lorsque

les colonies commencent à être à l'étroit en raison de la population et lorsque les ressources sont abondantes à l'extérieur (Nicollet, 2014).

II.2.3.2 Greffe de reine

Si l'apiculteur ne veut pas retarder la colonie nouvellement créée et lui octroyer un maximum de chances de réussite, il peut tout à fait combiner un essaimage artificiel avec l'introduction d'une reine vierge achetée dans le commerce. Ainsi, il s'affranchit de la période d'élevage des reines ainsi que du laps de temps entre éclosion et vol nuptial, soit au minimum 3 semaines (Tarpy et al, 2000). L'introduction de reine peut être réalisée en dehors de la création d'un essaim artificiel, pour remplacer une vieille reine ou une reine ayant engendré une colonie agressive par exemple, il est de toute façon plus prudent d'introduire la reine dans une cage grillagée dont l'entrée est bouchée par de la nourriture pour permettre aux ouvrières de s'habituer pendant environ 3 jours, qui est le temps nécessaire pour libérer l'entrée (Moore et al, 2015).

II.2.4 Compétition des faux bourdons

La compétition entre les mâles se produit individuellement, ce qui signifie qu'ils ne "se battent" pas physiquement les uns contre les autres pour gagner la reine. Ce sont les mâles les plus aptes qui peuvent surmonter les obstacles et survivre pour copuler avec la reine. Les faux bourdons doivent être en mesure de localiser le DCA et la reine plus rapidement que les autres. Par conséquent, les reines ont tendance à s'accoupler avec les faux bourdons qui ont une meilleure capacité de vol (Jaffe et Moritz, 2010). La probabilité d'un accouplement d'un drone avec une reine est estimée à 0,0001% (Koeniger et al, 2014).

II.2.5 Compétition de sperme

On ne sait toujours pas si la compétition de sperme se produit chez les abeilles et comment cela fonctionne (Harbo, 1990, Shafir et al, 2009). La compétition des spermatozoïdes peut se produire après l'accouplement, dans les oviductes, pendant le stockage du sperme dans la spermathèque ou au moment de la fécondation (Wojciechowski et Krol, 1996). Certaines protéines trouvées dans le liquide séminal pourraient déplacer le sperme des autres mâles (Harshman et Prout, 1994), mais il n'a pas encore été démontré chez les abeilles mellifères (Wojciechowski et Krol, 1996). Habituellement, les spermatozoïdes du même mâle ne rivalisent pas les uns avec les autres (Parker et Pizzari, 2010).

Des études ont démontré que la viabilité des spermatozoïdes est réduite lorsqu'elles sont mélangées dans des fluides séminaux d'autres mâles que leur propre liquide séminal (**Den Boer et al, 2010**). Cependant, ces résultats sont contredits par une autre étude, qui a constaté que la viabilité du sperme n'est pas affectée, et les faux bourdons peuvent éventuellement avoir le polymorphisme du sperme (**Tofilski et al, 2012**).

En raison de la compétition extrême mâle-mâle et des exigences élevées du sperme par la reine polyandre, les mâles sont exigés d'un haut niveau de viabilité de sperme (**Hunter et Birkhead, 2002**). En outre, étant donné que la reine ne s'accouple que pendant une courte période, la sélection naturelle du sperme supérieur, considérée comme un grand éjaculat rempli de spermatozoïdes hautement viables, est importante (**Simmons 2002, Den Boer et al. 2008**). Pour perpétuer leur lignée génétique, les faux bourdons devraient maximiser le nombre de spermatozoïdes produits. Le nombre de spermatozoïdes peut varier entre 3 et 12 millions, selon la taille des faux bourdons (**Schluns et al. 2003, Koeniger et al. 2005a**) et le lignage génétique (**Rousseau et al, 2015**).

La viabilité des spermatozoïdes joue un rôle crucial lors de la fécondation et, par conséquent, de la compétition des spermatozoïdes (**Franck et al, 2002**). Les faux bourdons produisant des spermatozoïdes mobiles plus viables augmentent leurs chances de fertiliser les œufs. En outre, la longueur du sperme peut varier de 250 à 270 μm (**Lino-Neto et al, 2000**) ; théoriquement, les spermatozoïdes les plus longs atteindront le spermathèque le plus rapidement, augmentant ainsi leurs chances de féconder l'ovule (**Morrow et Gage, 2000**). Des études sur les bourdons (*Bombus terrestris*) ont démontré que la longueur du sperme est un trait génétique qui répond aux critères de sélection (**Koeniger et al, 2014**).

II.3 LA CONSERVATION DU SPERME

II.3.1 La collecte du sperme

Le sperme peut être recueilli par une des deux méthodes suivantes : directement à partir des vésicules séminales par dissection du mâle (**Mackensen, 1955**) ou par éversion manuelle de l'endophallus (figure II-3). La collecte de sperme directement dans les vésicules séminales entraîne un sperme plus viable, cependant, il est moins pratique pour I.A, car il prend plus de temps à effectuer et moins de sperme est recueilli par rapport à la technique d'éversion manuelle (**Collins, 2004**).

Pour recueillir le sperme d'abeille, l'endophallus doit être manuellement retourné. Pour la première moitié de l'éversion, le mâle est tenu par la tête de sorte que l'abdomen est tourné vers le haut et une pression douce est appliquée au thorax avec l'autre main. Des pressions lumineuses supplémentaires sont appliquées à la base de l'abdomen pour compléter l'éversion. Le sperme de couleur crème est expulsé de l'endophallus, à côté du mucus, et se trouve à l'extrémité de l'endophallus (Figure II-3) (Collins, 2004). L'éversion doit être effectuée dans des conditions sanitaires. Il est crucial d'éviter le contact entre le sperme et le corps du faux bourdon, ou bien avec de la matière fécale. Eviter aussi de toucher le sperme. Un environnement sanitaire réduit la contamination du sperme et assure que la viabilité du sperme n'est pas affectée négativement (Andere et al, 2011).



Figure II-3: Sperme du faux bourdon (Cobey et al, 2013).

II.3.2 Préservation du sperme

Le développement de l'IA chez les abeilles mellifères a stimulé l'intérêt pour la conservation du sperme. L'utilisation de spermatozoïdes stockés facilite grandement l'amélioration génétique de la colonie et prolonge la saison de production de l'abeille, la conservation à court et à long terme du sperme favorise la sélection et l'amélioration génétique des populations d'abeilles (Collins, 2000b). Ainsi, il aiderait à développer des réserves d'abeille supérieures qui sont résistantes à certains parasites tels que les varroas (*Varroa destructor*), (Collins, 2000a). De plus, l'expédition de sperme d'abeille au lieu de celui des faux bourdons vivants réduirait le risque de propagation des pathogènes des abeilles (Cobey, 2007).

Dans les climats nordiques, comme au Canada, la conservation du sperme pourrait être très utile pour faire avancer la saison de production de miel (Collins, 2000b). Comme les males prennent plus de temps pour être sexuellement matures (36 jours de l'ovulation à la maturation sexuelle) et les colonies ne commencent à les produire qu'à la fin du printemps (mai), l'IA, peut être utilisé avec le sperme recueilli l'année précédente pour accélérer et allonger la saison. La conservation du sperme est une stratégie efficace pour préserver la diversité génétique des

abeilles et pour faciliter la sélection de lignées tolérantes aux ravageurs et aux maladies et afin de prévenir la perte de colonies (Cobey et al, 2013).

II.3.3 Dilution et diluant

Les diluants utilisés pour la conservation du sperme sont destinés à imiter le fluide du spermathèque, Puisque les spermatozoïdes stockés dans la spermathèque maintiennent une viabilité élevée pendant plusieurs années. De nombreux diluants de laboratoire peuvent maintenir une viabilité élevée du sperme (Taylor et al, 2009). Habituellement, un tampon composé de sucres, d'acides aminés et d'antibiotiques, avec un pH de 8,6 est recommandé pour la conservation du sperme drone (Moritz, 1984). Malheureusement, la dilution du sperme peut avoir des effets indésirables sur la reine, car plusieurs études ont démontré que le sperme dilué peut ralentir le début de la ponte et moins de spermatozoïdes sont stockés dans la spermathèque (Kaftanoglu et Peng, 1982).

II.3.4 Température

Le sperme peut être conservé à la température ambiante pendant quelques semaines, sans perdre sa viabilité (Cobey, 2007). Les premières recherches sur la conservation des spermatozoïdes ont permis de stocker la semence à température ambiante pendant quatre semaines, mais la contamination bactérienne a rapidement diminué la viabilité des spermatozoïdes (Taber et Blum, 1960). Par conséquent, en introduisant des antibiotiques dans le sperme stocké, la croissance bactérienne a été réduite et le sperme a pu être stocké à température ambiante pendant 3-4 mois (Poole 1969). Le stockage en dessous de 10 ° C et au-dessus de 32 ° C diminue rapidement la viabilité du sperme (Taber et Blum 1960; Harbo et Williams 1987), cependant, les spermatozoïdes peuvent tolérer un stockage bref d'une heure à 40 ° C (Hopkins et Herr 2010). Plusieurs études ont signalé une viabilité du sperme de 70% à 80% après stockage à 12 ° C ou 25 ° C pendant 6 semaines (Locke et Peng, 1993; Collins, 2000b). La qualité du sperme a été mieux conservée à 15 ° C qu'à 24 ° C pendant une période de stockage de 13 semaines (Poole et Taber 1970). De plus, 65% de la viabilité des spermatozoïdes ont été rapportés après 39 semaines à 12 ° C, ce qui est acceptable pour l'I.A. (Collins, 2000b, a).

II.4 EVALUATION DE LA PRODUCTION ET LA QUALITE DU SPERME

II.4.1 Semence et spermatozoïdes du faux bourdon

II.4.1.1 La semence

La semence est la combinaison du sperme et du fluide séminal produits par les vésicules séminales. Le liquide séminal est principalement composé d'une centaine de protéines qui sont différentes des sécrétions des autres glandes. Les protéines séminales ont de nombreuses fonctions, telles que la défense contre les attaques microbiennes, le stress oxydatif, la production d'énergie et le métabolisme des glucides et des lipides. **(Gorshkov et al. 2015)**. La concentration des protéines impliquées dans la signalisation et le maintien de la viabilité diffère de 16% parmi les lignées génétiques, ce qui pourrait influencer sur la compétition des spermatozoïdes en réduisant la réussite de la fécondation des spermatozoïdes des autres faux bourdons **(Baer et al. 2012)**. Le liquide séminal contient également des sucres comme le fructose, le glucose et le tréhalose, qui servent de sources d'énergie pour les spermatozoïdes **(Blum et al ; 1962, Verma 1974)**.

Les faux bourdons produisent en moyenne 1,5-1,7 microlitre de sperme avec environ 7,5 Millions de spermatozoïdes / μl **(Rousseau et al ; 2015)**. Les faux bourdons sexuellement matures ont un sperme de couleur crème jaunâtre, il devient plus sombre, plus épais et son volume diminue avec l'âge **(Czekonska et al ; 2013)**. L'insémination avec un sperme plus épais risque de bloquer les oviductes de la reine et augmente la probabilité que la reine meurt **(Woyke and Jasinski 1978)**.

II.4.1.2 Le spermatozoïde

La plupart des insectes ont des spermatozoïdes très longs avec une tête allongée. Les spermatozoïdes d'abeilles mesurent 250-270 μm de longueur **(Lino-Neto et al ; 2000)**, la tête mesurant 8 à 10 μm (figure II-4), la cellule entière a une largeur de 0,7 μm **(Peng et al ; 1993)**. La tête, contenant le noyau rempli d'ADN, est asymétrique et est composée d'un complexe acrosomique bi ou tri-couches **(Lenski et al. 1979)**. Contrairement aux vertébrés, les spermatozoïdes de l'abeille manquent de la pièce intermédiaire **(Rothschild 1955)**. La queue flagellée est composée de deux dérivés mitochondriaux, d'un axonème et de deux corps accessoires triangulaires **(Lino-Neto et al. 2000)**. L'axonème se compose de neuf microtubules accessibles uniques, de neuf doublets et d'une paire de singlet centrale (9 + 9 + 2). Deux dérivés

mitochondriaux sont parallèles à l'axonème, commençant à la base du noyau et finissant à la fin des flagelles (**Rothschild 1955**). La capacitation des spermatozoïdes et la réaction acrosomique qui surviennent durant le processus de fécondation sont encore inconnues chez les taxons d'insectes par rapport à beaucoup d'autres espèces animales (**Peng et al. 1993**).



Figure II-4: Spermatozoïde du faux bourdon coloré en fluorescence verte avec SYBR-14, observée par un microscope à fluorescence à 400X (**Marilène Paillard**)

II.4.2 Volume de sperme

Le volume de sperme du faux-bourdon peut être obtenu de plusieurs façons, les deux techniques les plus utilisées étant la dissection des vésicules séminales et l'éversion manuelle de l'endophallus (**Rhodes, 2008**). Le sperme peut ensuite être prélevé directement de l'endophallus du faux bourdon à l'aide d'une seringue d'insémination (**Mackensen et Tucker, 1970; Laidlaw 2008**). Contrairement à la dissection des vésicules séminales ou au lavage de l'endophallus, l'éversion manuelle permet d'obtenir une donnée de volume de sperme produit. Le lavage de l'endophallus éversé, méthode développée par **Kaftanoglu et Peng (1984)**, permet la récolte du sperme sans l'utilisation d'une seringue d'insémination mais ne permet pas d'obtenir le volume de sperme produit par le mâle (**Collins, 2004**). Le tableau II-1 présente le volume moyen de sperme prélevé par faux-bourdon selon différentes études.

Tableau II-1: Volume moyen de sperme prélevé par faux-bourçons (*Apis mellifera*) étendue et nombre de faux-bourçons évalués pour différentes études.

Nombre de faux-bourçons	Volume moyen de sperme (μl) \pm erreur type	Références
30	1.01 \pm 0.02	Gençer et Kahya (2011)
504	1.09 \pm 0.04	Rhodes et al. (2010)
Non défini	0.95	Collins et Pettis (2001)
78	1.70	Woyke (1960)

L'évaluation du volume de sperme produit par le mâle est importante puisque l'on sait que l'efficacité de la migration des spermatozoïdes est dépendante de la quantité de sperme (Cobey, 2007). De plus, les travaux de Schluns et al. (2004) montrent que le nombre de descendants d'un faux-bourçon augmente avec un plus grand volume de sperme.

II.4.3 Viabilité des spermatozoïdes

Les techniques permettant de mesurer avec précision la viabilité des spermatozoïdes sont essentielles pour évaluer la qualité du sperme (Locke et al, 1990). Le succès de l'insémination artificielle dépend fortement de la qualité des spermatozoïdes (Peng et al, 1990). Les premiers travaux menés dans l'évaluation de la viabilité des spermatozoïdes portaient sur la qualité de la progéniture produite par les reines inséminées (Peng et al, 1990). Locke et al. (1990) ont expérimenté l'utilisation de deux produits fluorescents, l'iodure de propidium et Hoechst 342 (H342), Les deux produits se lient sélectivement à l'ADN du noyau des spermatozoïdes. H342 pénètre dans les membranes cellulaires, ce qui fait que le noyau de tous les spermatozoïdes fluorescent à une couleur bleu vif (Visser, 1981). L'iodure de propidium (PI) ne pénètre que les membranes endommagées, ce qui amène le noyau des spermatozoïdes endommagés vers une fluorescence rouge vif (Krishhan, 1975).

Sur la base des résultats des études de Locke et al (1990), ils ont recommandé qu'un 1 μL de sperme soit incubé dans une solution de 100-150 μl contenant 5 μg / ml de H342 et 10 μg / ml d'iodure de propidium dans une solution de Kiev modifiée. Les échantillons devraient ensuite être incubés 15 à 20 minutes, et examinés à l'aide d'une microscopie à fluorescence.

Peng et al. (1990) a révélé une méthode de coloration par l'éosine Y afin de déterminer la viabilité du sperme des abeilles. L'éosine Y a été mélangée avec un volume égal de sperme

dilué et incubé pendant 1 à 2 minutes. Un frottis a été prélevé et évalué avec un microscope de phase. Les cellules vivantes étaient clairement violet bleuâtre alors que les cellules mortes étaient colorées au jaune vif.

Après la validation des solutions fluorescentes SYBR-14 et Calcein-AM en conjonction avec l'iodure de propidium dans les essais de viabilité du sperme chez les mammifères et les espèces aviaires, **Collins et Donoghue (1999)** ont mené une étude utilisant ces mêmes produits sur les spermatozoïdes du faux bourdon. Ils ont testé SYBR-14 et Calcein-AM séparément avec PI par des méthodes similaires à celles utilisées par **Locke et al. (1990)**. SYBR-14 et Calcein-AM colorent les cellules vivantes en vert, tandis que PI colore les cellules mortes en rouge (figure II-5).

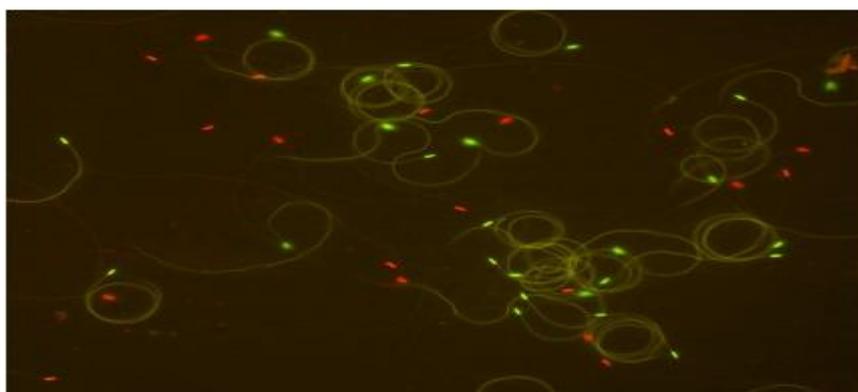


Figure II-5: Fluorescence des têtes de spermatozoïdes traités aux colorants SYBR-14 (qui colore en vert les gamètes vivants) et iodure de propidium (qui colore en rouge les gamètes morts (**L. Kabanoff**)).

Les données sur la viabilité des spermatozoïdes d'abeilles varient d'un auteur à l'autre. **Locke et Peng (1993)** ont notés une diminution de la viabilité des spermatozoïdes avec l'augmentation de l'âge : la viabilité maximale mesurée de 86.2% est atteinte à l'âge de 2 semaines alors que pour les faux-bourdons de 4 à 6 semaines, la viabilité des spermatozoïdes diminue progressivement jusqu'à 81.4-80.1%. Par contre les résultats de **Rhodes (2008)** sont différents, il a observé une plus grande viabilité des spermatozoïdes de 21 et 35 jours, respectivement 81.92% et 80.16% comparativement à la viabilité chez les faux-bourdons de 14 jours de 77.85%. **Collins et Pettis (2001)** ont trouvé une moyenne de 99.2 (82.3-100.0)% de viabilité dans un échantillon de 16 drones âgés de 12 jours.

Collins (2000a) a observé une bonne survie des spermatozoïdes (70 à 80%), pour les spermatozoïdes stockés à température ambiante pendant 6 semaines. Il a également examiné le sperme de 20 faux bourdons à température ambiante, et a trouvé un pourcentage moyen de

sperme vivant de $78,1 \pm 10,1$ (ra 58,5-91,0) %. Il a identifié la méthode de prélèvement du sperme comme étant le facteur affectant le plus la viabilité des spermatozoïdes car les spermatozoïdes sont sensibles à la contamination bactérienne (**Andere et al, 2011**).

II.4.4 Motilité des spermatozoïdes

Tourmente et al. (2007) a considéré l'analyse de la qualité du sperme un outil puissant pour l'évaluation du potentiel de fertilité des mâles et a déclaré que la motilité du sperme, et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles, est corrélée positivement avec le succès de la fécondation dans plusieurs espèces. Chez l'abeille, la motilité spermatique est également cruciale pour la migration des spermatozoïdes jusqu'à la spermathèque de la reine (**Lodesani et al, 2004**).

Les spermatozoïdes entreposés dans la spermathèque sont sous forme immobile (**Verma 1978**). La motilité est activée par la sécrétion des glandes spermathécales soit activée artificiellement par les sécrétions de la glande à mucus, d'une solution tampon d'un pH compris entre 3.0 et 9.0, ou d'eau distillée (**Lensky et Schindler, 1967**), en effet **Kaftanoglu et Peng, (1984)** ont révélé que le taux de motilité des spermatozoïdes étaient plus élevés à pH 6,35 à 8,40 dans les solutions hypertoniques que dans les solutions hypotoniques et aucune motilité vigoureuse n'a été observée dans les diluants salins, hypotoniques au plasma séminal.

Dans le sperme non dilué ou dans un diluant propice, il est possible d'observer le mouvement ondulatoire de la masse de spermatozoïdes, caractéristique de la motilité de cellules. **Lensky et Schindler, (1967)** ont décrit les 3 types de mouvements observés à forte densité chez les spermatozoïdes de faux-bourçons prélevés des vésicules séminales, de l'éjaculat ou du spermathèque : le mouvement ondulatoire de masse et les mouvements individuels circulaires et de serpent. Afin d'obtenir la proportion des cellules mobiles, la méthode d'analyse standard consiste à classer les spermatozoïdes, ou un ensemble de spermatozoïdes, en classes de mouvement (**Locke et Peng, 1993**) allant de l'immobilité aux mouvements circulaires, 0 = pas de mouvement, 1 = <50% de vibration du sperme, 2 = 50% de vibration de sperme mais aucun mouvement circulaire ou progressif, 3 = 50% vibrant avec <50% d'exposition circulaire et mouvement progressif; Et 4 = 50% ont affiché un mouvement circulaire et progressif.

II.4.5 Nombre des spermatozoïdes

La durée de la vie reproductive de la reine est fortement dépendante du nombre de spermatozoïdes qu'elle aura acquis durant son vol nuptial (Harbo, 1979). Ruttner (1976) avait signalé une variation considérable du nombre de spermatozoïdes par faux bourdons, ce qui suggère que les mâles avec un grand nombre de spermatozoïdes peuvent être génétiquement plus efficaces que d'autres. Les méthodes d'évaluation du nombre de spermatozoïdes produits par les faux bourdons ont été variées, comme cela a été pour les résultats rapportés, Les estimations du nombre de spermatozoïdes par faux-bourdon varient de 1 à 30 millions de spermatozoïdes (tableau II-2).

Selon Woyke et Jasinsky (1978), l'âge des faux-bourdons serait négativement corrélé au nombre de spermatozoïdes présents dans la spermathèque de reines inséminées. Schlüns et al. (2003) a comparé le nombre de spermatozoïdes produits par les mâles élevés dans les cellules propres aux mâles avec ceux élevés dans les cellules ouvrières, les petits mâles ont produit significativement moins de spermatozoïdes, $7,5 \pm 0,5 \times 10^6$, que les mâles de taille normale, $11,9 \pm 1,0 \times 10^6$. Rhodes (2008) a également souligné l'importance de la lignée génétique il suggère que les lignées produisant en moyenne moins de 5 millions de spermatozoïdes par faux-bourdon ne devraient pas être utilisées dans les programmes d'amélioration génétique.

La technique d'éversion manuelle semble résulter en un nombre de spermatozoïdes moyen inférieur à la technique de dissection des vésicules séminales, car selon Koeniger et al. (2005), la grande variabilité retrouvée pourrait être expliquée en partie par les méthodes qui diffèrent selon les études.

Tableau II-2 : Nombre de spermatozoïdes par faux-bourdon, nombre de faux-bourdons évalués et technique utilisée pour différentes études.

Nombre de faux-bourdons	Nombre de spermatozoïdes moyen/faux-bourdon \pm erreur type	Technique utilisée	Référence
110	1.47×10^6	Eversion manuelle	Nur et al. (2012)
Non défini	$3.19 \pm 2.37 \times 10^6$	Non défini	Andersen (2004)
504	3.63×10^6	Eversion manuelle	Rhodes et al. (2010)
	Non défini	Non défini	Koeniger et Koeniger (2000)
80	5.7×10^6	Dissection d'une vésicule séminale	Rinderer et al. (1985)
30	$7.32 \pm 0.11 \times 10^6$	Eversion manuelle	Gençer et Kahya (2011)
83	$9.19 \pm 0.46 \times 10^6$	Dissection d'une vésicule séminale	Schlüns et al. (2003)
Non défini	$8.3 + 1.1$	Non défini	Koeniger 2002
Non défini	$7.6 + 1.5$	Non défini	Phiancharoen (2004)

Chapitre III

Etude de la qualité du sperme du faux bourdon

CHAPITRE III: ETUDE DE LA QUALITE DU SPERME DU FAUX BOURDON

III.1 INTRODUCTION

Comme cela a été décrit dans l'introduction, ce projet est le résultat des rapports d'apiculteurs sur les taux élevés d'échec et la diminution des performances des abeilles reines pour cela, nous voulions identifier le rôle et l'incrimination des mâles abeille, et cela dans le but de fournir des informations visant à améliorer la gestion de la production d'abeille et de réduire les pertes des reines.

III.2 OBJECTIFS

Notre étude réalisée au niveau des ruchers de Chebli et sidi moussa, ainsi que le laboratoire des biotechnologies liées à la reproduction animale (LBRA) a pour objectifs de:

- ✚ Evaluer les qualités reproductives du faux-bourdon ;
- ✚ Identifier le nombre moyen de spermatozoïdes produits par faux bourdon ;
- ✚ Examiner la qualité des faux bourdons en fonction de la libération de sperme à l'endophallus après éversion manuelle ;
- ✚ Déterminer l'âge où la fertilité des faux bourdons est optimale ;
- ✚ Déterminer les facteurs influençant la qualité du sperme (Age, saison).

Ce projet vise donc à optimiser les qualités reproductives des faux bourdons utilisés pour la fécondation des reines, de caractériser notre race locale et situer l'implication des mâles abeille dans l'échec précoce des reines.

III.3 CANEVAS GENERAL

Notre travail, de Février à Juin 2017, est scindé en deux parties : la première au niveau des ruchers et la deuxième au sein du laboratoire (LBRA).

III.3.1 Au niveau du rucher

L'étude a été entreprise au niveau de deux ruchers expérimentaux : Sidi Moussa (Alger) et Chebli (Blida). Nous avons entamé notre travail par une prospection de l'élevage afin de choisir les meilleures ruches destinées à l'élevage mâles.

III.3.2 Au niveau du laboratoire

La semence des faux bourdons est systématiquement orientée vers le laboratoire (LBRA) afin de calculer la concentration.

III.4 PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

III.4.1 Station Chebli

L'exploitation de Chebli, fait partie de la daïra de Bouinan dans la Wilaya de Blida, au centre de la plaine de la Mitidja, à 22 km de Blida chef-lieu de la wilaya. Ses coordonnées géographiques sont 36° 35' Nord, 3° 0.1' Est. (Figure III-1).



Figure III-1: situation géographique Chebli (Google Earth 2017).

III.4.2 Station de sidi moussa

C'est une commune de la plaine de la Mitidja, située à environ 25 km au Sud d'Alger. Elle fait partie de la daïra de Baraki Wilaya d'Alger, entourée par Chebli et Birtouta. Ses coordonnées géographiques sont 36°39'58'' Nord, 3°05'30'' Est. (Figure III-2).



Figure III-2: situation géographique Sidi moussa (Google Earth 2017).

III.4.3 Choix de l'exploitation

Le milieu d'étude correspond à la zone la plus fertile et la plus soumise aux exploitations et aux activités agricoles dans le nord de l'Algérie. La région d'étude est la Mitidja caractérisée par de vastes surfaces cultivées ; consacrées aux productions maraichères céréalières fourragères fruitières (l'oranger, le pommier, néflier), viticole et industrielles, auxquels s'ajoutent d'autres plantes mellifères et pollinifères, notamment l'oxalis, et la moutarde des champs ; parallèlement à ces cultures il faut noter l'importance des haies des arbres d'alignement et des brise-vent, qui caractérisent le paysage de la région (figure III-3 ; III-4).



Figure III-3 : Exploitation Sidi moussa.



Figure III-4: Exploitation de Chebli.

III.4.4 Emplacement du rucher

En apiculture l'emplacement des ruches est très important : d'une part pour une bonne activité des colonies et d'autre part pour la santé des abeilles. Les ruches sont disposées sur un terrain plat d'accès facile, posés sur des supports métalliques surélevé de 30 cm du sol pour éviter l'humidité. Ces ruchers sont orientés vers le soleil levant, ce qui favorise l'activité matinale des abeilles.

III.4.5 Le climat

Le climat joue un rôle important dans le développement du couvert végétal en générale et de la flore mellifère en particulier. Il est considéré comme un facteur majeur dans la régulation du cycle biologique des abeilles. L'étude du climat, en l'occurrence les précipitations et les températures, et le suivi de son évolution nécessitent de longues et nombreuses séries d'observations. Malheureusement, nous ne disposons pas de séries de

données parfaitement continues. Celles-ci proviennent des trois organismes en Algérie, à savoir l'Agence nationale des ressources hydraulique (ANRH) et l'Office nationale de météorologie (ONM) et le centre météorologie du service de la défense nationale.

III.4.5.1 Température

L'analyse de l'évolution des températures minimales (m), maximales (M) enregistrées durant la période 1984/2013, fait ressortir que les basses températures sont enregistrées aux mois de février, alors que les températures les plus élevées sont notées durant le mois d'août. Les moyennes des minimas du mois le plus froid sont enregistrées au mois de janvier de l'année 2005 avec une température de $-0,3^{\circ}\text{C}$, et les moyennes des maximas du mois le plus chaud sont notées au mois d'août 1999 avec $45,9^{\circ}\text{C}$ (Figure III-5).

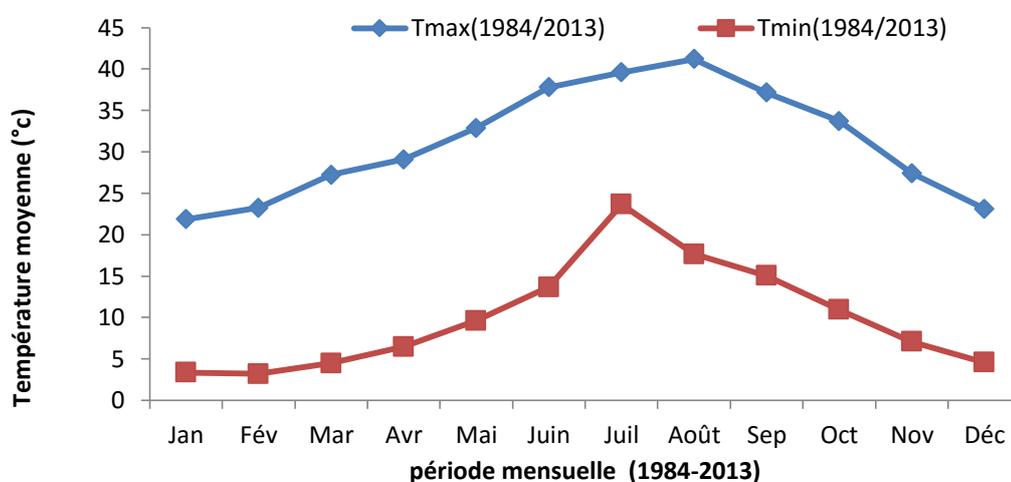


Figure III-5: Variation des températures maximales et températures minimales au cours de la période 1984-2013.

III.4.5.2 La pluviométrie

Les précipitations moyennes annuelles dans la Mitidja ont un régime typiquement méditerranéen et varient entre 600 et 900 mm en fonction de la région considérée, avec un maximum en hiver et un minimum en été.

L'analyse de la variabilité pluviométrique durant la période 1967/2013, montre que depuis plus de 20 ans, la moyenne pluviométrique dans la région de la Mitidja a souvent été en dessous d'une moyenne de l'ordre de 640 mm, enregistrée à la fin des années 1960 (Figure

III-6). Trois périodes sécheresse de durées différentes ont été enregistrées dont la plus intense et la plus longue est celle s'étalant de 1996 à 2002.

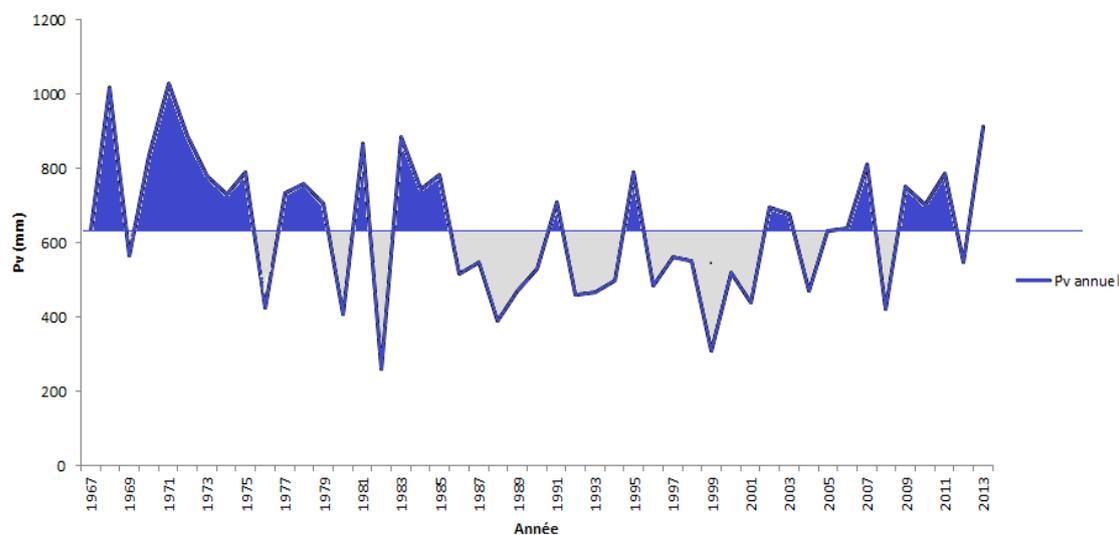


Figure III-6: Précipitations annuelles dans la plaine de la Mitidja pour la période de 1967 à 2013. (■ Abondance pluviométrique; ■ déficit pluviométrique).

III.5 MATERIELS ET METHODES

III.5.1 Matériel biologique

La race d'abeille utilisée dans l'expérimentation est *Apis mellifera intermissa*, appelée communément la tellienne, se répartissant sur toute l'Afrique du nord. Cette race se caractérise par sa couleur noire avec ses taches jaunes, essaimeuse, agressive et pillarde, et rustique.

III.5.2 Matériel apicole destiné à l'élevage

- ✚ **Ruches:** 7 ruches de type langstroth, constituée de 10 cadres ont été utilisées. Chaque ruche est composée d'un plateau hausse couvre cadre et couvercle (Figure.1.annexes) ;
- ✚ **L'enfumoir:** est un outil métallique muni d'un soufflet et d'un couvercle sous forme d'entonnoir. Il est indispensable pour la manipulation des colonies car la fumée qu'il dégage calme et adouci l'agressivité des abeilles, lors de la pose et le retrait des langes, et le traitement (Figure.2.annexes) ;
- ✚ **Lève cadres :** c'est une barre en fer qui sert à décoller les cadres de la ruche que les abeilles ont soudé avec de la propolis (Figure.3.annexes) ;

- ✚ **Grille à reine** : Elle se place sur le corps de la ruche, c'est-à-dire entre le corps et la hausse, pour empêcher la reine de monter dans la hausse et continuer à pondre, surtout pendant la miellée. Le modèle utilisé en Algérie est à fils ronds cuivré ou zingué (Figure.4.annexes) ;
- ✚ **Volière de capture** : munie de quatre côtés grillagés et équipés d'une grille à reine sur le dessus permettant aux abeilles de poursuivre leur vol et de garder les mâles (Figure.5.annexes).
- ✚ **Cire à mâle** : (Figure.6.annexes).

III.5.3 Matériels du laboratoire

- ✚ **CASA Système** : permet une analyse automatique, répétitive et précise d'un échantillon de spermes selon différents paramètres (Figure.7.annexes) ;
- ✚ **Micropipettes** : Volume variable réglable par une roue avec affichage de la valeur avec un système d'éjection de cônes (Figure.8.annexes);
- ✚ **Balance de précision** : (Figure.9.annexes).
- ✚ **Eppendorf de 1.5ml** (Figure.10.annexes);
- ✚ **Embouts standards** : couvrent une plage de volumes de 0.1 µl et 10 ml ;
- ✚ **Cellules de Malassez (ou Hématimètre de Malassez)** : permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution (Figure.11.annexes).

III.5.4 Elevage des mâles destinés à l'expérimentation

III.5.4.1 Première technique

- ✚ Cinquante jours avant le prélèvement de sperme, les cadres à mâles (Figure III-7) sont placés dans des colonies sélectionnées pour leurs qualités, leurs docilités ;



Figure III-7: mise en place des cadres à mâles.

- ✚ Une fois les cadres à mâles operculés (Figure III-8), ont été constitués : une colonie à mâles avec 2 cadres de nourriture, 2 cadres de couvain naissant, 2 cadres de couvain

ouvert. Cette colonie devant être impérativement orpheline, nous nous sommes débarrassé de tous les nids à mâles. Au final nous avons-rehaussé le plancher d'une grille à reine ;



Figure III-8: cadre à mâle operculé.

- ✚ Huit jours plus tard, une fois que les cadres de couvain naissant ont donné le jour à leurs abeilles, ils ont été remplacés par un cadre de jeune couvain ouvert ;
- ✚ Huit autres jours, une fois que les cadres de couvain naissant ont donné naissance à leurs abeilles, ils ont été remplacés par un cadre de jeune couvain ouvert ; et la naissance des mâles a été vérifiée.

Pendant toute la durée de l'élevage, le nourrissage avec un sirop ou avec un mélange de 2/3 de miel et 1/3 d'eau a été pratiqué.

III.5.4.2 Deuxième technique

- ✚ Cinquante et un (51) jours avant le prélèvement du sperme, les cadres à mâles sont introduit dans le rucher expérimental. A j – 50, nous avons vérifié le début de ponte et siroter la colonie avec un sirop dilué afin de les stimuler ;
- ✚ Lorsque le couvain de mâles est operculé, nous avons procédé au transfert du cadre dans la colonie qui servira aux transports si besoin et à nourrir les mâles une fois éclos. Le but est d'avoir, juste au-dessus du plancher, une colonie dans une hausse ou corps avec une grille à reine et, au-dessus de la grille à reine, un corps avec le cadre à mâles, des cadres à couvain ouvert, des cadres à pollen et miel et un nourrisseur cadre. Nous avons mis huit (8) cadres dans le corps afin que les mâles puissent se promener (Figure III-9). Il est important de mettre des cadres de couvains ouverts afin qu'il y ait le maximum de nourrices pour prendre en charge les jeunes mâles éclos. Ceci a été réalisé la veille du transfert afin d'orpheliner les abeilles.

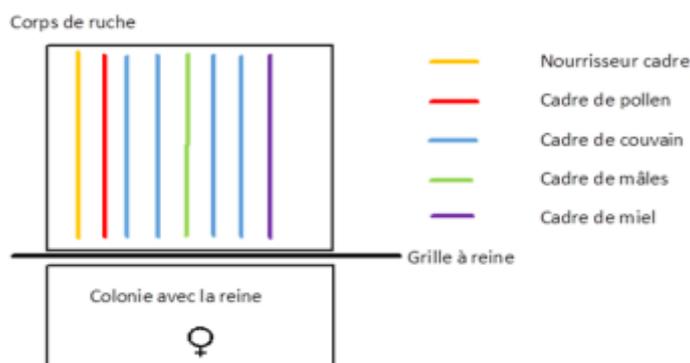


Figure III-9 : technique élevage faux bourdons.

III.5.5 Eversion de l'endophallus

Les mâles adultes ont été recueillis à partir de leurs colonies à l'âge requis pour l'examen. Le sperme a été collecté directement à partir de faux bourdons matures, 14,21 et 35 jours après l'émergence. Pour exposer le sperme, l'endophallus est facilement évasé à la main en deux étapes : l'éversion partielle et l'éversion totale selon les méthodes décrites par **Collins et Donoghue (1999)**. Une centaine (100) de mâles ont été capturés pour fournir un maximum de faux bourdons matures présentant de la semence à l'éversion manuelle (car tous ne produiront pas de sperme). Ils ont été capturés et placés dans une volière munie de quatre côtés grillagés et équipés d'une grille à reine sur le dessus. Les mâles ont tendance à voler vers la lumière et déféqués pendant le vol ce qui contribue à l'initiation de l'éjaculation du sperme. La chambre a été chauffée à trente degrés, car, en absence des ouvrières, les mâles s'engourdissent très vite en dessous de 25°C. Une lumière au-dessus de la boîte de vol fournit de la chaleur et prolongera leur activité.

Nous avons fait très attention aux conditions sanitaires, car les mâles défèquent souvent pendant la procédure et donc, nous avons évité que l'endophallus ne touche le corps du mâle ou les doigts. L'évaluation de la maturité des mâles et de la qualité du sperme a été déterminée instantanément. Tout mâle qui ne se déverse pas correctement ou ne présente pas suffisamment de sperme a été éliminé de l'étude. La collecte du sperme est fastidieuse, donc les techniques et la pratique appropriées augmenteront considérablement l'efficacité.

- ✚ Si le mâle est mature, l'abdomen se contractera et une paire de coronules jaune-orange émergera (Figure III-10).



Figure III-10: Éversion totale de l'endophallus d'un faux bourdon mature. A ce stade, l'abdomen se contractera et une paire de coronules jaune-orange apparaîtra.

- ✚ Si l'abdomen reste doux ou que le coronule manque de couleur, le mâle est immature et ne produira pas de sperme (Figure III-11). Il est donc forcément éliminé de l'étude



Figure III-11 : Eversion partielle de l'endophallus d'un faux bourdon immature. L'abdomen est doux et les coronules manquent de couleur.

L'éversion partielle sans spermatozoïdes a été obtenue pour un pourcentage significatif de faux bourdons

Pour obtenir une éversion complète, la base de l'abdomen est saisie avec le pouce et l'index et une pression le long des côtés de l'abdomen est appliquée. Le sperme exposé est de couleur crème et marbrée, avec une couche sous-jacente de mucus blanc (Figure III-12).



Figure III-12: Eversion de l'endophallus avec sperme exposée. Le sperme exposé est d'une couleur crème et marbrée, avec une couche sous-jacente de mucus blanc.

Notre travail à coïncider avec la production de petits faux bourdons issus de colonies bourdonneuses qui avaient exclusivement été élevés dans des cellules d'ouvrières. Une ouvrière pondreuse ainsi qu'une reine vierge ont commencés à poser des œufs mâles dans les cellules ouvrières dans trois ruches différentes (figures III-14 ,15).



Figure III-13 : faux bourdons issus d'une ouvrière pondreuse.



Figure III-14: faux bourdons issus d'une reine vierge.

III.5.6 Collection de sperme

Le sperme a été prélevé directement de l'endophallus du faux bourdon par lavage, des soins ont été pris pour éviter la collecte du mucus. Le sperme de chaque mâle a été stocké dans un eppendorf contenant 1.5 ml de solution NaCl 0.9% jusqu'à ce que la détermination de la concentration puisse être effectuée.

III.5.7 Nombre de spermatozoïdes

Le nombre de spermatozoïdes dans le sperme a été déterminé en plaçant 0.1 mL du sperme dans 0.9 mL de NaCl en mélangeant avec un vortex et en comptant le nombre de spermatozoïdes présents dans 10 grands carrés d'une cellule de malassez, longueur = 0,25 mm; largeur = 0,20 mm; profondeur = 0,20 mm à l'aide d'un microscope optique relié au système CASA. Le nombre de spermatozoïdes produits par chaque faux bourdon a été déterminé à partir de la formule (John W. Rhodes, 2011):

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

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.

III.6 RESULTATS ET DISCUSSION

III.6.1 Faux bourdon libérant du sperme à l'éversion

Parmi les 778 faux bourdons examinés, de mars à juin 2017, 34.45 % ont libéré des quantités mesurables de sperme à l'endophallus après éversion manuelle (Tableau III-1).

Tableau III-1: Nombre de faux bourdons à l'émergence et proportion de faux bourdons avec du sperme (quantité mesurable) après éversion manuelle à différents âges.

Saison 2017/2018 Date d'élevage	Nombre des faux bourdons élevés	Nombre de mâles libérant du sperme à l'endophallus / Nombre de mâles examinés (%)			Totaux
		Âge (jours)			
		14	20	35	
04 mars	535	13/50 (26.0)	18/92 (19.56)	45/155 (29.03)	76 / 297 (25.58)
17 mars	2000	11/40 (27.5)	25/42 (59.52)	1500 morts	36/82 (43.90)
24 mars	2000		2000 mâles morts		
01 mai	1500	20/85 (23.52)	52/77 (67.53)	15/76 (19.74)	87/238 (36.55)
02 juin	200	4/52 (7.69)	50/62 (80.64)	15/47 (31.91)	69/161 (42.85)
Total	6235	48/227 (21.14)	145/273 (53.11)	75/278 (26.98)	268/778 (34.45)

Le pourcentage des faux bourdons qui libèrent du sperme est assez variable selon l'âge, et la saison. Nos analyses statistiques ont montré que la libération de sperme à l'endophallus dépendait de leur âge ($p=0.029$) et, à moindre mesure, à la saison où ils ont été produits ($p=0.04$).

Par ailleurs des comparaisons multiples faites pour évaluer l'effet significatif de l'âge sur la libération de sperme à l'endophallus ont montré que les faux bourdons de 20 jours produisaient plus de sperme (53.11%) que ceux de 14 jours (21.14%) et 35 jours (26.98%). Cela concorde avec les résultats des travaux d'**Anderson (2004)** qui a également signalé que les faux bourdons âgés de plus de 20 jours produisaient plus de sperme à l'endophallus que les faux bourdons plus jeunes.

Une forte proportion de faux bourdons âgés de 14 à 35 jours n'a pas présenté de sperme à l'endophallus après l'éversion manuelle 78.86% et 73.02% respectivement. Des pourcentages élevés de faux bourdons *d'A. Mellifera* produisant ou non des petites quantités de sperme après l'éversion manuelle ont également été rapportés par **Collins et Pettis (2001)**. Des données limitées sont disponibles sur la proportion de faux bourdons libérant du sperme à l'endophallus après éversion manuelle et la production de sperme. **Anderson (2004)** a rapporté que plus de 95% des mâles à l'âge de 20 jours ne libéraient pas de sperme à l'endophallus après une éversion manuelle. **Woyke et al. (2001)** ont constaté une proportion élevée (84%) de mâles d'âge non précisé n'ayant pas émis du sperme à l'éversion. **Collins et Pettis (2001)** ont signalé que 40% des mâles de 12 jours produisaient du sperme après une éversion manuelle.

Les possibles causes de l'absence de sperme après éversion de l'organe génital du faux-bourdon sont multiples et pour la plupart non expliquées. Tout d'abord, il est possible que le processus de maturation du faux-bourdon ne soit pas complété, ce qui signifie que la migration des spermatozoïdes des testicules jusqu'aux vésicules séminales ne soit pas complétée par l'ensemble des faux-bourdons de 14 jours de vie. La technique d'éversion manuelle afin d'obtenir le sperme des faux-bourdons matures peut également être mise en cause. En effet, bien que cette technique permette d'obtenir rapidement et facilement le sperme, il semblerait qu'elle ne soit pas toujours efficace (**Rhodes et al ; 2008**).

✚ Quarante (40) faux bourdons qui n'ont pas produit de sperme à l'endophallus après l'éversion manuelle, ont eu leurs vésicules séminales disséquées et le nombre de spermatozoïdes présents comptés et enregistrés. Cette expérience a été développée pour fournir des données initiales sur la présence de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des faux bourdons matures qui ne libèrent pas le sperme après une éversion manuelle.

Pour les 40 faux bourdons examinés qui n'ont pas produit de sperme à l'endophallus après l'éversion manuelle :

✚ 40/40 (100%) avait des spermatozoïdes présents dans les vésicules séminales ;

✚ Le nombre de spermatozoïdes présents dans les vésicules séminales, avoisinait les 3,38 (intervalle de 0,6- 6,6) x 10⁶.

✚ Cela concorde avec les résultats des travaux de Latrech (2016) qui a également signalé un nombre de 3.31×10^6 présents dans les vésicules séminales.

III.6.1.1 Elimination des mâles

Il est important de noter que nous avons rencontré de grandes difficultés à éduquer les faux bourdons au début du printemps. Une semaine avant l'incident, nous avons remarqué un changement de caractère : les abeilles semblaient calmes et nous avons également remarqué sur le sol, à côté des ruches, certains faux bourdons rampant et affaibli. Apparemment, même si la production de faux bourdon est forcée par la mise d'une reine, les ouvrières n'émettent pas de mâles quand il y a une pénurie de ressources, en particulier le pollen, ce qui peut amener les ouvrières à cannibaliser les mâles. On a compté près de 2000 mâles tués (Figure III-15), cette période de massacre été concomitante avec un changement climatique et aussi l'expiration de la saison des oranges mais également le rapport des agricultures sur l'utilisation des pesticides. Ces trois facteurs pourraient expliquer ce phénomène.



Figure III-15 : le massacre des mâles.

III.6.2 Taux des faux bourdons issus soit d'ouvrière pondeuse soit de reine vierge libérant du sperme à l'éversion

Tableau III-2 : Nombre de faux bourdons pris à l'émergence et proportion de faux bourdons de l'ouvrière pondeuse et la reine vierge avec du sperme après éversion manuelle à différents âges.

Saison 2017/2018 Date d'élevage	Nombre des faux bourdons prélevés	Nombre de mâles libérant du sperme / Nombre de mâles examinés (%)		
		Âge (jours)		
		14	20	35
Ouvrière pondeuse Mars 2017	450	*	60/120 (50)	Mort
Ouvrière pondeuse Mars 2017	150	31/75 (41.33)	24/65 (36.92)	*
Reine vierge Mai 2017	100		20/45 (44.44)	

La présence d'une ruche bourdonneuse et une ruche contenant une reine vierge nous a conduit à fournir des données initiales sur la présence de spermatozoïdes chez cette catégorie (Tableau III-2). Les analyses statistiques ont montré que il n'y a pas de différence significative entre les faux bourdons des deux catégories cités précédemment concernant la production de sperme à l'endophallus ($p= 0.024$).

On a pu conclure que y'a une concordance avec les faux bourdons normaux comme l'a indiqué **Joel Mazan (1994)**, que les mâles de ruche bourdonneuse nés en petites cellules ont des organes génitaux normalement développés et que leurs spermatophores renferment des spermatozoïdes identiques à ceux des faux bourdons normaux même si physiquement ils n'ont ni la même taille ni la même puissance de vol.

III.6.3 Nombre de spermatozoïdes

Tableau III-3: Les nombres de spermatozoïdes libérés par trois types de faux bourdons par ruche en fonction de l'âge.

	J14	J21	J35	total	P- value
Faux bourdons (reine normale)	Ruche 01	0,83	6,42	6,96	J14, J20 =<0.001
	Ruche 02	1,29	5,54	*	J14, J35=<0.001
	Ruche 03	2,17	5,07	7,77	J20, J35=0.02
	Ruche 04	1,65	7,55	9,4	
Total × 10 ⁶	1.48± 1.24	6.14± 3.16	8.04± 4.17		
Faux bourdon (reine vierge)	*	5.04	*	5.04±2.84	0.05
Faux bourdons (ouvrière pondreuse)	3.78	6.87	*	5.32±3.41	<0.001

Le nombre moyen de spermatozoïdes produits par faux bourdon était de $5.75 \times 10^6 \pm 3.83$, ce nombre variait de 0 à 18.4×10^6 (Tableau III-3). Un effet d'âge a été identifié, avec les faux bourdons de 35 jours ($8.04 \times 10^6 \pm 4.17$) produisant plus de spermatozoïdes que ceux de 14 jours ($1.48 \times 10^6 \pm 1.24$) et 21 jours ($6.14 \times 10^6 \pm 3.16$), Figure III-16. L'analyse statistique descriptive a montré que l'âge a un effet hautement significatif ($p < 0.001$) sur le nombre de spermatozoïdes entre J14, J20 et J14, J35, ainsi qu'un effet significatif entre J20, J35 ($p = 0.02$).

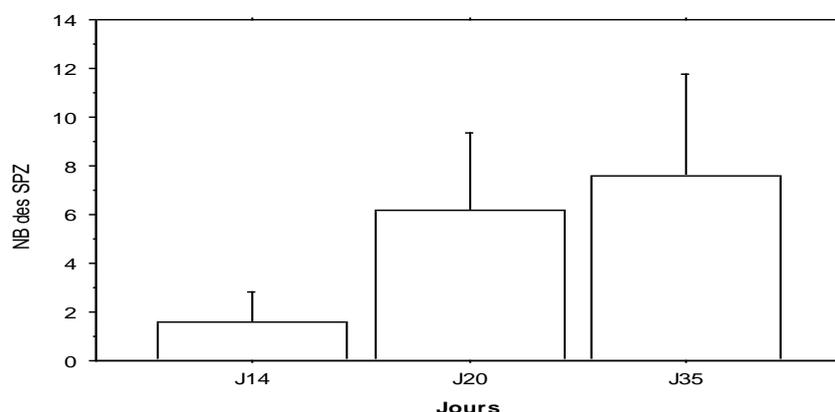


Figure III-16 : Nombres de spermatozoïdes libérés par les faux bourdons issus de la reine normale en fonction de l'âge (J14, J21, J35).

Comme indiqué précédemment dans plusieurs études, le nombre de spermatozoïdes chez les faux bourdons sexuellement matures est très variable (Gençer et Kahya 2011; Koeniger et al ; 2005). Nos résultats étaient à l'extrémité inférieure des nombres de spermatozoïdes

déclarés dans les études de **Schlüns et al. (2003)** de $11,9 (\pm 1,0) \times 10^6$, **Woyke (1960; cité dans Koeniger et al ; 2005)** de $11-12 \times 10^6$, **Rinderer et al. (1985)** de $11,4 \times 10^6$ **Collins Et Pettis (2001)** de $8,66 \times 10^6$, et qui se rapprochaient de ceux de **Berg and Koeniger (1990)** de 6.76×10^6 , **Köhler (1955; Cité dans Ruttner, 1956)** de $4,5 \times 10^6$. Nos résultats étaient en concordance avec ceux cités par **Rinderer et al. (1985)** et qui étaient de $5,7 \times 10^6$.

La variation du nombre de spermatozoïdes peut être due à la méthode de comptage utilisée. Dans notre étude, les spermatozoïdes ont été comptés dans le sperme libéré à la pointe de l'endophallus suite à une éversion manuelle, alors que dans d'autres études, les spermatozoïdes ont été déterminés dans les vésicules séminales. **Collins et Pettis (2001)** considèrent que la grande variation trouvée a été influencée par le sperme étant visqueux et collant avec des spermatozoïdes qui tendent à se grouper après dilution, ce qui provoque une erreur de mesure considérable à ce stade. **Koeniger et al. (2005)** a déclaré qu'en général, le nombre de spermatozoïdes présente une variance élevée et suggéré que cela pourrait être dû à des erreurs dans la méthode utilisée. Ils ont conclu qu'il était prématuré de tirer des conclusions générales sur les différences du nombre de spermatozoïdes et que les raisons de ces variations doivent être comprises.

L'étude entreprise à démontrer la présence de spermatozoïdes chez les faux bourdons issues d'ouvrière pondreuse ainsi que de la reine vierge (Figure III-17) comme l'a démontré **Schlüns et al (2003)**, en étudiant la reine vierge. Avec un nombre de spermatozoïdes similaire à celui des faux bourdons normaux ($5.04 \times 10^6 \pm 2.84$ et $5.32 \times 10^6 \pm 3.41$ pour la reine vierge et l'ouvrière pondreuse respectivement), l'étude statistique a montré un effet hautement significatif de l'âge sur le nombre de SPZ chez l'ouvrière pondreuse ($p < 0.001$) et un effet significatif pour la reine vierge ($p = 0.05$).

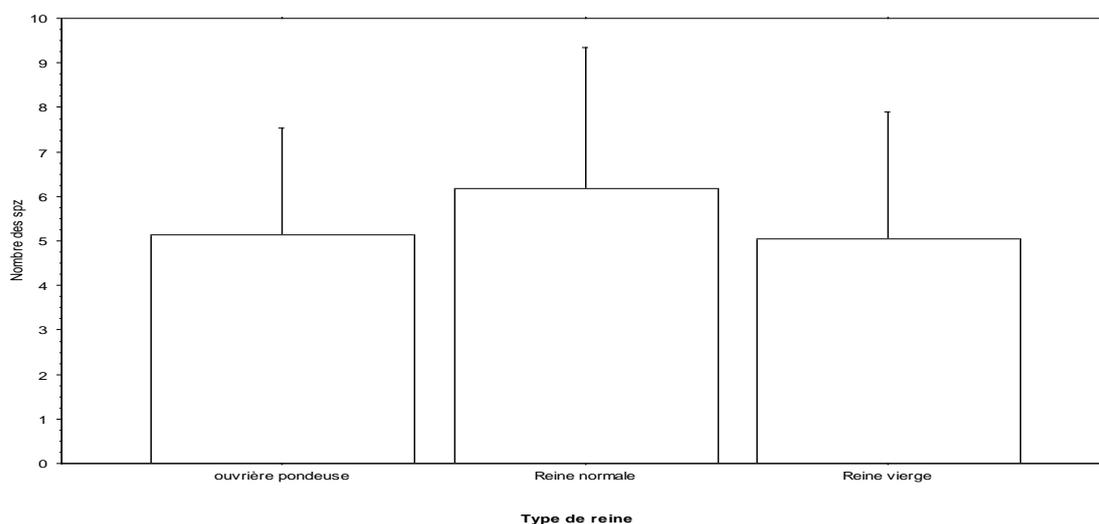


Figure III-17: Nombres de spermatozoïdes libérés par les trois types de faux bourdons en fonction de l'âge.

III.6.4 Effet saison sur le nombre de spermatozoïdes

Tableau III-4 : Les nombres de spermatozoïdes libérés par trois types de faux bourdons par ruche en fonction de la saison.

	Faux bourdons (reine normale)	Faux bourdon (reine vierge)	Faux bourdons (ouvrière ponduse)
Mars 2017	5.28±3.9	*	4.43±1.93
Mai 2017	4.87±3.12	*	6.87±2.54
Juin 2017	7.61±3.97	5.04±2.84	*
Total (× 10⁶)	5.75±3.83	5.04±2.84	5.13±2.83
Mars-mai	0.43	*	<0.001
Mars-juin	<0.001	*	*
Mai-juin	<0.001	*	*

Durant la saison de production, les faux bourdons élevés en juin ($7.61 \times 10^6 \pm 3.97$) produisaient beaucoup plus de spermatozoïdes que ceux de mai ($4.87 \times 10^6 \pm 3.12$) et mars ($5.28 \times 10^6 \pm 3.9$). D'après les résultats du tableau III-4 il n'y avait aucune différence significative entre mai et mars ($p = 0,43$) sur la moyenne du nombre de spermatozoïdes. Par contre la moyenne au mois de juin a été hautement significative par rapport au mois de mars et mai ($p < 0.001$). Selon **John W. Rhodes 2011** la saison est considéré comme étant un facteur influençant la qualité du sperme, **Martinez-Pastor et al. (2005)** a étudié l'influence de la saison sur la production de sperme et il a pu démontrer que la qualité était un facteur d'impact élevé.

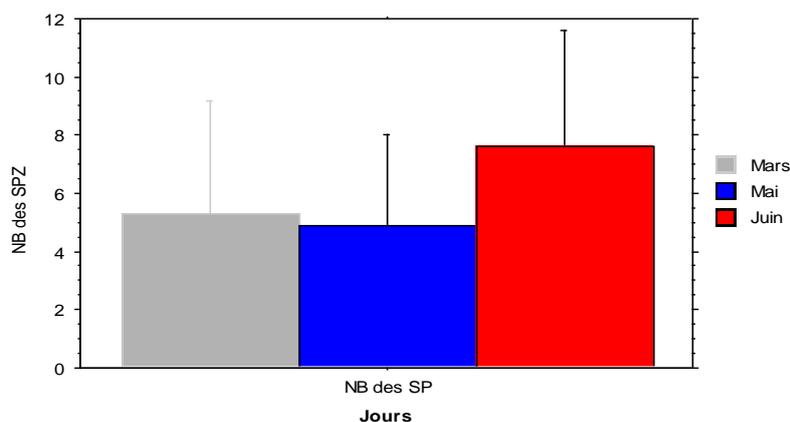


Figure III-18 : Les nombres de spermatozoïdes libérés les faux bourdons normaux en fonction de la saison.

III.6.5 Effet poids sur le nombre de spermatozoïdes

D'après les résultats du Tableau III-5 nous avons trouvé une corrélation linéaire positive significative ($r = 0.33$, $p = 0.003$) pour l'ouvrière pondreuse, et une corrélation non significative entre les spermatozoïdes issues de la reine normale ($r = 0.34$, $p = 0.68$) et ceux de la reine vierge ($r = 0.79$, $p = 0.74$). Les figure (III-19, 20,21) représentent la corrélation du nombre de spermatozoïdes en fonction du poids chez faux bourdons issus des trois catégories.

Tableau III-5 : Les nombres de spermatozoïdes libérés par les faux bourdons issus des trois catégories en fonction du poids.

poids	Corrélation	Valeur P
Faux bourdons (reine normale)	0.34	0.68
Ruche (FB ouvrière pondreuse)	0.33	0.003
Ruche (FB reine vierge)	0.79	0.74

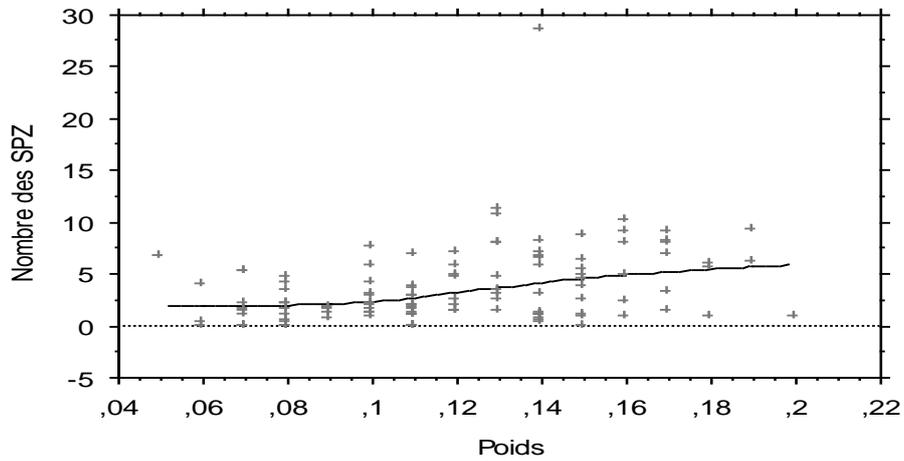


Figure III-19 : corrélation du nombre de spermatozoïdes en fonction du poids chez les faux bourdons issus l'ouvrière pondreuse(r)

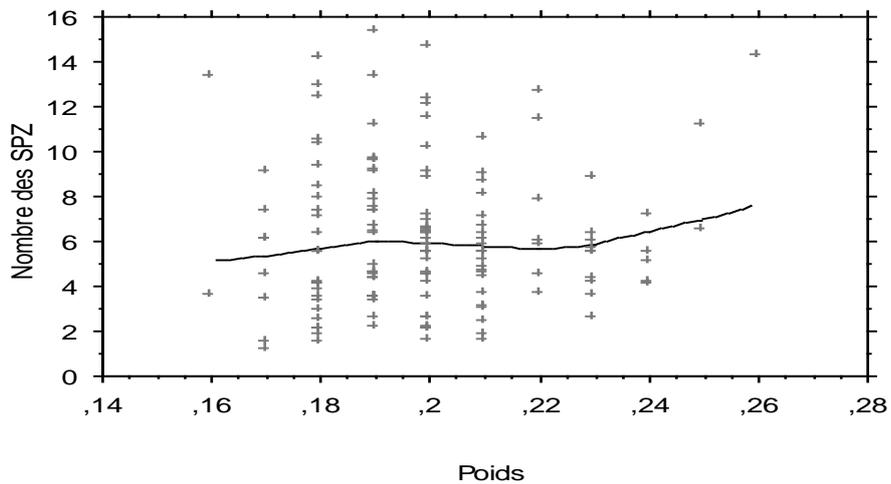


Figure III-20 : Corrélation du nombre de spermatozoïdes en fonction du poids chez les faux bourdons issus d'une reine normale.

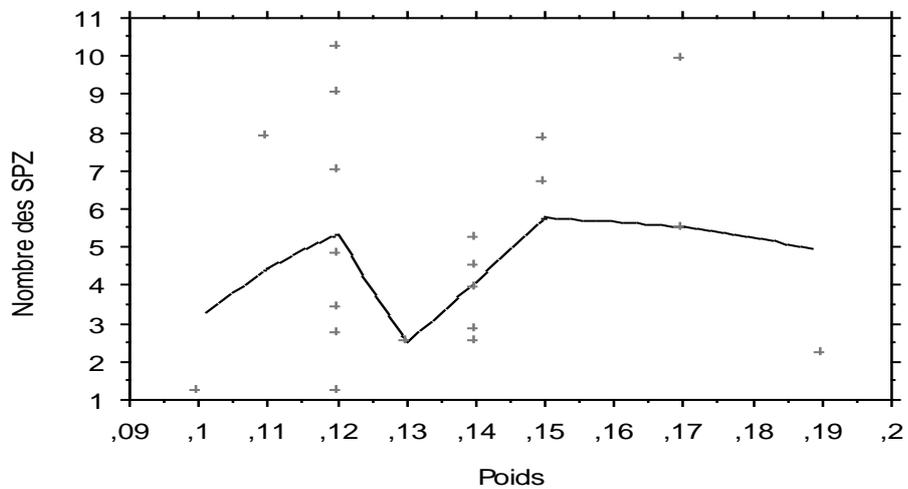


Figure III-21 : Corrélation du nombre de spermatozoïdes en fonction du poids chez les faux bourdons issus d'une reine vierge.

Nous avons constaté que le nombre de spermatozoïdes chez le faux bourdon augmentaient avec le poids comme cité par **Schlüns et al ; (2003)**. **Berg et al. (1997)** ont montré que les mâles de petite taille élevés dans des cellules d'ouvrières ont un désavantage reproductif lorsqu'ils sont en compétition avec des mâles de plus grande taille. **Berg et al. (1990, 1997)**, **Jarolimek et Otis (2001)** ont trouvé une corrélation significative entre la taille des mâles et le nombre de spermatozoïdes.

Nos résultats ont montré une corrélation positive significative de la taille du corps et du nombre de spermatozoïdes chez l'ouvrière pondreuse à ce a qui été signalées par **Jarolimek et Otis (2001)**. Les deux études corroborent l'importance potentielle de la production différente de sperme chez les petits et grands faux bourdons. La corrélation positive significative de la taille du corps et du nombre de sperme est également soutenue par le fait que les abeilles africanisées en Amérique du Sud ont des poids corporels nettement inférieurs et, en même temps, des spermatozoïdes plus faibles que les faux bourdons européens (**Rinderer et al ; 1985**).

CONCLUSION
GÉNÉRALE

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Ce présent travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de master au niveau du laboratoire des biotechnologies liées à la reproduction, accompli dans le but d'évaluer les qualités reproductives du faux-bourdon, d'identifier le nombre moyen de spermatozoïdes produits par individu, ainsi que d'étudier les facteurs influençant la qualité du sperme.

On a débuté ce mémoire avec une revue bibliographique englobant les notions de base sur l'abeille domestique *Apis Mellifera*, on se basant sur les mâles abeilles, leur reproduction ainsi que leur qualité spermatique.

La deuxième partie de notre travail qui est l'étude expérimentale, nous a permis de mettre en évidence l'importance des études sur la qualité du sperme du faux bourdon dans l'apiculture et son effet sur le succès d'accouplement des abeilles reines. Un nombre suffisant de faux bourdons d'âge mûr, chacun produisant un grand volume de sperme contenant un nombre élevé de spermatozoïdes, doivent être présents dans les abîmes d'accouplement de la reine pour aboutir à des reines avec un nombre maximal de spermatozoïdes présents dans leur spermathèques.

Ce travail fournit d'importantes informations aux personnes intéressées par l'élevage des faux-bourdons, afin d'optimiser la fécondation des reines abeilles produites et en fournissant des données relatives au nombre de spermatozoïdes produites par les faux bourdons considéré comme un critère de choix dans la sélection.

Trente-quatre % quarante-cinq (34.45 %) des faux bourdons examinés ont libéré des quantités mesurables de sperme à l'endophallus après éversion manuelle. Nous avons identifié l'âge et la saison comme étant des facteurs influençant ; 65.55% âgés de 14 à 35 jours n'ont pas émis de sperme après une éversion manuelle. Les vésicules séminales de ses derniers ont été trouvées contenant du sperme. Ces données soulèvent la question de savoir si les mâles d'âge mûr qui ne libèrent pas de sperme après l'éversion manuelle et qui contiennent du sperme dans leurs vésicules séminales peuvent s'accoupler avec des abeilles reine dans une situation naturelle d'accouplement.

Ce projet a également permis d'identifier l'âge du faux-bourdon comme facteurs affectant le nombre de spermatozoïdes. Ce nombre (moyenne 5.75×10^6) se situe dans la moyenne par rapport à la majorité des données publiées. Nous avons constaté qu'avec l'augmentation de

l'âge des faux-bourçons, le nombre de SPZ augmenterait. Les mâles élevés en juin ont produit un nombre de SPZ plus élevés que ceux de mai et de mars, indiquant une variation des dates d'élevage sur concentration de sperme. Nous avons constaté que le nombre de spermatozoïdes chez le faux bourdon augmentait avec le poids.

Notre projet nous a permis de faire une étude préliminaire sur les ruches bourdonneuse ainsi que la reine vierge ou nous avons trouvé une concordance avec les résultats des faux bourçons issus d'une ruche normale

Comme perspectives, nous proposons les points suivants :

- ✚ vérifier la libération de sperme à l'endophallus après l'éversion manuelle, le volume de sperme, le nombre de spermatozoïdes produits par faux bourdon, la viabilité du sperme et la motilité du spermatozoïde ;
- ✚ Sélectionner les facteurs susceptibles d'améliorer les programmes d'élevage.
- ✚ Déterminer les niveaux minimaux acceptables pour le volume de sperme, le nombre de spermatozoïdes, la viabilité des spermatozoïdes et la motilité des spermatozoïdes pour la sélection des reines ;
- ✚ Bien qu'aucun âge spécifique pour la maturation du faux bourdon n'ait été identifié dans cette étude, d'autres recherches sont nécessaires pour fournir des données pour les programmes de gestion de l'élevage de faux bourçons ;
- ✚ Etudier l'origine génétique du faux-bourdon sur sa production de sperme ;
- ✚ Déterminer si la supplémentation alimentaire tout au long de la saison apicole des colonies élèveuses de faux-bourçons permettrait de maximiser la production et la qualité du sperme ;
- ✚ Evaluer les deux techniques avec un nombre plus important de faux bourdon et étalé sur plusieurs saisons ;
- ✚ Etudier la physiologie de l'entreposage des spermatozoïdes et la capacité de migration des spermatozoïdes jusqu'à la spermathèque de la reine ;
- ✚ Etudier le mystère de la survie pendant des années dans le spermathèque de la reine fécondée.

Bibliographie

BIBLIOGRAPHIE

- Adam G (2010a). La biologie de l'abeille. COURS École d'apiculture Sud-Luxembourg. 26 p. En ligne : <http://ekldata.com/QPHGzNqBPBpKwpdho6j-krOSMLc.pdf>.
- Adam G (2010b). Les individus de la colonie. COURS École d'apiculture Sud-Luxembourg. 13p. En ligne : <http://ekldata.com/9Wubb5sFWWbMHThanuRwjXODT44.pdf>.
- Alphandery R., 2002 - La route du miel: le grand livre des abeilles et de l'apiculture. Ed. Nathan, Paris, 260 p.
- Andere, C. I., C. Monteavaro, M. A. Palacio, M. Catena, E. M. Rodriguez et A. M. Collins (2011). *Apis mellifera* semen: bacterial contamination and susceptibility to antibiotics. *Apidologie* 42(5): 551-559.
- Andere, I., Cecilia, C. Monteavaro, M. Alejandra Palacio, E. Mario Rodriguez, C. Andere, M. Palacio, M. Catena, E. Rodríguez, and A. Collins. 2011. *Apis mellifera* semen: bacterial contamination and susceptibility to antibiotics. *Apidologie* 42: 551-559.
- Andersen, D. (2004). Improving queen bee production. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Publication No CSE-85A.
- Baer, B., R. Zareie, E. Paynter, V. Poland, and A. H. Millar. 2012. Seminal fluid proteins differ in abundance between genetic lineages of honeybees. *Journal of proteomics* 75: 5646-5653.
- Barour C., 2012- Analyse de la biodiversité des populations d'abeilles mellifères *Apis mellifera intermissa* (Buttel-Reepen, 1906) (Hymenoptera: Apidae) dans le nord Algérien: Morphométrie moderne basée sur la configuration des points repères (Landmarks). Thèse de doctorat. Univ. d'Annaba, 289p.
- Baudry, E., M. Solignac, L. Garnery, M. Gries, J. M. Cornuet, and N. Koeniger. 1998. Relatedness among honeybees (*Apis mellifera*) of a drone congregation. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 265: 2009-2014.

- Beekman M, calis JNM, oldroyd BP ET ratnieks FLW (2002). When do honey bee guards reject their former nestmates after swarming? *Insectes sociaux*. Vol. 49, n° 1, pp. 56–61.
- Belaid M., 2011-Effet du parasitisme par *Varroa destructor* sur les paramètres morphométriques et physiologiques de l'abeille ouvrière, *Apis mellifera* L, dans la région médio-septentrionale d'Algérie. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. INA El Harrache, 190p.
- Berg S., Koeniger N. (1990) larger drones (*Apis mellifera*) have more offspring, in: Proc. German Zoological Society, 83rd Meeting, Frankfurt am Main, Gustav Fischer Verlag, p. 614.
- Berg S., Koeniger N., Koeniger G., Fuchs S. (1997) Body size and reproductive success of drones (*Apis mellifera* L.), *Apidologie* 28, 449–460.
- Berkani M.L., Ghalem Z. et Benyoucef M. T., 2005- Contribution à l'étude de l'homogénéité de la race locale "Apis mellifera intermissa" dans les différentes régions du nord de l'Algérie. *Annales de l'Institut National Agronomique Alger*.vol. 26, 2005. - p. 15-32.
- Blum, M., Z. Glowska, and S. Taber. 1962. III. Chemistry of the drone honey bee reproductive system. II. Carbohydrates in the reproductive organs and semen. *Annals of the Entomological Society of America* 55: 135-139.
- Boes, K. E. (2010). Honeybee colony drone production and maintenance in accordance with environmental factors: an interplay of queen and worker decisions. *Insectes Sociaux* 57(1): 1-9.
- Bonnaffé P., Clément H., Domerego R., Fert G., Le Conte Y., Ratia G., Reeb C., Vaissière B. *Le traité Rustica de l'apiculture*. Rustica éditions, Paris, 12-83.
- Boucher, C., F. Desjardins, P. Giovenazzo, J. Marceau, A. Pettigrew, H. Tremblay et N. Tremblay (2011). *Gestion optimale du rucher*, 2e édition. Québec: Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec.
- Cardinaux M, 1995 : les hommes et l'abeille. Publiée par l'Age d'homme. p 192- 194.

- Chauvin R., 1968 - Traité de biologie de l'abeille. Ed. Masson et cie, Paris, 372 p.
- Chorbiński. 2013. The Influence of Honey Bee (*Apis Mellifera*) Drone Age on Volume of Semen and Viability of Spermatozoa. *Journal of Apicultural Science* 57: 61-66.
- Clément H., (2009) Créer son rucher. Edition rustica (111P).
- Clement H., 2009- l'abeille sentinelle de l'environnement. Editions Alternatives, Paris. 120p.
- Cobey, S. W. (2007). Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance. *Apidologie* 38(4): 390-410.
- Cobey, S., D. Tarpy, and J. Woyke. 2013. Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research* 52: 1-18.
- Collins, A. M. (2004). Sources of variation in the viability of honey bee, *Apis mellifera* L., semen collected for artificial insemination. *Invertebrate Reproduction and Development* 45(3): 231-237.
- Collins, A. M. 2000a. Relationship between semen quality and performance of instrumentally inseminated honey bee queens. *Apidologie* 31: 421-429.
- Collins, A. M. 2000b. Survival of honey bee (Hymenoptera: Apidae) spermatozoa stored at above-freezing temperatures. *J Econ Entomol* 93: 568-571.
- Collins, A. M. et A. M. Donoghue (1999). Viability assessment of honey bee, *Apis mellifera* sperm using dual fluorescent staining. *Theriogenology* 51(8): 1513-1523.
- Collins, A. M. et Pettis, J. S. (2001). Effect of varroa infestation on semen quality. *American Bee Journal*, 141(8): 590-593.
- Collins, A. M. et Pettis, J. S. (2001). Effect of varroa infestation on semen quality. *American Bee Journal*, 141(8): 590-593.

- Collins, A. M., V. Williams, and J. D. Evans. 2004. Sperm storage and antioxidative enzyme expression in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Mol Biol* 13: 141-146.
- Cook JM (1993). Sex determination in the Hymenoptera: a review of models and evidence. *Heredity*. octobre 1993. Vol. 71, n° 4, pp. 421-435
- Crozier RH et Pamilo P (1997). Evolution of social insect colonies. *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 90, no 6, p. 861-862.
- Den Boer, S. P. A., B. Baer, and J. J. Boomsma. 2010. Seminal Fluid Mediates Ejaculate Competition in Social Insects. *Science* 327: 1506-1509.
- Den Boer, S. P. A., J. Boomsma, and B. Baer. 2008. Seminal fluid enhances sperm viability in the leafcutter ant *Atta colombica*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62: 1843-1849.
- EL-Kazafy A. Taha and Saad Naser Al-Kahtani, 2013. Relationship between Population Size and Productivity of Honey Bee Colonies. *Journal of Entomology*, 10: 163-169.
- Esslen, J. and Kaissling, K. E. (1976). Zahl und Verteilung antennaler Sensillen bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L.). *Zoomorphologie* 83, 227–251.
- Estoup, A., L. Garnery, M. Solignac et J. M. Cornuet (1995). Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics* 140(2): 679-695.
- Franck, P., M. Solignac, D. Vautrin, J. M. Cornuet, G. Koeniger, and N. Koeniger. 2002. Sperm competition and last-male precedence in the honeybee. *Animal Behaviour* 64: 503-509.
- Fries I., Camazine S. (2001) Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology, *Apidologie* 32, 199– 214.
- Gary, N. E. (2008) « Chapter 8: Activities and Behavior of Honey Bees ». In *The hive and the honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant and Sons.

- Gary, N. E. 1963. Observation of mating behavior in the honeybee. *J. Apic.* 2: 3-18.
- Taber, S. 1954. The frequency of multiple mating of honey bees. *J Econ Entomol* 47: 995-998.
- Gençer, H. V. et Y. Kahya (2011). Are sperm traits of drones (*Apis mellifera* L.) from laying worker colonies noteworthy? *Journal of Apicultural Research* 50(2): 130-137.
- Gençer, H. V. et Y. Kahya (2011). Are sperm traits of drones (*Apis mellifera* L.) from laying worker colonies noteworthy? *Journal of Apicultural Research* 50(2): 130-137.
- Gencer, H. V., Y. Kahya, and H. V. Gençer. 2011. The viability of sperm in lateral oviducts and spermathecae of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee (*Apis mellifera* L.) queens. *Journal of Apicultural Research* 50: 190-194.
- Gorshkov, V., W. Blenau, G. Koeniger, A. Roempp, A. Vilcinskas, A. Römpp, B. Spengler, and J. Nieh. 2015. Protein and Peptide Composition of Male Accessory Glands of *Apis mellifera* Drones Investigated by Mass Spectrometry. *PLoS One* 10: e0125068.
- Goût J., (2008) 250 réponses aux questions d'un ami des abeilles. Édition Gerfaut (185P).
- Grozinger CM, Richards J et Mattila HR (2014). From molecules to societies: mechanisms regulating swarming behavior in honey bees (*Apis* spp.). *Apidologie*. Vol. 45, n° 3, pp. 327–346.
- Haccour A., 1961 - Recherches sur l'abeille saharienne au Maroc. Communication à la Société des Sciences naturelles et physiques du Maroc. *Belg. Apic.*25 (2) : 13 - 18.
- Harbo, and J. L. Williams. 1987. Effect of above-freezing temperatures on temporary-storage of honeybee spermatozoa. *Journal of Apicultural Research* 26: 53-55.
- Harbo, J. R. (1979). Rate of depletion of spermatozoa in the queen honeybee spermatheca. *Journal of Apicultural Research* 18(3): 204-207.
- Harbo, J. R. 1990. Artificial mixing of spermatozoa from honeybees and evidence for sperm competition. *Journal of Apicultural Research* 29: 151-158.

- Harshman, L. G., and T. Prout. 1994. Sperm displacement without sperm transfer in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 48: 758-766.
- Hopkins, B. K., and C. Herr. 2010. Factors affecting the successful cryopreservation of honey bee (*Apis mellifera*) spermatozoa. *Apidologie* 41: 548-556.
- Hunter, F. M., and T. R. Birkhead. 2002. Sperm viability and sperm competition in insects. *Current Biology* 12: 121-123.
- Jaffe, R., and R. F. Moritz. 2010. Mating flights select for symmetry in honeybee drones (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften* 97: 337-343.
- Jarolimek J.P., Otis G.W. (2001) a comparison of fitness components in large and small honeybee drones, *Am. Bee J.* 12, 891–892.
- Kaftanoglu, O. et Y. S. Peng (1984). Preservation of honeybeespermatozoa in liquid nitrogen. *Journal of Apicultural Research* 23: 157-163.
- Kaftanoglu, O., and Y. S. Peng. 1982. Effects of insemination on the initiation of oviposition in the queen honeybee. *Journal of Apicultural Research* 21: 3-6.
- Kamakura, M. (2011). Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Genes and Genetic Systems* 86(6): 384-384.
- Klenk, M., G. Koeniger, N. Koeniger et H. Fasold (2004). Proteins in spermathecal gland secretion and spermathecal fluid and the properties of a 29 kDa protein in queens of *Apis mellifera*. *Apidologie* 35(4): 371-381.
- Koeniger, G. 1986. Mating sign and multiple mating in the honeybee. *Bee World* 67: 141-150.
- Koeniger, G. 1990. The role of the mating sign in honey bees, *Apis mellifera*, does it hinder or promote multiple mating. *Animal Behaviour* 39: 444-449.
- Koeniger, G., N. Koeniger, E. Jamie, and C. Lawrence. 2014. *Mating biology of honey bees (Apis mellifera)*, Wicwas Press, United States.

- Koeniger, G., N. Koeniger, S. Tingek, and M. Phiancharoen. 2005a. Variance in spermatozoa number among *Apis dorsata* drones and among *Apis mellifera* drones. *Apidologie* 36: 279-284.
- Koeniger, N. 1991. An evolutionary approach to mating behaviour and drone copulatory organs in *Apis*. *Apidologie* 22: 581-590.
- Koeniger, N. et G. Koeniger (2000). Reproductive isolation among species of the genus *Apis*. *Apidologie* 31(2): 313-339.
- Krieger MJB, Ross KG, Chanf CWY et Keller L (1999). Frequency and origin of triploidy in the fire ant *Solenopsis invicta*. *Heredity*. Vol. 82, n° 2, pp. 142–150.
- Laidlaw Jr., H. H. (2008). « Chapter 23 : Production of queens and package bees ». In *The hive and the honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant and Sons.
- Le conte Y. (2003). Mieux connaitre l'abeille. La vie sociale de la colonie. In: Bruneau E., Barbançon J.-M.
- Le conte Y. (2009). Honey bee colonies that survived *Varroa destructor*. *Apidologie*. 38: 566-572.
- Le conte Y. 2008 – Phéromones et régulations sociales chez les insectes. *Biofutur*, N°286, 37-40.
- Lensky, Y. et H. Schindler (1967). Motility and reversible inactivation of honeybee spermatozoa in vivo and in vitro. *Annales de l'Abeille* 10(1): 5-16.
- Lensky, Y., E. Bendavid, and H. Schindler. 1979. Ultrastructure of the spermatozoa of the mature drone honeybee. *Journal of Apicultural Research* 18: 264-271.
- Lino-Neto, J., S. N. Bao, and H. Dolder. 2000. Sperm ultrastructure of the honey bee (*Apis mellifera* L) (Hymenoptera, Apidae) with emphasis on the nucleusflagellum transition region. *Tissue Cell* 32: 322-327.
- Locke, S. J., and Y. S. Peng. 1993. The effects of drone age, semen storage and contamination on semen quality in the honey bee (*Apis mellifera*). *Physiological Entomology* 18: 144-148.

- Locke, S., Y.-S. Peng, and N. Cross. 1990. A supravital staining technique for honey bee spermatozoa. *Physiological Entomology* 15: 187-192.
- Lodesani, M., Balduzzi, D. et A. Galli (2004). Functional characterisation of semen in honeybee queen (*Am ligustica* S.) spermatheca and efficiency of the diluted semen technique in instrumental insemination. *Italian Journal of Animal Science* 3: 385-392.
- Loper, G. M., W. W. Wolf, and O. R. Taylor. 1987. Detection and monitoring of honeybee drone congregation areas by radar. *Apidologie* 18: 163-172.
- Loper, G. M., Wolf, W. W. and Taylor, O. R. (1993). Radar detection of drones responding to honeybee queen pheromone. *J. Chem. Ecol.* 19, 1929–1938.
- Mackensen, O. 1955. Experiments in the technique of artificial insemination of queen bees. *J Econ Entomol* 48: 418-421.
- Mackensen, O. et K. W. Tucker (1970). Instrumental insemination of queen bees (No. 390). *US Agricultural Research Service*: 28 p.
- Martinez-Pastor, F., Guerra, C., Kaabi, M., Garcia-Macias, V., de Paz, P., Alvarez, M., Herraiez, P. and Anel, L. 2005 Season effect on genitalia and epididymal sperm from Iberian red deer, roe deer and Cantabrian chamois, *Theriogenology*, 63 (7), 1857-1875.
- Meusel, M. S. et Moritz, R. F. (1993). Transfer of paternal mitochondrial DNA during fertilization of honeybee (*Apis mellifera* L.) eggs. *Current genetics* 24(6): 539-543.
- Moore PA, wilson ME et skinner JA (2015). Honey Bee Queens: Evaluating the Most Important Colony Member.
- Moritz, R. F. A. 1984. The effect of different diluents on insemination success in the honeybee using mixed semen. *Journal of Apicultural Research* 23: 164-167.
- Morrow, E. H., and M. J. G. Gage. 2000. The evolution of sperm length in moths. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 267: 307-313.
- Nicollet B (2014). Développer et maintenir des ruchers en apiculture naturelle. Héricy : Puits Fleuri. ISBN 978-2-86739-508-

- Nijhout, H. F. (2003). The control of body size in insects. *Developmental Biology*, 261(1): 1-9.
- Nur, Z., S. Seven-Cakmak, B. Ustuner, I. Cakmak, M. Erturk, C. I. Abramson, H. Sagirkaya et M. K. Soylu (2012). The use of the hypo-osmotic swelling test, water test, and supravital staining in the evaluation of drone sperm. *Apidologie* 43(1): 31-38.
- Page, R. E. et H. H. Laidlaw (2008) « Chapter 7: Honey Bee Genetics and Breeding ». In *The hive and the honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant and Sons.
- Page, R. E. J., and C. Y. Peng. 2001. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Exp Gerontol* 36: 695-711.
- Palmer, K. A., and B. P. Oldroyd. 2000. Evolution of multiple mating in the genus *Apis*. *Apidologie* 31: 235-248.
- Parker, G. A., and T. Pizzari. 2010. Sperm competition and ejaculate economics. *Biological Reviews* 85: 897-934.
- Peng, C. Y. S., C. M. Yin, and L. R. S. Yin. 1993. Ultrastructure of honey bee, *Apis mellifera*, sperm with special emphasis on the acrosomal complex following high-pressure freezing fixation. *Physiological Entomology* 18: 93-101.
- Phiancharoen, M., S. Wongsiri, N. Koeniger et G. Koeniger (2004). Instrumental insemination of *Apis mellifera* queens with hetero- and conspecific spermatozoa results in different sperm survival. *Apidologie* 35(5): 503-511.
- Poole, H. 1969. A method of in vitro storage of honey bee semen. *American Bee Journal* 109: 420-421.
- Poole, H. K., and S. Taber. 1970. In vitro preservation of honey bee Hymenoptera Apidae semen enhanced by storage at 13-15 degrees C. *Annals of the Entomological Society of America* 63: 1673-&.
- Prost J. P. et Le conte Y., (2005) *Apiculture connaître l'abeille conduire le rucher*. Éditions Lavoisier (689P).
- Ravazzi G., (2003) *Abeilles et apiculture*. Édition de Vecchi (156P).

- Ravazzi, G., 2003 - Abeilles et apiculteurs. Ed. De Vecchi, Paris, 155 p.
- Rembold. (1980). Evidence of growth disruption in insects without feeding inhibition by neem seed fractions. *Z. Pflkrankh Pflschutz.*, 87:290-297.
- Rhodes, J. W. (2008). Semen Production in Drone Honeybees. R. I. R. D. Corporation, Australian Government. RIRDC Publication No 08/130: 80 p.
- Rhodes, J. W., S. Harden, R. Spooner-Hart, D. L. Anderson et G. Wheen (2010). Effects of age, season and genetics on semen and sperm production in *Apis mellifera* drones. *Apidologie* 42(1): 29-38.
- Rinderer, T. E., Hellmich, R. L., Danka, R. G. et A. M. Collins (1985). Male reproductive parasitism: a factor in the Africanization of European honey-bee populations. *Science* 228(4703): 1119-1121.
- Rinderer, T.E., Collins, A.M. and Pesante, D. 1985 A comparison of Africanized and European drones: weights, mucus gland and seminal vesicle weights, and counts of spermatozoa, *Apidologie*, 16 (4), 407-412.
- Rothschild, L. 1955. The spermatozoa of the honey bee. *Trans Roy Ent Soc London* 107: 289-294.
- Rousseau, A., V. Fournier, and P. Giovenazzo. 2015. *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) drone sperm quality in relation to age, genetic line, and time of breeding. *Canadian Entomologist* 147: 702-711.
- Ruttner F. (1956) the mating of the honeybee, *Bee World* 37, 3–15
- Ruttner, F. 1976. The instrumental insemination of the queen bee. Apimondia Publishing House, Bucharest.
- Sandoz, J.C., Deisig, N., de Brito Sanchez, M. G. and Giurfa, M. (2007). Understanding the logics of pheromone processing in the honeybee brain: from labeled-lines to acrossfiber patterns. *Front. Behav. Neurosci.* 1, 5: 1-12.

- Schluns, H., E. A. Schluns, R. F. A. Moritz, H. Schlüns, E. Schlüns, and J. van Praagh. 2003. Sperm numbers in drone honeybees (*Apis mellifera*) depend on body size. *Apidologie* 34: 577-584.
- Schluns, H., G. Koeniger, N. Koeniger et R. F. A. Moritz (2004). Sperm utilization pattern in the honeybee (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 56(5): 458-463.
- Seeley, T. D. (2010). *Honeybee democracy*. Princeton, New Jersey : Princeton University Press.
- Seeley, T. D. 1978. Life-history strategy of honey bee, *Apis mellifera*. *Oecologia* 32: 109-118.
- Seeley, T. D., P. K. Visscher et K. M. Passino (2006). Group decision making in honey bee swarms. *American Scientist* 94(3): 220-229.
- Shafir, S., L. Kabanoff, M. Duncan, and B. P. Oldroyd. 2009. Honey bee (*Apis mellifera*) sperm competition in vitro - two are no less viable than one. *Apidologie* 40: 556-561.
- Simmons, L. W. 2002. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Quarterly Review of Biology* 77: 346-346.
- Spürgin, A. (2008). *Guide de l'abeille*. Paris, Delachaux et Niestlé, 126 p. Statistique Canada (2009). Production et valeur du miel. In Statistique Canada. [En ligne]. <http://www.statcan.gc.ca/pub/23-221-x/2009000/t001-fra.htm> (Page consultée le 28 octobre 2010).
- Streinzer, M., Brockmann, A., Nagaraja, N., Spaethe, J. (2013). Sex and caste-specific variation in compound eye morphology of five honeybee species. *Plos One*, 8, e57702.
- Taber, S., and M. S. Blum. 1960. Preservation of honey bee semen. *Science* 131: 1734-1735.

- Tarpy DR, hatch S et fletcher DJC (2000). The influence of queen age and quality during queen replacement in honeybee colonies. *Animal Behaviour*. Vol. 59, n° 1, pp. 97-101.
- Tarpy, D. R., and R. E. Page. 2001. The curious promiscuity of queen honey bees (*Apis mellifera*): evolutionary and behavioral mechanisms. *Annales Zoologici Fennici* 38: 255-265.
- Taylor, M. A., E. Guzman-Novoa, N. Morfin, and M. M. Buhr. 2009. Improving viability of cryopreserved honey bee (*Apis mellifera* L.) sperm with selected diluents, cryoprotectants, and semen dilution ratios. *Theriogenology* 72: 149-159.
- Tofilski, A., B. Chuda-Mickiewicz, K. Czekonska, and P. Chorbinski. 2012. Flow cytometry evidence about sperm competition in honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie* 43: 63-70.
- Tourmente, M., Cardozo, G.A., Guidobaldi, H.A., Giojalas, L.C., Bertona, M. and Chiaraviglio, M. 2007 Sperm motility parameters to evaluate the seminal quality of *Boa constrictor occidentalis*, a threatened snake species, *Research in Veterinary Science*, 82 (1), 93-98.
- Verma, L. R. (1978). Biology of honeybee (*Apis mellifera* L.) spermatozoa. 1. Effect of different diluents on motility and survival. *Apidologie* 9(3): 167-173.
- Verma, L. R. 1974. Honeybee spermatozoa and their survival in the queen's spermatheca, vol. 55, *Bee World*. Czekonska, K., P. Chorbinski, K. Czekońska, B. Chuda Mickiewicz, and P.
- Von frisch K. (2011). *Vie et moeurs des abeilles*. Editions Albin Michel, Paris, 21-66.
- Warre. 2009 - Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. 59: 106 - 128.
- Weis K. 1985 *L'apiculteur Du Weekend*. Editions européenne apicoles, pp 12 – 18. www.aujardin.INFO. 2007.
- Winston M.L., 1993- *La biologie de l'abeille*. Ed Frison-Roche. 276p.

- Winston, M L; Punnett, E N (1982) Factors determining temporal division of Labor in honeybees. *Canadian Journal of Zoology* 60: 2947-2952. <http://dx.doi.org/10.1139/z82-372>.
 - Winston, M.L., 1987. *The Biology of the Honeybee*. 1st Edn., Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, London, England, pp: 281.
 - Woyciechowski, M., and E. Krol. 1996. on intraoviductal sperm competition in the honeybee (*Apis mellifera*). *Folia Biologica-Krakow* 44: 51-53.
 - Woyke J., Ruttner F. (2001) An anatomical study of the mating process in the honeybee, *BeeWorld* 39, 3–18.
 - Woyke, J. 1960. Natural and artificial insemination of honeybees. *Pszczel. Zesz. Nauk* 4: 183-275.
 - Woyke, J. 1962. The hatchability of lethal eggs in a two sex-allele fraternity of honeybees. *Jour Apicultural Res* 1: 6-13.
 - Woyke, J. 2010. Three substances ejected by *Apis mellifera* drones from everted endophallus and during natural matings with queen bees. *Apidologie* 41: 613-621.
 - Woyke, J. and Jasinski, Z. 1978. Influence of age of drones on the results of instrumental insemination of honey bee queens. *Apidologie*, 9, 203-212.
 - Zayed A et Pachker L (2005). Complementary sex determination substantially increases extinction proneness of haplodiploid populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 102, n° 30, pp. 10742–10746.
-

Annexes

ANNEXE 1 : MATERIELS D'APICULTURE



Figure 1 : Ruche dans son environnement.



Figure 2 : Enfumoir.



Figure 3 : Lève cadres



Figure 4 : Grille à reine.

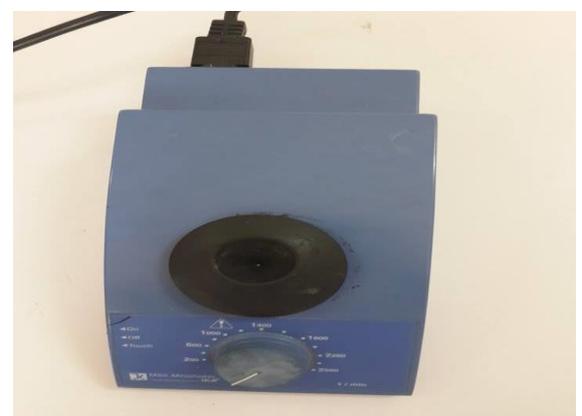


Figure 5 : Volière de capture.



Figure 6 : Cire à mâle.

ANNEXE 2 : MATERIELS DU LABORATOIRE

**Figure 7 : CASA Système.****Figure 8 : Micropipette.****Figure 9 : Balance de précision****Figure 10 : Eppendorf de 1.5ml****Figure 11 : Cellules de Malassez (ou Hématimètre de Malassez)****Figure 12 : vortex**