

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE BLIDA-1



Institut des Sciences Vétérinaires

THESE DE DOCTORAT

En Sciences Vétérinaires

Spécialité : Sciences Vétérinaires

THEME

Contribution à l'étude de la fertilité des faux bourdons de race Apis mellifera intermissa

Par
YAHI Krimou

Devant le Jury composé de :

SAIDJ Dalia	Professeure, ISV, Université Blida1	Présidente
BESBACI Mohamed	MCA, ISV, Université Blida1	Examinateur
ABERKANE Boubekeur	MCA, Université de Bouira	Examinateur
ABDELLI Amine	MCA, Université de Bouira	Examinateur
YAHIMI Abdelkrim	MCA, ISV, Université Blida1	Directeur
MOULA Nassim	MDR, PhD, Université de Liège	Co-directeur
KAIDI Rachid	Professeur, ISV, Université Blida1	Invité
IGUER-OUADA Mokrane	Professeur, Université de Bejaia	Invité

RESUME

Les abeilles mellifères sont cruciales pour l'agriculture et la préservation de la biodiversité, et leurs mâles sont indispensables à leur reproduction.

Cette étude porte sur l'analyse des pratiques liées à la gestion des faux bourdons (FB) de l'abeille *Apis mellifera intermissa* et leur fertilité, combinant une enquête réalisée auprès de 52 apiculteurs et des analyses histologiques en laboratoire.

Les apiculteurs interrogés sont majoritairement âgés de 21 à 49 ans, avec une expérience de 3 à 10 ans pour la plupart. L'apparition des Faux Bourdons est principalement observée entre février et avril, leur pic d'activité culmine en mois de mai, tandis que leur disparition s'étend de juin à août, bien que certains apiculteurs signalent des présences jusqu'au mois de novembre. Selon l'enquête, seulement 14,29% des apiculteurs recourent à l'insémination artificielle, tout en privilégiant des méthodes d'observation traditionnelles pour évaluer la maturité des FB, comme leur regroupement au niveau des zones de congrégation des faux bourdons (DCA) (42,86%) ou les vibrations abdominales (28,57%).

Les analyses de fertilité, basées sur des échantillons collectés principalement en avril (36,05 %) et mars (29,07 %), révèlent que 62,78 % des faux Bourdons présentent des spermatozoïdes dans les vésicules séminales, avec des variations saisonnières marquées : 100 % en juin contre 7,14 % en octobre.

L'état des ruches joue un rôle clé : les colonies fortes présentent 89,29 % de FB fertiles, contre 41,46 % pour les colonies moyennes. La maturité des FB est déterminante, avec 76 % des individus matures porteurs de spermatozoïdes, contre 24 % pour les immatures. Les sécrétions des glandes à mucus, quant à elles, sont quasi systématiques (91,67 % à 100 %), indépendamment de l'âge des FB ou de la densité des colonies.

Ces résultats soulignent l'importance de la saisonnalité, du peuplement des ruches et de la maturité sexuelle des faux bourdons. Ils mettent en lumière des pratiques apicoles encore peu axées sur des méthodes scientifiques comme l'insémination artificielle (IA), tout en gagnant de la conscience quant à l'élevage des faux bourdons et leur rôle principal dans la reproduction des abeilles.

Mots clés : Colonie d'abeilles, faux bourdons, *Apis mellifera intermissa*, coupes histologiques, spermatozoïdes, glande à mucus, fertilité.

ABSTRACT

Honey bees are vital for agriculture and biodiversity conservation, and their males are essential for their reproduction.

This study focuses on the analysis of practices related to the management of drones (FB) of the honey bee *Apis mellifera intermissa*, and their fertility, combining a survey conducted among 52 beekeepers, with histological analyses performed in the laboratory.

The surveyed beekeepers are mostly between 21 and 49 years old, with 3 to 10 years of experience for the majority. The appearance of drones is mainly observed between February and April, with peak activity in May, while their disappearance occurs between June and August, although some beekeepers report their presence until November. According to the survey, only 14.29% of beekeepers use artificial insemination, while most rely on traditional observation methods to assess drone maturity, such as aggregation at drone congregation areas (42.86%) or abdominal vibrations (28.57%).

Fertility analyses, based on samples collected mainly in April (36.05%) and March (29.07%), reveal that 62.78% of drones have spermatozoa in their seminal vesicles, with marked seasonal variations: 100% in June compared to 7.14% in October. Colony strength plays a key role: strong colonies present 89.29% fertile drones, compared to 41.46% in medium-strength colonies. Drone maturity is crucial, with 76% of mature individuals carrying spermatozoa, compared to 24% of immature ones. Secretions from the mucus glands are nearly systematic (91.67% to 100%), regardless of drone age or colony strength.

These results highlight the importance of seasonality, colony population, and sexual maturity of drones. They also underscore beekeeping practices that remain minimally oriented toward scientific methods, such as artificial insemination, while demonstrating an increasing awareness of drone rearing and its key role in bee reproduction.

Keywords: Bee colony, drones, *Apis mellifera intermissa*, histological sections, spermatozoa, mucus gland, fertility.

الملخص

نحل العسل ضروري للزراعة والحفاظ على التنوع البيولوجي، وذكوره لا غنى عنهم في عملية التكاثر تتناول هذه الدراسة تحليل الممارسات المتعلقة بإدارة ذكور النحل وخصوبتهم، وذلك من خلال الجمع بين استبيان أجري مع 52 نحالاً وتحليلاً نسيجياً في المختبر.

النحالون المستجوبون تتراوح أعمارهم في الغالب بين 21 و49 سنة، ولديهم خبرة تتراوح بين 3 و10 سنوات. لوحظ ظهور الذكور بشكل رئيسي بين شهري فيفري وأفريل، وتبلغ ذروة نشاطهم خلال شهر ماي، بينما يمتد اخفاوهم من شهر جوان إلى أوت، رغم أن بعض النحالين يشيرون أن وجودهم يمتد حتى شهر نوفمبر وفقاً للاستبيان، فإن 14.29٪ فقط من النحالين يستخدمون التلقيح الاصطناعي، في حين يفضل معظمهم طرق الملاحظة التقليدية لتقدير نضج الذكور، مثل تجمعهم خارج المنحل، في مناطق خاصة للتكاثر بنسبة 42.86٪، أو الاهتزازات البطنية بنسبة 28.57٪.

تكشف تحاليل الخصوبة، المبنية على عينات جمعت أساساً في شهر أفريل (36.05٪) ومارس (29.07٪)، أن 62.78٪ من الذكور، يحتوي سائلهم المنوي على حيوانات منوية، مع وجود تباين موسمي واضح: 100٪ في ماي مقابل 7.14٪ في أكتوبر تلعب كثافة الخلايا دوراً رئيسياً، حيث تُظهر المستعمرات القوية 89.29٪ من الذكور المؤهلة للتكاثر، مقابل 41.46٪ في المستعمرات المتوسطة. ويدع نضج الذكور عصراً حاسماً، إذ إن 76٪ من الأفراد الناضجين يحملون حيوانات منوية، مقابل 24٪ فقط من غير الناضجين أما إفرازات الغدد المخاطية، فهي شبه منتظمة (بنسبة تتراوح بين 91.67٪ و100٪)، بغض النظر عن عمر الذكور أو كثافة المستعمرات تُبرز هذه النتائج أهمية العوامل الموسمية، وكثافة الخلايا، والنضج الجنسي للذكور. كما تُسلط الضوء على أن ممارسات تربية النحل ما تزال غير معتمدة على الأساليب العلمية كالتلقيح الاصطناعي، لكنها تُظهر وعيًا متزايدًا بأهمية تربية الذكور ودورهم الأساسي في تكاثر النحل.

الكلمات المفتاحية: خلية نحل، الذكور، مقاطع نسيجية، الحيوانات المنوية، الغدة المخاطية، الخصوبة

«الحمد لله رب العالمين»

REMERCIEMENTS

Il m'est fort agréable d'exprimer ma profonde gratitude au **Dr YAHIMI Abdelkrim**, directeur de cette thèse, pour son encadrement précieux, ses conseils avisés et son soutien constant. Sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses encouragements ont été déterminants pour l'achèvement de ce projet.

Je remercie chaleureusement **Dr MOULA Nassim**, MDV, PhD à l'Université de Liège et co-directeur de cette thèse, pour son expertise, l'analyse statistique, ses orientations éclairées et son accompagnement bienveillant tout au long de ce travail. Au-delà de son rôle académique, Nassim est bien plus qu'un collègue : un ami fidèle qui a partagé avec moi tant de moments joyeux et parfois des épreuves les plus difficiles. Notre amitié fraternelle, forgée au fil des années, a été un rempart contre les tempêtes et une source inépuisable de réconfort. Qu'il trouve dans ces mots toute ma reconnaissance.

A Madame **SAIDJ Dahia**.

Professeure à l'Université Saad Dahlab University – Blida1. Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury. Hommage respectueux.

A Monsieur **BESBACI Mohamed**.

Maître de conférences A à l'Université Saad Dahlab University – Blida 1. Pour avoir accepté de participer à notre jury de thèse. Sincères remerciements.

A Monsieur **ABERKANE Boubekeur**.

Maître de conférences A à l'Université de Bouira. Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse. Sincères remerciements.

A Monsieur **ABDELLI Amine**.

Maître de conférences A à l'Université de Bouira. Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury. Sincères remerciements.

Je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance au **Professeur KAIIDI Rachid** pour m'avoir offert l'opportunité de travailler sur un sujet qui me tient tant à cœur. À la recherche d'un encadrement doctoral dans le domaine de la reproduction des abeilles, c'est grâce à lui que j'ai pu enfin m'engager dans cette thématique. Cette thèse représente bien plus qu'un accomplissement académique car elle m'a permis d'allier ma passion pour l'apiculture à la recherche scientifique. Je suis infiniment reconnaissant au Professeur KAIIDI pour la confiance qu'il m'a accordée et pour avoir rendu possible ce rêve.

Mon vocabulaire est très limité pour exprimer ma reconnaissance et mon estime envers le **Professeur IGUER-OUADA Mokrane**. Les mots semblent bien pâles face à tout ce qu'il m'a apporté, tant sur le plan académique que sur mon développement personnel. Avoir eu le privilège de le côtoyer pendant toutes ces années constitue une chance inestimable et un honneur dont je mesure toute la valeur. De par son parcours émérite en sciences vétérinaires et enseignant-chercheur renommé, il a su insuffler à ses étudiants, dont je fais partie, cette passion pour la recherche scientifique. Véritable "sapeur académique" et par ses engagements sans faille, il a formé et guidé des générations d'étudiants aussi bien en Algérie qu'à l'étranger. "Chikh Mokrane", ce guide bienveillant, nous a été toujours une source constante d'inspiration et de soutien. Ses remarques constructives et sa vision multidisciplinaire ont profondément nourri nos curiosités et enrichi nos réflexions.

Après ma première année, faute de moyens pour mener à bien ce travail, j'étais dans un désarroi total. Sans même le solliciter, il n'a pas lésiné de me proposer une idée originale, celle d'étude de la fertilité par analyse histologique. Il ne s'est pas contenté de m'apporter une solution, mais il a même déployé des efforts considérables pour me fournir l'accès au laboratoire de médecine et me disposer des moyens nécessaires. Sans son intervention décisive, ce travail n'aurait pu jamais voir le jour. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude éternelle et de mon respect le plus profond, pour tout ce qu'il a accompli, tant pour ma formation que pour ma vie personnelle.

Mes vifs remerciements au personnel du laboratoire d'anatomie pathologique de la faculté de médecine de l'Université de Bejaïa. Je pense particulièrement à Madame **YAHIA Hakima**, chef de service, pour son encadrement expert et sa disponibilité, ainsi qu'à ses collègues **Louiza, Lynda et Ouarda**, pour leur assistance technique précieuse et leur patience inlassable. Cette équipe dévouée par son professionnalisme a rendu possible la réalisation des coupes histologiques dans des conditions optimales et dans les délais impartis. Leur engagement quotidien au service de la recherche scientifique mérite toute notre admiration et notre respect. Qu'elles trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

J'adresse aussi mes sincères remerciements au **Professeur Adel Djallel** de l'Université de Blida. Dès notre première rencontre, cet homme d'exception m'a impressionné par son humilité légendaire et sa bienveillance naturelle. A maintes reprises lorsque je me trouve sur la vallée de désespoir, ce gentleman a su, par ses conseils éclairés, de me redonner la force de persévéérer. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude la plus sincère pour son soutien moral et scientifique, ainsi que mon admiration pour ses qualités humaines qui font toute la noblesse de son métier d'enseignant-chercheur.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Professeur **ZIAM Hocine**, enseignant-chercheur à l'Université de Blida 1, Faculté des Sciences Vétérinaires. En sa qualité de responsable de la DPGRS, il m'a grandement facilité les démarches liées aux inscriptions ainsi qu'à l'ensemble des procédures administratives (reformulation du thème, changement de promoteur, etc.). Son attitude sage et son accueil chaleureux font de lui une personne des plus respectables. Qu'il trouve à travers ces mots l'expression sincère de toute ma reconnaissance pour sa disponibilité et sa bienveillance.

Au fil des années consacrées à la réalisation de cette thèse et même bien avant, s'il y a une personne dont la présence constante à mes côtés a été inestimable, c'est bien *Mis n'Djeddi (Dr Madjid SADI)*. J'aime l'appeler ainsi, avec fierté, car je me sens profondément honoré d'être issu des mêmes origines que lui. Docteur vétérinaire compétent, d'une grande intelligence, et aujourd'hui enseignant-chercheur à l'université de Blida, il a largement contribué à l'aboutissement de ce travail. C'est d'abord grâce à lui que j'ai eu le contact avec le Professeur KAIDI, qui a accueilli avec enthousiasme mon idée d'étude de la fertilité des faux-bourdons. Il m'a également soutenu dans toutes les démarches administratives au sein de l'université, et n'a jamais cessé de m'encourager à aller jusqu'au bout de cette thèse.

Son amour pour les abeilles et les liens de fraternité qui nous réunissent, l'ont immédiatement plongé dans ce sujet, et depuis, il n'a jamais cessé de se soucier de moindre détail. Dès le début, il a mis la main à la pâte en m'aidant à réaliser l'échantillonnage malgré les piqûres d'abeilles, puis l'analyse des résultats, la rédaction et la relecture des manuscrits ainsi que ses remarques et ses corrections toujours pertinentes. Au-delà du cadre académique, nous partageons un quotidien et un mode de

vie en commun avec beaucoup de complicité, d'autant plus que nous habitons la même localité. J'ai trouvé en lui un vrai ami; plutôt un frère. Un confrère de profession, avec qui je partage le lien de sang, les passions, nos ambitions, les moments de bonheur et même nos peines endurées. Je saisiss cette occasion pour lui témoigner toute ma reconnaissance et lui adresser mes remerciements les plus sincères. Les souffles de ses encouragements et son soutien inconditionnel et inlassable resteront à jamais gravés dans ma mémoire.

Reconnaissant que l'aboutissement de cette thèse soit le fruit d'efforts collectifs, nourris aussi bien par l'aide concrète que par les encouragements sincères des uns et des autres, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mes amis, et tout particulièrement au Dr Touazi Leghel, Dr Kaddour Abdenour, Dr Akkou Madjid, Sadoudi Hacene, Ben Saïd Rachid et Amara Mustapha. Je remercie également le personnel administratif d'ISV de Blida-1 pour leur servabilité ainsi que l'ensemble des apiculteurs qui ont contribué par le renseignement des questionnaires. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

DEDICACES

Au terme de ces années de travail sur les abeilles, je dédié cette thèse :

- À mes très chers parents, dont les prières et l'inquiétude bienveillante m'accompagnent sans relâche. J'adresse un hommage tout particulier à mon père, qui a su planter en moi la graine de l'amour pour les abeilles. Avec patience et passion, il m'a initié à l'apiculture dès mon plus jeune âge. Par sa sagesse et son savoir-faire, il m'a transmis un héritage familial ancestral, riche de traditions apicoles. Cette thèse est, en vérité, bien plus qu'un travail scientifique : elle est un hommage à mes aïeux, à mon père, et à une enfance pleine du miel en abondance.
- À mon très cher frère **Samir** et son épouse, ainsi que leurs enfants : **Emeline, Elena** et le petit **Yanis**.
- À mes très chers frères **Mahdi** et **Ahmed**, ainsi qu'à notre petite sœur **Kamilia**.
- À ma très chère épouse, dont le soutien indéfectible m'a accompagné tout au long de ces années. C'est grâce à ses encouragements constants, à sa patience et à sa présence bienveillante que j'ai puisé la force et la détermination nécessaires pour mener ce travail à son terme.
- À mes très chers enfants **Sara, Aymene** et **Alaa**. Que DIEU vous protège et vous guide sur le droit chemin.
- À mes chers beaux-parents, à mes beaux-frères et belles-sœurs ainsi que leurs enfants (mes nièces et mes neveux). Mes dédicaces s'adressent tout particulièrement à **Nora**, professeure universitaire, pour ses précieux conseils, son orientation constante et son soutien indéfectible, ainsi qu'à **Amar**, informaticien, pour son aide précieuse dans l'ensemble des traitements informatiques.
- À tous mes amis, à mes proches et à tous les passionnés des abeilles.

À la mémoire de mes trois frères qui nous ont quittés très tôt :

- ☒ Le docteur vétérinaire **SADI Saïd** (*Mis n'Djeddi*), qui nous a quitté subitement le 05/07/2006, à l'âge de 27 ans.
- ☒ Mon frère **Fodil**, décédé le 10/05/2021 à l'âge de 40 ans. Sa mort tragique a ébranlé toute âme sensible.
- ☒ Mon très cher ami **Dr SADOUDI Ahmed**, décédé le 29/03/2024 à l'âge de 44 ans, suite à une longue maladie. Je lui rends un hommage très particulier car il m'a beaucoup aidé dans ce projet de thèse. Il était un ami hors du commun, dont la complicité ne connaît aucune limite. Homme de valeurs et de principes.

« Les dettes d'argent se remboursent, mais les dettes de loyauté demeurent à jamais »

« Paix à leurs âmes, Que DIEU les accueille dans son vaste paradis et nous réunisse un jour avec eux ».



[Photo personnelle]



LISTE DES ABREVIATIONS

CASA : Computer-Assisted Sperm Analysis.

DCA : Drones Congregation Area.

FB : Faux bourdon.

MG : mucus gland.

OGM : Organismes génétiquement modifiés.

PI : Propidium Iodide.

SPZ : Spermatozoïdes.

VS : Vésicule séminale.

9-ODA : Acide 9-Oxo-2-Décénoïque.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition mondiale des abeilles mellifères	3
Figure 2 : Différentes castes de la colonie sur un cadre de couvain.....	7
Figure 3 : Couvain des ouvrières entouré par le couvain des faux bourdons (En rouge : les alvéoles des mâles, en orange : les alvéoles abeilles ouvrières).....	8
Figure 4 : Deux cellules royales. (En jaune : cellule royale vide, en rouge : la reine n'est pas encore éclosé).	9
Figure 5 : Ponte des œufs dans les alvéoles de cire.	10
Figure 6 : Ontogenèse des mâles (FB), de l'œuf au stade adulte.....	14
Figure 7 : Initiation spontanée de l'élevage des faux bourdons.	16
Figure 8 : Cadres d'élevage des FB (A : avec cire gaufrée, B : en plastique).....	16
Figure 9 : Cadre du couvain d'ouvrières, avec une portion du couvain des FB (en bleu). (Ce cadre du couvain reflète les proportions des effectifs de la colonie en ouvrières et en faux bourdons).....	17
Figure 10 : (A) appareil reproducteur de la reine. (B) La région médiane de l'appareil. Ovaires (1), le calice (2), les oviductes latéraux (3) (l'oviducte droit est gonflé par les œufs), l'oviducte médian (4), la spermathèque (5) (recouverte d'un réseau trachéal).....	21
Figure 11 : Organes de reproduction d'un faux bourdon. EPH : endophallus, blb: bulbe, crv : cervix (col), VST : vestibule, ED : canal ejaculateur, MG : glandes à mucus, SV : vésicules séminales	23
Figure 12 : Différence spectaculaire entre la masse testiculaire d'un faux bourdon immature (a) et d'un FB mature (b).....	25
Figure 13 : Evolution de développement de l'appareil reproducteur du FB, depuis l'émergence jusqu'à la maturité sexuelle.	25
Figure 14 : Cellule spermatique du FB (A: Spermatozoïde filamenteux avec un très long flagelle [146] ; B : Spermatozoïde vivant illustré par la fluorescence bleue (Hoechst) a : l'acrosome, b : le noyau, c : le flagelle	31
Figure 15 : Essaim d'abeilles sur une branche d'arbre.	34
Figure 16 : Coupe transversale d'une jeune glande séminale. (Début de migration des spermatozoïdes depuis les testicules vers les glandes séminales).	35
Figure 17 : DCA (Drones Congrégation Area)	41
Figure 18 : Reine d'abeille mellifère (<i>Apis mellifera L</i>), en quête d'énergie pour poursuivre son vol nuptial, elle se nourrit du nectar d'une fleur de bourrache (<i>Borago officinalis</i>)	42

Figure 19 : Accouplement de la reine avec un faux bourdon en plein vol	45
Figure 20 : Eversion partielle de l'endophallus. V : vestibule, C : cornules	46
Figure 21 : Eversion complète de l'endophallus	47
Figure 22 : Signe d'accouplements avec filament terminal.....	48
Figure 23 : Membrane orange	48
Figure 24 : Signe d'accouplement du dernier faux bourdon.....	49
Figure 25 : Organe reproducteur d'une reine fraîchement fécondée, en rose : les oviductes latéraux bourrés du sperme des spermatozoïdes.....	50
Figure 26 : Double coupe de la spermathèque d'une jeune reine d'abeille fécondée, vue au microscope électronique à balayage. Masse très dense en spermatozoïdes, C (centre): SPZ allongés en faisceaux, P (périmétrie): SPZ enrôlés et entrelacés.....	51
Figure 27 : Elimination des faux bourdons à la fin de la saison de reproduction.	52
Figure 28 : Test de viabilité par évaluation de l'intégrité de la membrane plasmique à l'aide des colorants Hoechst/PI. (En bleu : SPZ vivants et en rouge : SPZ morts).	54
Figure 29 : Tests de viabilité des SPZ. [SYBR-14 (noyau en vert), Hoechst (noyau en bleu), Draq5 (noyau en orange), Propidium iodé (noyau en rouge), Calcein Violet (flagelle en bleu)].....	54
Figure 30 : Répartition géographique des quatre lignées évolutives de l'espèce <i>d'Apis mellifera</i>	60
Figure 31 : Répartition géographique des 25 sous-espèces <i>d'Apis mellifera</i> à travers l'Afrique, l'Europe et le Moyen orient	60
Figure 32 : Carte de la Wilaya de Tizi-Ouzou (cadre d'étude) et les positions des apiculteurs collaborés avec l'enquête.	63
Figure 33 : Zone de position des ruchers, objets des prélèvements des faux bourdons (Commune d'Azeffoun).....	65
Figure 34 : Prélèvement des FB immatures (soit juste à leur émergence du couvain, soit sur les cadres latéraux de provision : mince, gros yeux violettes, duvet blanc).....	66
Figure 35 : Prélèvement des FB matures sur les trous de vol des ruches.	66
Figure 36 : Organe de reproduction de faux bourdon (FB), juste après le prélèvement [GM : glandes à mucus, VS : vésicules séminales et ENDPH : l'endophallus (BLB : le bulbe avec ses plaques chitineuse et GC : les glandes des cornules en jaune)].	
.....	67
Figure 37 : Coupes transversales des vésicules séminales (VS). (M) : couche musculaire, (EP) : épithélium, (spz) : spermatozoïdes.....	71
Figure 38 : Coupe longitudinale d'une glande séminale, perforée latéralement (VS : vésicule séminale, PDVS : pôle distale de la glande séminale, spz : spermatozoïdes, tg : tissu glandulaire de la glande séminale, cm : les couches musculaires).	71

Figure 39 : Coupes longitudinales des glandes à mucus (GM : glande à mucus, VS : vésicule séminale, CEC : canal éjaculateur commun, CEL : canal éjaculateur latéral, JGM : jonction de la paire de glandes à mucus, spz : spermatozoïdes, sgm : sécrétions des glandes à mucus.....	72
Figure 40 : Pourcentage de questionnaires récupérés	73
Figure 41 : Âge des apiculteurs participés à l'enquête.	74
Figure 42 : Expérience des apiculteurs.....	74
Figure 43 : Mois d'apparition des faux bourdons.	75
Figure 44 : Activité intense des faux bourdons.	76
Figure 45 : Mois de disparition des faux bourdons.	77
Figure 46 : Principaux rôles des faux bourdons.....	77
Figure 47 : Pratique de l'insémination artificielle.....	78
Figure 48 : Maturité sexuelle des Faux Bourdons.....	79
Figure 49 : Répartition des échantillons selon le mois de prélèvement	80
Figure 50 : Présence de spermatozoïdes dans les vésicules séminales.	81
Figure 51 : Présence spermatozoïdes selon le mois	82
Figure 52 : Présence de spermatozoïdes selon l'âge des reines.....	82
Figure 53 : Présence de spermatozoïdes selon l'état des ruches.....	83
Figure 54 : Présence de spermatozoïdes selon l'âge des faux bourdons.....	84
Figure 55 : Présence de l'activité sécrétoire des glandes à mucus.	84
Figure 56 : Activité des glandes à mucus selon le mois de prélèvement.....	85
Figure 57 : Activité des glandes à mucus selon l'âge des reines.....	86
Figure 58 : Activité des glandes à mucus selon l'âge des faux bourdons (matures et immatures).	86
Figure 59 : Activité des glandes à mucus selon l'état des ruches.....	87
Figure 60 : Courbe d'infestation des colonies par le varroa et protocole d'application du traitement par Apivar®	98

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Périodes de développement des castes d'abeilles mellifères	9
Tableau 2: Emploi du temps d'une abeille ouvrière dans la ruche	19
Tableau 3 : Mensurations du spermatozoïde de quelques types d'abeilles.	31

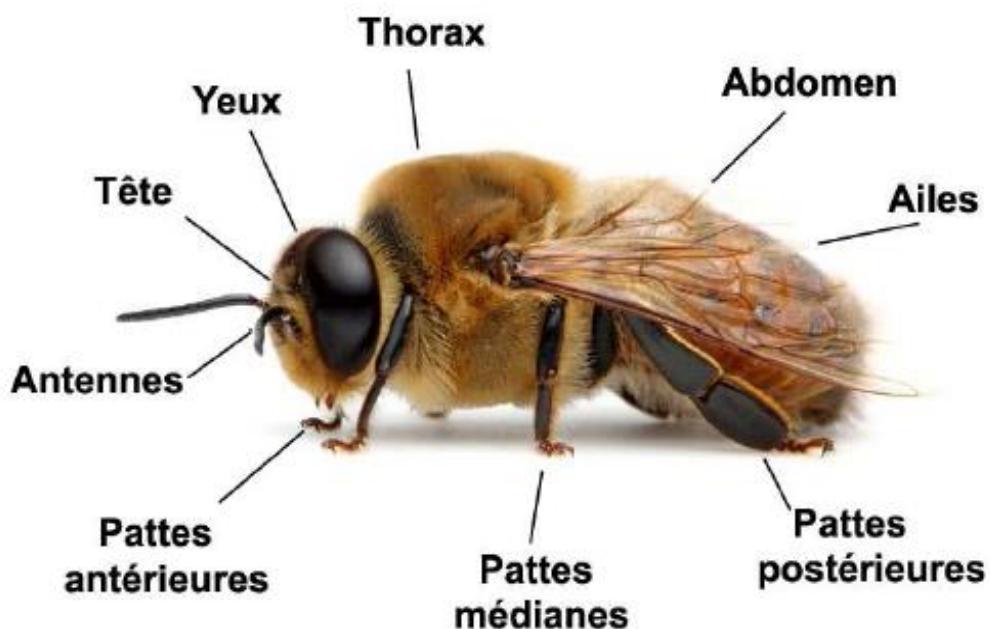


TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

RESUME

ABSTRACT

الملخص

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION	1
1. Biologie de l'abeille	7
1.1. Types d'alvéoles :	8
1.1.1. Alvéoles des ouvrières :	8
1.1.2. Alvéoles des faux bourdons :	8
1.1.3. Alvéoles des reines :	9
1.2. Elevage du couvain :	9
1.2.1. Ponte des œufs :	10
1.2.2. Stade larvaire :	11
1.2.3. Stade nymphal :	11
1.3. Ontogenèse des castes:.....	11
1.3.1. Individus fertiles:.....	12
1.3.1.1. Reine:.....	12
1.3.1.2. Faux bourdons :	13
1.3.1.2.1.1. Colonies à vieilles reines :	15
1.3.1.2.1.2. Elevage spontané des faux bourdons :	15
1.3.1.2.1.3. Utilisation des cadres à mâles	15
1.3.2. Individus non fertiles (les ouvrières) :	16
2. Anatomie des appareils reproducteurs des castes fertiles.....	21
2.1. Reine :	21
2.1.1. Ovaires :	22
2.1.2. Oviductes :	22
2.1.3. Spermathèque :	22
2.1.4. Glande spermathècale:.....	22
2.1.5. Vagin:	23
2.2. Faux bourdons :	23
2.2.1. Unités de production et de maturation de la semence :	24
2.2.1.1. Testicules :	24
2.2.1.2. Glandes séminales :	26
2.2.1.3. Glande à mucus :	27
2.2.1.4. Canal éjaculateur :	28
2.2.2. Organe copulatoire ou endophallus:	28

2.2.2.1. Glande bulbeuse :	28
2.2.2.2. Glandes des cornules:	29
2.2.3. Appareil reproducteur du FB: (Ontogénèses, spermatogenèse et spermogénèse).	29
2.2.4. Morphologie et morphométrie de spermatozoïde :	30
Reproduction des abeilles mellifères	32
3.1. Multiplication des colonies (essaimage) :	32
3.2. Reproduction des castes fertiles :	35
3.2.1. Maturation des faux bourdons :	35
3.2.2. Vols des faux bourdons:	36
3.2.3. C'est quoi une DCA (Drones Congréation Area):	38
3.2.4. Vol nuptial de la reine:	41
3.2.5. Accouplement :	44
3.2.5.1. Eversion de l'endophallus lors d'accouplement :	46
3.2.5.1.1. Eversion partielle :	46
3.2.5.2. Signe d'accouplement :	47
3.2.5.3. Ejaculation et stockage du sperme dans la spermathèque :	50
3.2.6. Retour de la reine à la ruche et début de ponte:	51
3.2.7. Fin de vie des faux bourdons :	52
4. Semence des faux bourdons	53
4.1. Evaluation de la qualité spermatique des faux bourdons :	53
4.2. Ejaculat spermatique du faux bourdon :	55
4.3. Facteurs influençant la qualité spermatique:	55
4.3.1. Age du faux bourdon et de la reine :	55
4.3.2. Poids de faux bourdon :	56
4.3.3. Température du couvain :	57
4.3.4. Origine Génétique :	57
4.3.5. Nutrition :	58
5. Partie expérimentale	59
5.1. Problématique :	59
5.2. Cadre de l'étude :	62
5.3. Matériel et Méthodes :	63
5.3.1. Enquête sur la gestion d'élevage des faux bourdons par les apiculteurs :	63
5.3.2. Etude de la fertilité des faux bourdons :	64
5.3.2.1. Cadre expérimental :	65
5.3.2.2. Echantillonnage (les faux bourdons):	65
5.3.2.3. Technique de prélèvement :	66
5.3.2.4. Fixation et conservation des prélèvements :	67
5.3.2.5. Réalisation des lames histologiques :	67
5.3.2.5.1. Phase de déshydratation :	67
5.3.2.5.2. Phase d'éclaircissement (déshydratation finale) :	68
5.3.2.5.3. Phase d'imprégnation :	68
5.3.2.5.4. Phase d'enrobage :	68
5.3.2.5.5. Phase de dégrossissement :	69

5.3.2.5.6. Microtomie :	69
5.3.2.5.7. Etalement des coupes :	69
5.3.2.5.8. Phase de déparaffinage :	69
5.3.2.5.9. Phase de réhydratation :	69
5.3.2.5.10. Coloration :	70
5.3.2.5.11. Montage des lames :	70
5.3.2.6. Observations des coupes histologiques :	70
5.3.2.7. Analyse des données :	72
5.4. Résultats :	73
5.4.1. Résultats de l'enquête :	73
5.4.1.1. Age des apiculteurs :	73
5.4.1.2. Expérience des apiculteurs :	74
5.4.1.3. Activité des faux bourdons :	75
5.4.1.4. Mois d'activité intense des faux bourdons :	76
5.4.1.5. Mois de disparition des faux bourdons :	76
5.4.1.6. Principaux rôles des faux bourdons :	77
5.4.1.7. Pratiques de L'insémination artificielle :	78
5.4.1.8. Maturité des Faux Bourdons :	78
5.4.2. Résultats de l'étude de fertilité des faux bourdons :	80
5.4.2.1. Présence des spermatozoïdes :	81
5.4.2.1.1. Présence de spermatozoïdes selon le mois de prélèvement :	81
5.4.2.1.2. Présence de spermatozoïdes selon l'âge des reines :	82
5.4.2.1.3. Présence de spermatozoïdes selon l'état des ruches :	83
5.4.2.1.4. Présence de spermatozoïdes en fonction de l'âge des faux bourdons (Immature et mature) :	83
5.4.2.2. Activité des glandes à mucus :	84
5.4.2.2.1. Activité des glandes à mucus selon le mois de prélèvement :	85
5.4.2.2.2. Activité des glandes à mucus selon l'âge des reines :	85
5.4.2.2.3. Activité des glandes à mucus selon l'âge des faux bourdons (immature et mature) :	86
5.4.2.2.4. Présence des sécrétions des glandes à muqueuses en fonction de l'état des ruches :	86
5.5. Discussion :	88
5.5.1. Enquête sur la gestion de l'élevage des FB par les apiculteurs :	88
5.5.1.1. Profil des apiculteurs:	88
5.5.1.2. Cycle des faux bourdons :	88
5.5.1.3. Rôles des faux bourdons :	89
5.5.1.4. Utilisation de l'insémination artificielle:	89
5.5.1.5. Critères de maturité sexuelle des faux bourdons :	89
5.5.2. Fertilité des faux bourdons :	89
5.5.2.1. Production des spermatozoïdes en fonction de la saison d'élevage des faux bourdons :	90
5.5.2.2. Sécrétions des glandes à mucus en fonction des saisons d'élevage des faux bourdons:	94

5.5.2.3. Fertilité des faux bourdons en fonction de l'âge des reines :.....	96
5.5.2.4. Fertilité des FB en fonction de l'état de peuplement des ruches :.....	99
5.5.2.5. Fertilité des faux bourdons en fonction de leurs âges :.....	100
5.6. Conclusion :	104
5.7. Perspectives :.....	106
Références bibliographies:.....	107
Annexe 1	126

INTRODUCTION

Sur la planète terre, l'espèce humaine cohabite avec des millions d'espèces animales dont 80% sont des insectes [1], [2]. La biomasse entomologique est 300 fois plus supérieure que celle des humains, avec un ratio de 1,25 milliards d'insectes par personne [3]. De part son intelligence, l'homme est l'espèce la plus évoluée malgré qu'il est, de loin, le moins répondu sur terre par rapport aux insectes. Dans les années soixante, la présence de l'espèce humaine est estimée à trois milliards d'individus. Dés alors, une croissance d'un milliard d'habitants supplémentaires est enregistrée tous les 12 ans [4]. Depuis l'année 2022, la population mondiale a dépassé le cap des 8 milliards d'âmes [5]. Cette croissance vertigineuse met l'humanité face à des défis éléphantesques, en particulier le logement, la gestion des ressources hydriques, la gestion des déchets et l'épuration des eaux usées, la protection de l'environnement, l'exploitation rationnelle des énergies, mais aussi l'alimentation.

Etant de nature omnivore, le régime alimentaire de l'homme est très varié, basé sur les produits d'origine végétale et des produits d'origine animale. Nonobstant, la flore végétale est à la base de toute chaîne alimentaire. Par conséquent, l'alimentation humaine est fortement tributaire de la reproduction des plantes et de la dynamique des végétaux. L'abeille, étant la seule espèce animale qui procure à l'homme des produits d'origine végétale (miel, pollen, propolis et le pain d'abeille), joue, en outre, un rôle très capital dans la préservation des écosystèmes naturels et des agro-systèmes en tant que pollinisateur principal [6], [7]. Sans le vouloir, les abeilles pollinisent les fleurs en récoltant leur pollen et leur nectar. Le pollen fournit aux abeilles tous les nutriments essentiels, tandis que le nectar est transformé en miel pour constituer des réserves. En échange, les abeilles favorisent la reproduction des plantes et préservent leur diversité [5]. En effet, 87,5% (environ 308 000 espèces) des plantes à fleurs dans le monde ont besoins de la pollinisation animale [8], [9], dont les abeilles sont les plus efficaces [10], [11], de part leurs nombre et la possibilité de les mobiliser (transhumance) pour fertiliser les cultures intensives [12].

La reproduction sexuée des plantes, qui sont à l'origine des productions de fruits, de légumes, de céréales et autres produits agricoles, nécessite incontestablement la pollinisation des fleurs [7]. A l'échelle mondiale, environ 70% des cultures cultivées, et qui représentent 35% des productions vivrières, dépendent de la pollinisation

entomophile [5], [13]. Et selon Klein et al (2007) [14], parmi les cents espèces cultivars qui assurent 90% de la production alimentaire mondiale, 71 cultures sont principalement pollinisées par les abeilles. Et d'après Kluser et al (2010) [15], plus de 4 000 espèces de légumes en y aussi dépendantes. En outre, les rendements de certaines cultures commerciales, telles que les graines de luzerne et le colza, sont également très sensibles à la pollinisation par les insectes [7]. De même, 78 à 94 % des plantes sauvages dépendent aussi de la pollinisation entomophile pour se reproduire [5]. Traditionnellement, la pollinisation a été un service écosystémique, assuré naturellement par le vent (céréales, oliviers,...) ou par les pollinisateurs sauvages tels que les insectes, les oiseaux et les chauves-souris [11]. De plus en plus, ce service est fourni d'une manière commerciale par les apiculteurs, de moins dans certaines régions du monde [7], [16]. Rien qu'aux Etats-Unis, le service de pollinisation apporté par les colonies d'abeilles domestiques est estimé à 14,6 milliards de dollars par an [17].

L'importance de l'apiculture dans l'augmentation des rendements des cultures, ainsi que l'amélioration de la qualité des produits agricoles est devenue évidente [18], [19], faisant de cette filière un levier pour répondre aux besoins nutritionnels humains. Toutefois, la disparition et le déclin plausible des pollinisateurs, en particulier les populations d'abeilles, suite aux agents pathogènes résistants, aux mauvaises gestions apicoles (ex : le nourrissage intensif des colonies) et aux nouvelles pratiques agricoles telles que l'usage des pesticides, les monocultures, les cultures OGM, la déforestation, auraient systématiquement un impact négatif sur les écosystèmes naturels et les productions agricoles [20]. Pour cette raison, plusieurs auteurs s'efforcent d'attribuer une valeur économique au service de la pollinisation des cultures par les abeilles domestiques. Popescu et al (2024) [21] estiment que plus de 90 % de la valeur économique apportée par les abeilles mellifères provient de leur rôle pollinisateur. En effet, la valeur économique mondiale de la pollinisation a été estimée de 153 à 163 milliards d'euro, soit environ 10 % de la production agricole destinée à l'alimentation humaine [17], [22]. Par ailleurs, selon Gallai et al (2009) [17], les cultures dépendantes des pollinisateurs avaient une valeur économique **5** fois plus élevée (761€/t) que les autres cultures (151€/t).

Autrefois, la mécanisation des outils agricoles, le développement des moyens d'irrigation, les cultures sous serres, l'amélioration des semences, l'utilisation des fertilisants organique et chimiques, le recours aux traitements phytosanitaires, autant de procédés et de techniques ayant permis aux terres cultivables d'assurer la nourriture

humaine et animale. Face à une démographie de plus en plus croissante et suite à la régression et la disparition des milliers de polliniseurs sauvages, la pollinisation par les abeilles domestiques revêt une importance indéniable pour soutenir une agriculture durable et productive, d'autant plus, que les cultures entomophiles ne cessent d'augmenter dans le monde [23], [24].

L'abeille domestique, de part sa pollinisation très efficace surtout pour les cultures à grande échelle (tournesol, colza, soja, coton,...etc.), pourrait être adoptée comme la méthode de pollinisation la plus rentable et la plus économique [25]. Les apiculteurs offrent gratuitement les services écosystémiques de leurs abeilles comme externalité positive. Dans certains pays, les agriculteurs les embauchent pour assurer la pollinisation [26]. Un marché des services de pollinisation existe déjà dans plusieurs pays, comme les États-Unis, le Canada, l'Australie, la Nouvelle-Zélande, l'Allemagne et la Thaïlande, où les apiculteurs sont rémunérés pour mettre leurs abeilles à disposition des agriculteurs [25].



Figure 1 : Répartition mondiale des abeilles mellifères [27].

Une longue histoire de domestication et le déplacement des populations d'*Apis mellifera* dans de nouvelles régions et continents a conduit à sa distribution cosmopolite actuelle (figure 1), ce qui la classe comme l'espèce pollinisatrice la plus fréquente au niveau mondial [6]. Les premiers signes d'apprivoisement des abeilles remontent à l'époque des pharaons. Des textes et des peintures rupestres représentant des ruches cylindriques, datant de 3000 ans avant J.-C, ainsi que des traces de cire d'abeille dans

des poteries égyptiennes en témoignent [28]. Fort est de constater que les réserves accumulées par les abeilles, durant les bonnes saisons, avaient de quoi attirer les convoitises de nombreuses espèces animales, y compris l'homme. C'était grâce aux produits des colonies sauvages, en particulier le miel, les larves et la cire, que l'être humain a pensé à apprivoiser les abeilles et qui continu aujourd'hui à les éléver pour les mêmes intérêts.

Tout au long de l'histoire de l'apiculture, l'élevage des abeilles mellifères est principalement axé sur la production de miel. Ce produit précieux résulte de la transformation du nectar, du miellat et des sécrétions enzymatiques des glandes mandibulaires et hypopharyngiennes des abeilles [29]. Avec une production mondiale dépassant 1,9 million de tonnes en 2023, le miel représente un marché dont la valeur excède 10 milliards de dollars par an [30]. Par ailleurs, la modernisation de la filière apicole a permis la production d'une panoplie de produits dérivés à haute valeur nutritionnelle et thérapeutique, ainsi qu'à usage industriel. Le pollen, le pain d'abeille, la propolis, la gelée royale, le venin, la cire et les larves d'abeilles font aussi partie des trésors de la ruche. A l'échelle mondiale, le commerce des ces produits apicoles s'est beaucoup intensifié ces dernières années, ce qui maintient l'apiculture comme un outil vital pour le développement durable et la réduction de la pauvreté [31], [32], [33].

Pendant ces dernières décennies, les colonies d'abeilles domestiques ont augmenté de 45% à l'échelle mondiale [34]. Cette croissance s'explique principalement par la pression démographique et par une demande accrue en produits apicoles sains et nutritifs [35]. Cependant, cette expansion apicole reste insuffisante face à l'explosion (+300%) des cultures agricoles dépendantes de la pollinisation entomophile durant la même période [34]. D'autant plus, de nombreux insectes pollinisateurs, notamment les abeilles sauvages, voient leurs populations décliner en raison du changement climatique, de la dégradation environnementale et de l'usage massif de pesticides [21], [36]. Plus inquiétant encore, bien que les abeilles mellifères bénéficient d'un soutien mondial à travers divers programmes de développement durable, elles restent confrontées à de multiples menaces qui compromettent leur survie et perturbent leur reproduction.

Classées parmi les espèces les plus menacées [5], les abeilles domestiques voient leurs populations s'effondrer, avec un risque d'extinction dans l'avenir [37]. Le déclin mondial des pollinisateurs est une source de préoccupation majeure, notamment

les abeilles domestiques. En effet, elles se trouvent gravement menacées par l'usage des pesticides, l'agriculture moderne, les agents pathogènes, les parasites, le changement climatique, les pollutions et la réduction du couvert végétal suite à l'extension des zones urbaines [11], [38]. En plus du CCD (Colony Collapse Disorder), syndrome d'effondrement massif des colonies d'abeilles qui sévit ces dernières années à ampleur planétaire [39], [40], l'infertilité des reines est aussi fortement signalée par plusieurs chercheurs. En effet, pas mal d'auteurs ont rapporté, ces dernières années, des taux élevés de reines défaillantes soit par disparition inexpliquée, supersédure précoce, ponte prématuée d'œufs de faux bourdons ou par l'interruption soudaine de la ponte [41], [42]. Alors que, les reines de mauvaise qualité sont généralement considérées comme l'un des principaux facteurs contribuant aux pertes de colonies [42], [43], et la fertilité des faux bourdons est grandement mise en cause dans cette entité pathologique [44].

Dans les colonies d'abeilles mellifère, les faux-bourdons jouent un rôle essentiel dans la pérennité de l'espèce grâce à la diversité génétique du sperme que la reine stocke dans sa spermathèque [45]. Mais aussi, il est patent que la qualité reproductive des reines est inexorablement liée à la fertilité des mâles. En effet, les faux-bourdons de haute qualité sont essentiels pour assurer une fécondation optimale des reines, dont la longévité dépend du nombre et de la qualité des spermatozoïdes acquis lors des vols nuptiaux [42], [46], [47]. Or, l'apiculture mondiale est ébranlée, depuis quelques décennies, par l'apparition de nouveaux traitements vétérinaires apicoles, et de l'utilisation massive de produits phytosanitaires, potentiellement nocifs pour la reproduction des abeilles [48], [49]. Et les faux bourdons haploïdes sont les individus les plus sensibles aux produits chimiques et aux stress environnementaux [50], en raison de l'hémizygote des gènes clés impliqués dans l'immunité et la détoxicification [51]. Bien que les faux bourdons apparaissent moins exposés aux pesticides par rapport aux ouvrières, car ils ne participent pas au butinage, des études révèlent que pas moins de 92 résidus chimiques différents ont été détectés dans le miel [52] et de 173 autres dans le pollen et la cire [53]. Alors que, ces produits constituent l'alimentation (miel et pollen) exclusive et l'habitat (cire) des larves, futurs faux bourdons.

Or, il est bien établi que la fertilité des faux bourdons est fortement influencée par la qualité alimentaire et le statut nutritionnel pendant le stade larvaire [42], [54]. De toute évidence, en raison de leur taille plus importante, les larves des faux-bourdons ont des

besoins alimentaires plus élevés que les larves des ouvrières, surtout en protéines. De plus, la période larvaire des mâles, période de nourrissage du couvain avant son operculation, est plus longue d'une journée par rapport à celle des ouvrières [55]. Par conséquent, l'effet toxique des réserves de miel et de pollen, contaminés par les résidus chimiques, est plus marquant chez les faux bourdons. Par ailleurs, la disponibilité et la diversité des sources de nourriture varient selon les saisons et les biotopes [45]. C'est pourquoi la pratique de la transhumance et le choix d'emplacement des ruchers constituent des facteurs clés pour optimiser les récoltes. Dans les ruchers, placés sur des espaces agricoles ayant recours aux produits phytosanitaires, les réserves butinées sont souvent contaminées, surtout pendant le printemps, où l'activité des colonies est plus élevée. Stimulé par la floraison, c'est encore en cette période que l'élevage des mâles s'intensifie : c'est la saison de reproduction des abeilles. Toutefois, dans le bassin méditerranéen, l'élevage des mâles est possible, même en hors saison de reproduction [56].

En Algérie, de nombreuses études se sont largement intéressées au rôle de la reine dans la dynamique des colonies et l'amélioration des rendements apicoles. En revanche, le faux bourdon, quant à lui, a été beaucoup moins exploré, portant il joue un rôle crucial en fécondant les reines. Par conséquent, il influence directement la vitalité et la génétique des colonies. Ce présent travail vise à mettre en lumière le rôle essentiel des mâles dans la reproduction et leur impact sur le développement des populations d'abeilles. Dans cette optique, l'approche adoptée est d'évaluer histologiquement la qualité spermatique des faux bourdons d'*Apis mellifera intermissa*, en plein et en hors saison de reproduction, afin d'élucider la période favorable pour l'élevage et le changement de reines dans l'objectif d'optimiser leur fécondation.

Chapitre1

Biologie de l'abeille

Le cycle biologique de l'abeille est scindé en deux catégories, les stades immatures et les individus matures qui sont la reine, les ouvrières et les mâles, appelés faux bourdons (figure2). L'abeille suit un développement de type holométabole, ce qui signifie qu'elle subit une métamorphose complète, passant par les stades successifs d'œuf, de larve, de pupe, et enfin d'adulte [57]. Le nid d'abeille est constitué du couvain ouvert, renfermant les œufs et les larves, et du couvain fermé dont les nymphes se développent et se métamorphosent complètement en stade adulte dans des alvéoles operculés. Depuis l'intérieur de son alvéole, la nouvelle abeille adulte perce l'opercule de cire et émerge de la cellule pour rejoindre la vie active dans la ruche.

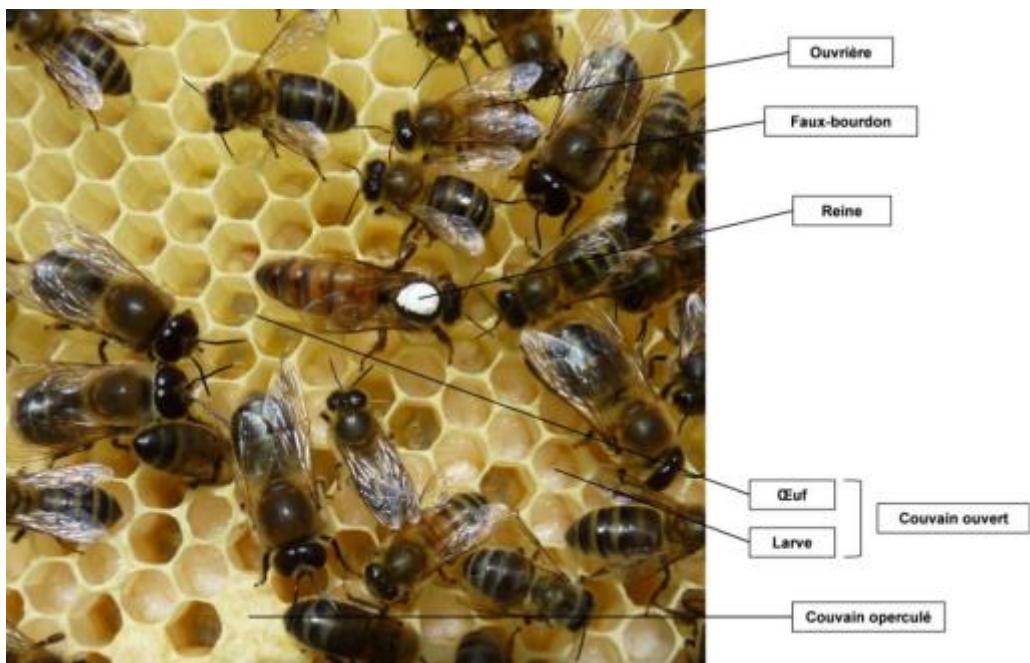


Figure 2 : Différentes castes de la colonie sur un cadre de couvain [58].

La matière première dont est constitué le nid d'abeille est principalement la cire. La structure de ce nid est organisée en alvéoles hexagonales, qui permettent une utilisation optimale de l'espace pour stocker le miel, le pollen et élever les larves [59]. Les alvéoles du nid sont adaptées en fonction des différentes castes (ouvrière, faux- bourdon et reine) [55]. L'organisation et la taille de ces cellules jouent un rôle crucial dans le développement des différentes castes et assurent l'équilibre et la reproduction de la colonie [59].

1.1. Types d'alvéoles :

1.1.1. Alvéoles des ouvrières :

Ces alvéoles, de taille petite et dite standard, sont les plus répandues [55]. Elles mesurent entre 5,2 et 5,4 mm de diamètre [57], et chaque 01 dm² peut en contenir jusqu'à 857 cellules [60], [61]. Leur taille est adaptée pour accueillir les larves des ouvrières, qui deviendront des abeilles actives et productives. Elles sont toutes construites légèrement inclinées vers le haut, avec un angle de 13°, afin d'empêcher le miel de s'écouler [57].

1.1.2. Alvéoles des faux bourdons :

Les alvéoles réservées aux faux-bourdons sont plus grandes que celles des ouvrières, avec un diamètre moyen de 6,2 à 6,4 mm [57]. Une surface de 01 dm² peut ainsi contenir jusqu'à 600 cellules pour mâles [61]. Le taux d'alvéoles dédiées à l'élevage des faux-bourdons peut atteindre jusqu'à 17 % du couvain [60]. Elles sont principalement construites au printemps, lorsque la colonie a besoin de produire des mâles pour la reproduction. Ces cellules de faux-bourdons (figure 3), facilement différenciables de celles des ouvrières, sont operculées par des couvercles convexes en forme de dômes [55].

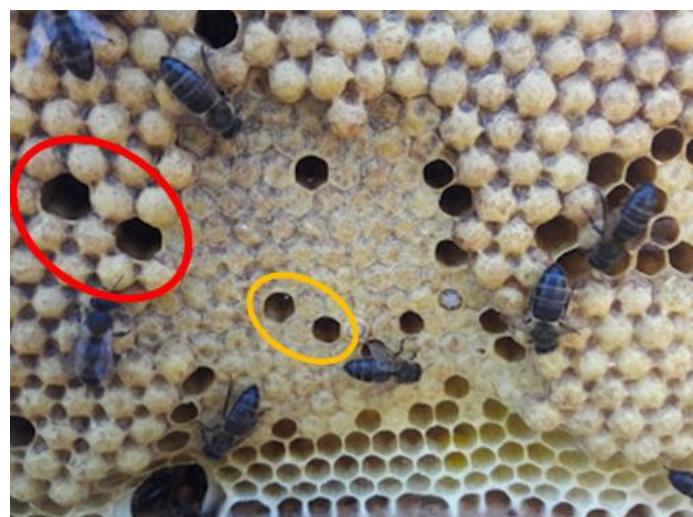


Figure 3: Couvain des ouvrières entouré par le couvain des faux bourdons (En rouge : les alvéoles des mâles, en orange : les alvéoles abeilles ouvrières), [Photo personnelle]

1.1.3. Alvéoles des reines :

Appelées cellules royales, ces alvéoles destinées à l'élevage des reines sont bien plus grandes que celles des autres castes. Elles sont à la fois allongées et plus larges, et s'étendent verticalement ou en biais vers le bas (figure 4). Leur nombre est très limité et elles ne sont construites que lorsque la colonie souhaite produire de nouvelles reines, que ce soit pour l'essaimage ou pour remplacer une vieille reine [55]. Contrairement aux alvéoles des ouvrières et des faux- bourdons, qui peuvent aussi servir à stocker les réserves de miel et de pollen, les cellules royales ne sont jamais utilisées à ces fins. D'ailleurs, ces cellules sont généralement détruites dès que les jeunes reines émergent de leurs cocons [62].

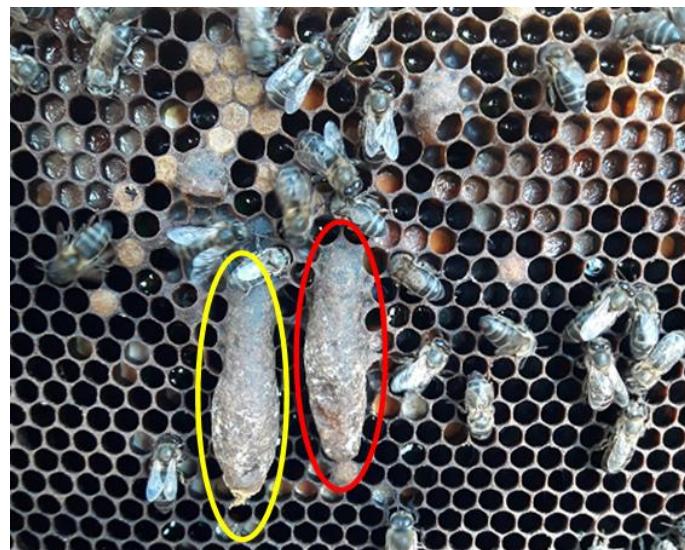


Figure 4: Deux cellules royales. (En jaune : cellule royale vide, en rouge : la reine n'est pas encore éclosé), [Photo personnelle].

1.2. Elevage du couvain :

Le couvain désigne l'ensemble des stades immatures du développement de l'abeille, incluant les œufs, les larves et les nymphes. Il représente le produit de la reproduction des castes fertiles, qui assurent la pérennité de la colonie (Tableau 1).

Tableau 1: Périodes de développement des castes d'abeilles mellifères [55].

Stade de développement	Reine	Ouvrière	Faux bourdon
Eclosion de l'œuf après :	3 jours	3 jours	3 jours
Operculation de la cellule après :	8 jours	9 jours	10 jours
Emergence de l'adulte après :	16 jours	21 jours	24 jours

1.2.1. Ponte des œufs :

La reine, seul individu capable de pondre des œufs fécondés, dépose ses œufs individuellement dans les alvéoles spécialement construites par les ouvrières (figure 5). Avant de pondre, elle inspecte chaque cellule à l'aide de ses pattes avant et de son abdomen, lui permettant ainsi de distinguer si l'alvéole est destinée à une ouvrière ou à un faux bourdon [57]. Cette reconnaissance est essentielle, car elle lui permet d'adapter sa ponte aux besoins de la colonie. En effet, les œufs fécondés sont déposés dans les cellules destinés à l'élevage des femelles, en l'occurrence les ouvrières et les reines. Tandis que les œufs non fécondés sont déposés dans les alvéoles destinés à l'élevage des faux bourdons [61].

Au moment de la ponte, l'œuf pèse environ 0,13 à 0,16 mg et il mesure 1,5 mm de long sur 0,4 mm de diamètre [63]. Sa position dans l'alvéole, ainsi que sa taille et son aspect permettent d'estimer son âge. En effet, l'œuf fraîchement pondu est déposé d'une manière perpendiculaire à la base de l'alvéole. Il est de forme allongée, blanc et translucide. L'œuf de deux jours d'âge s'incline obliquement par rapport aux parois de la cellule. A ce stade, l'œuf est légèrement opaque et peut commencer à montrer une petite distinction au centre, où la pré-larve se forme. Au bout de troisième jour, l'œuf adopte carrément une position couchée. Il devient plus opaque, sa membrane commence à se dissoudre et la pré-larve devient plus visible. Elle se développe progressivement, jusqu'à ce qu'elle déchire la membrane de l'œuf pour permettre la sortie de la larve [64].



Figure 5: Ponte des œufs dans les alvéoles de cire. [Photo personnelle].

1.2.2. Stade larvaire :

Après trois jours d'incubation, l'œuf éclot et prend la forme d'une larve translucide, qui commence à se nourrir de gelée royale et de bouillie larvaire, une préparation nourrissante à base de nectar et de pollen, produite par les abeilles nourricières [65]. La larve grossit rapidement, change de couleur, passant de translucide à plus opaque, et prend une forme de "petit ver" blanc très visible. Au cours des premiers jours, elle se déplace et modifie constamment sa position à l'intérieur de l'alvéole. Vers le cinquième ou sixième jour, une fois qu'elle atteint sa taille maximale, la larve cesse de croître [57]. À ce stade, les ouvrières recouvrent les alvéoles de cire ; c'est l'operculation. La larve se prépare alors à entrer dans la phase nymphale. Le stade larvaire chez l'abeille est donc une période de croissance rapide et de transformation, où la larve passe environ six jours en développement actif, puis trois jours operculés, avant de subir sa métamorphose complète en nymphe [55].

1.2.3. Stade nymphal :

À l'intérieur de l'alvéole operculée, la larve poursuit son développement et commence à sécréter des fibres de soie à partir de ses glandes séricigènes, situées près de sa bouche. Elle utilise ces fibres pour confectionner son cocon. En effectuant plusieurs rotations sur elle-même, elle applique soigneusement ces fibres contre les parois de l'alvéole, jusqu'à ce qu'elle prenne une position finale, la tête dirigée vers l'opercule [66].

Une fois entièrement enveloppée dans son cocon, qui sert de protection physique, la larve entre dans la phase de nymphose. Pendant cette phase, ses organes subissent une différentiation progressive, marquant le début de la métamorphose complète. À mesure que cette transformation se déroule, la nymphe se transforme lentement en une abeille adulte, prête à émerger de l'alvéole operculée et à rejoindre la colonie [55].

1.3. Ontogenèse des castes :

Les colonies d'abeilles domestiques sont composées de dizaines de milliers d'ouvrières femelles stériles, de centaines à des milliers de faux-bourdons saisonniers et d'une seule reine [57]. En pleine saison, une colonie d'abeilles peut

compter plus de 40 000 individus [55]. Les castes d'abeilles mellifères se répartissent entre individus fertiles, capables de se reproduire, et individus non fertiles.

1.3.1. Individus fertiles :

1.3.1.1. Reine :

La reine, seul individu fertile de la colonie capable de pondre des œufs fécondés, joue un rôle crucial et capital dans la cohésion et la pérennité de l'espèce [67], [68]. Elle est la caste femelle la plus fertile avec une durée de vie bien plus longue que les ouvrières sub-fertiles [69]. En effet, elle peut vivre de 2 à 3 ans [70], voire plus [71], [72]. Tout au long de sa vie, elle donne naissance à de multiples générations d'abeilles de différentes castes [55]. Lorsqu'elle est en pleine ponte, elle peut pondre jusqu'à 2000 œufs par jour, l'équivalent de son propre poids quotidiennement [16].

La morphologie de la reine est différente des autres castes. Son poids varie de 200 mg à l'émergence pour atteindre 300 mg une fois fécondée. Elle possède un corps allongé, mesurant 20 à 25 mm. Son abdomen est long et suffisamment large pour contenir ses organes reproducteurs [55]. Bien qu'elle possède un aiguillon (dard), la reine n'utilise pas sa piqûre pour se défendre, mais plutôt elle l'use lors de la sélection naturelle entre les jeunes reines consœurs. De plus, son dard est lisse, ce qui lui permet de s'en servir à plusieurs reprises sans risque de le perdre sous le corps de la victime. Ses ailes apparaissent plus petites par rapport à son corps très effilé, ce qui limite sa capacité à voler aisément et très longtemps [55]. En effet, la reine ne sort généralement pas de la ruche, sauf lors du vol nuptial où elle quitte temporairement sa colonie pour s'accoupler avec plusieurs faux bourdons. Nonobstant, cette faiblesse de l'appareil allaire de la reine est en réalité en faveur des faux bourdons aux ailes puissantes et vigoureuses, qui leur permettent de voler bien plus vite pour rattraper la reine afin de la féconder en plein vol dans la nature [73].

Une fois une colonie d'abeille décide d'initier un élevage royal, soit pour remplacer l'ancienne reine ou pour se multiplier par essaimage, les ouvrières choisissent des œufs avec micropyles (diploïdes) ou des très jeunes larves issues des œufs fécondés pour les nourrir exclusivement avec de la gelée royale [62]. L'incubation de l'œuf dure 3 jours [55]. Et pendant cette période, les ouvrières

maçonne (bâtisseuse) construisent les cellules royales sous forme des glands, en allongeant les alvéoles contenant les œufs ou les larves élues à devenir des reines [62]. Puis s'amorce la deuxième phase qui dure 5 à 6 jours, où la larve grandit très vite et développe les ébauches des organes de reproduction. Une fois la cellule est scellée, la larve se transforme en pro-nymphes, préparant son cocon pour une métamorphose complète. Cette étape est caractérisée par la différentiation de ses organes, notamment la formation de l'appareil reproducteur. La phase nymphale dure 7 à 8 jours pour enfin donner naissance à une jeune vierge reine, après un cycle évolutif de 16 à 17 jours post-ponte [61].

La gelée royale est l'alimentation exclusive aussi bien des larves royales que de la reine adulte tout au long de sa vie [55]. C'est pour cette raison que les reines gardent un minimum de rythme de ponte, même pendant les conditions défavorables, car cette substance est secrétée par les glandes hypopharyngiennes et les glandes mandibulaires des jeunes ouvrières, âgées entre 5 à 15 jours. Cette stratégie lui permet d'assurer des générations d'ouvrières nourrices à tout moment de l'année [74].

1.3.1.2. Faux bourdons :

Les faux-bourdons apparaissent pendant la saison de reproduction des abeilles, dont la période varie en fonction de la région et du climat [44]. Ils peuvent représenter jusqu'à 10% de la population adulte de la colonie [75]. Leurs deux principales fonctions sont la fécondation des reines vierges et la participation à la thermorégulation au sein de la colonie [76]. Le faux bourdon est l'individu le plus gros de la colonie, avec un poids à la naissance qui varie de 197 à 262 mg [56]. Il possède des puissantes ailes et il est caractérisé par un corps robuste et trapu et un abdomen arrondi. Contrairement aux castes femelles, le mâle est dépourvu d'aiguillon pour piquer. Dès lors, il est incapable de se défendre. Par contre, il est caractérisé par une longue paire d'antennes et sa tête est surmontée de deux gros yeux, lui permettant de repérer facilement les reines vierges, en plein vols nuptiaux, dans les sites de congrégation [55].

Dans des alvéoles conçus pour l'élevage des mâles, et à l'inverse des ouvrières et les reines, les faux bourdons sont issus à partir des œufs haploïdes (non fécondés) : c'est la parthénogénèse. Après le troisième jour post-ponte, l'œuf

éclot et donne naissance à une larve. Pendant les trois premiers jours, elle est nourrie avec de la gelée royale, puis avec de la bouillie larvaire (ou gelée nourricière) jusqu'à l'operculation de l'alvéole au dixième jour [55]. La morphogenèse du système reproducteur des faux bourdons commence pendant le stade larvaire [77]. La larve continue de se développer pendant trois jours de suite pour enfin commencer à sécréter son cocon qui la fixe aux parois de l'alvéole. Pendant cette période, elle prend jusqu'à 2200 fois son poids initial, atteignant environ 350 mg au treizième jour. Le quatorzième jour, la larve se transforme en nymphe et poursuit son développement jusqu'au vingt-quatrième jour. Les ailes entament leurs bourgeonnements vers le seizième jour. C'est à ce moment aussi que les yeux commencent à changer de couleur, de rose très clair au violet foncé. Vers le vingt-troisième jour, la pilosité du faux bourdon commence à se développer et ses ailes prennent leur forme définitive [78]. A la fin de son cycle ontogénique, qui dure 24 jours (figure 6), le jeune mâle grignote la cire obstruant son alvéole et sort de celle-ci.

Contrairement aux ouvrières, les mâles sont incapables de se nourrir seuls les premiers jours de leur vie. Ils seront donc nourris par les nourrices avec un mélange de bouillie larvaire et de miel [79], [80]. Après quelques jours, Les faux bourdons se nourrissent seuls de pollen et de miel dans les alvéoles en périphérie de la ruche [81]. Faute d'absence de corbeille à pollen et de leurs courtes langues, les faux bourdons ne participent pas à la collecte de pollen et de nectar [55].

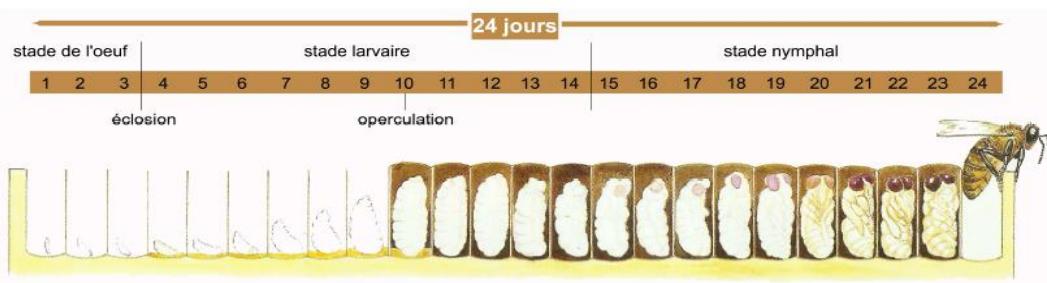


Figure 6: Ontogenèse des mâles (FB), de l'œuf au stade adulte [61].

1.3.1.2.1. Initiation de l'élevage de faux bourdons :

L'élevage des mâles ou gestion des ruches à mâles vise à produire des faux bourdons très tôt en début de la saison apicole ou de maintenir l'élevage des mâles très tard possible en fin de saison [61]. Cette pratique importante a pour objectif de peupler les stations de fécondation, de réactiver et de redynamiser les DCAs le plutôt possible

autour des ruchers et de fournir des mâles pour l'insémination artificielle. Pour cela, il est important de choisir des colonies fortes et saines, avec un faible taux d'infestation en varroa. Pour initier l'élevage des faux bourdons, il faut obliger la reine à pondre des œufs non fécondés. A cet effet, les apiculteurs professionnels ont recours à plusieurs techniques, à savoir :

1.3.1.2.1.1. Colonies à vieilles reines :

Les apiculteurs ont tendance à garder longtemps possible les reines des colonies championnes en production du miel. Mais à long terme, les spermathèques de ces reines élites (sélectionnées) s'épuisent de leur réserve en spermatozoïdes, mais continuent quand même de pondre des œufs non fécondés (reines bourdonneuses) [55]. Cette pratique courante et simple, nécessite tout de même de renforcer les réserves (miel et pollen) de la colonie et de lui apporter régulièrement du couvain d'ouvrières naissant de façon à avoir beaucoup de nourrices pour s'occuper de la reine, de couvain et des jeunes mâles.

Si toutefois, une reine d'une souche sélectionnée se trouve toujours en pleine performance reproductive, l'apiculteur peut en servir pour lancer l'élevage de reines. A la naissance des jeunes reines, claustres dans des cages pendant plus de quatre semaines, la fécondation est empêchée. La jeune reine n'ayant pu se faire féconder durant les quinze premiers jours de sa vie ne pondra que des mâles [61].

1.3.1.2.1.2. Elevage spontané des faux bourdons :

Cette méthode consiste à choisir une ruche d'une bonne lignée génétique pour produire des faux bourdons sélectionnés. Le principe consiste à incorporer dans la colonie, au milieu du couvain fermé, un cadre dépourvu de cire gaufrée. Le vide créé entre les cadres du couvain oblige les ouvrières à bâtir un rayon à mâles (figure 7). La taille plus large des alvéoles de mâles déclenche chez la reine la ponte d'œufs haploïdes, produisant ainsi des faux bourdons [82].

1.3.1.2.1.3. Utilisation des cadres à mâles :

Il existe sur le marché des cadres à mâles en plastique ainsi que des cadres à cire gaufrée à alvéoles larges. A défaut, l'apiculteur peut utiliser la cire standard, en la découpant en deux tiers, puis la fixer sur un cadre et le placer entre le couvain et les cadres des provisions (figure 8). Les abeilles bâisseuses le construisent naturellement

en cellules d'ouvrières et prolongent la partie non gaufrée par des cellules plus larges, destinées aux mâles [61].



Figure 7: Initiation spontanée de l'élevage des faux bourdons. [Photos personnelles].



Figure 8: Cadres d'élevage des FB (A : avec cire gaufrée, B : en plastique) [61].

1.3.2. Individus non fertiles (les ouvrières) :

Dans une colonie d'abeilles domestiques, les ouvrières constituent la majorité de la population. Leur proportion varie en fonction de la saison et de l'état de la ruche. Pendant la saison de reproduction, elles représentent entre 90% et 98 % de la population de la colonie (figure 9), compte tenu de la présence des mâles [55]. Lorsque les faux-bourdons sont expulsés de la ruche à la fin de la

saison de reproduction ou lors des périodes de disette en nectar, ce sont les ouvrières, avec la reine, qui restent seules occupants de la colonie.



Figure 9: Cadre du couvain d'ouvrières, avec une portion du couvain des FB (en bleu). (Ce cadre du couvain reflète les proportions des effectifs de la colonie en ouvrières et en faux bourdons). [Photo personnelle].

Les ouvrières sont les seules individus non fertiles de la colonie car le développement ovarien est inhibé par les phéromones de la reine et du couvain [83], à l'exception des ouvrières pondeuses, appelées fausses reines, qui peuvent apparaître exceptionnellement lorsqu'une reine est absente pendant une longue période, c'est la reproduction par parthénogénèse arrhénotoque [84]. En effet, en l'absence des phéromones de la reine, les ovaires des ouvrières non fertiles peuvent devenir actifs et elles se mettent à pondre des œufs non fécondés, donnant ainsi naissance à un couvain composé uniquement de faux bourdons, ce qui conduit à une colonie bourdonneuse [85].

A part la tâche de reproduction, les ouvrières sont vouées à exercer toutes les fonctions requises pour le bon fonctionnement et la survie de la colonie (tableau 2). En effet, ce sont des travailleuses polyvalentes, capables de s'adapter à différents rôles au sein de la ruche. Leur organisation sociale est basée sur la coopération et la spécialisation des tâches qui varient selon leur âge [55]. En effet, juste à sa naissance, la jeune abeille ouvrière commence par nettoyer son propre alvéole des restes de cocon et des excréments larvaires, et ce pour accueillir une nouvelle ponte. Elle continue à nettoyer les cellules des rayons et à assurer l'entretien du couvain pendant ainsi trois jours de suite [86]. Puis, elle devient nourricière des larves et prend soin de la reine jusqu'à l'âge de 14 jours [87], [88].

Ceci grâce au développement maximal de ses glandes hypopharyngiennes et mandibulaires qui produisent la gelée royale [74]. A partir du dixième jusqu'au quinzième jour d'âge, ses glandes cirières abdominales deviennent capables de produire et de secréter les lames de cire sous forme d'écailles de 0,2 à 0,5 mm d'épaisseur [89]. À cet âge, les ouvrières se transforment en bâtisseuses et maçonneuses, spécialisées dans la réparation des alvéoles et la fabrication des rayons composant le nid de la ruche. Pendant la troisième semaine d'âge, les ouvrières endossent le rôle de ventileuse puis celui de gardienne et piqueuse pour assurer la défense de la colonie. Ce n'est qu'à partir du 21e jour d'âge que les ouvrières deviennent butineuses, chargées d'apporter de l'eau à la ruche et de récolter le nectar, le miellat, le pollen et la propolis [90]. En se rendant de fleur en fleur, elles contribuent à la pollinisation des plantes, un rôle vital pour l'écosystème [22].

Cependant, cette chronologie de rôles et de missions n'est pas toujours de règle car les abeilles ouvrières prouvent une grande adaptabilité dans la répartition des tâches en fonction des besoins [86]. D'ailleurs, il a été constaté qu'un manque de butineuses induit un développement accéléré des jeunes ouvrières pour prendre le relais. Au contraire, un manque de nourrices induit un ralentissement du développement des ouvrières vers le butinage ou parfois même les butineuses redeviennent des nourrices pour s'occuper du couvain et de la reine [85]. En règle générale, pendant la période d'activité des abeilles, les jeunes ouvrières, âgées de deux à trois semaines, sont responsables des tâches spécialisées à l'intérieur de la ruche. Les tâches extérieures, quant à elles, sont assurées par les ouvrières plus âgées, lors des deux à trois dernières semaines de leur vie [91]. En revanche, pendant la période d'hibernation, il n'y a pas de division du travail au sein de la grappe hivernale, la seule tâche commune étant de maintenir collectivement la température idéale (34°C) pour assurer la survie du couvain et de la colonie [92].

Tableau 2: Emploi du temps d'une abeille ouvrière dans la ruche [55].

Jours post émergence	Tâches
1 – 2 jours	Nettoyer les cellules et réchauffer le couvain.
3 – 5 jours	Nourrir les larves plus âgées avec du miel et du pollen.
6 – 10 jours	Nourrir les jeunes larves avec de la gelée royale.
11 – 18 jours	Mûrir le nectar, produire de la cire et construire les rayons.
19 – 21 jours	Garder et ventiler la ruche.
+ de 22 jours	Butiner le nectar, le pollen, l'eau et la propolis.

Toutefois, cette liste des tâches énumérées ci-dessus est non exhaustive, car les abeilles ouvrières accomplissent pas mal d'autres missions, comme la régulation de l'humidité et de taux du gaz carbonique dans la ruche, la réception des apports butinés, le stockage des réserves, transformation du nectar en miel par trophallaxie suivi d'évaporation après stockage dans les alvéoles, élaboration du pain d'abeille, préparation de bouillie larvaire, polissage des alvéoles, soins prodigues à la reine, operculation des alvéoles, colmatage des trous par la propolis, transmission d'informations sur les sources de nourriture par la danse (éclaireuses), cannibalisation ou élimination du couvain malade ou non désiré, évacuation des déchets et des cadavres à l'extérieur de la ruche (éboueuse), régulation de la population des mâles, repérage des nouveaux sites de nidification lors de préparation d'essaimage naturel [93].

En somme, les abeilles ouvrières ont des caractéristiques morphologiques spécifiques adaptées à leurs tâches essentielles : nettoyage, soin au couvain et à la reine, construction des rayons, stockage des réserves, ventilation, butinage et défense de la ruche. Cette panoplie de tâches et de rôles est réalisée par le plus petit individu de la colonie, portant l'espérance de vie d'une ouvrière ne dépasse pas généralement 3 à 4 semaines en saison active, par contre elle peut atteindre jusqu'à 6 mois en hiver [94]. Elle pèse de 100 à 120 mg. Sa taille est de 1,3 cm, avec envergure des ailes d'environ 20 à 25 mm [55]. Elle réalise son premier vol,

en moyenne, à l'âge de 15 jours [91]. Le corps de l'abeille est recouvert de poils, facilitant l'adhésion de graines de pollen. Ces pattes postérieures sont dotées de corbeille à pollen. Son abdomen se termine par un dard (aiguillon), qui est relié au sac à venin, lequel n'hésite pas à l'utiliser pour défendre sa colonie, malgré que la piqûre entraîne inévitablement sa mort [55].

Tout comme la reine, l'abeille ouvrière provient d'un œuf diploïde (fécondé). Son cycle ontogénique est similaire à celui du faux bourdon, mais il est plus court, ne dure que 21 jours. L'œuf reste trois jours au fond de l'alvéole avant que la larve n'éclose et commence à se nourrir de gelée royale. Après trois jours, les nourrices changent son alimentation en lui offrant de la bouillie nourricière [55]. La larve se développe rapidement et, au sixième jour de son stade larvaire, l'alvéole est opéculée. À ce stade, la larve cesse de se nourrir et entame sa transformation en nymphe. La pupe, protégée par son cocon, subit une transformation complète : sa peau se durcit, ses organes se différencient et ses ailes se forment. Après la phase nymphale, qui dure 12 jours, la jeune ouvrière ronge l'opercule de son alvéole et émerge pour rejoindre la colonie. Lors des trois premiers jours de sa vie active, elle est considérée comme immature, car elle ne peut ni voler ni piquer [57].

Chapitre 2

Anatomie des appareils reproducteurs des castes fertiles

2.1. Reine :

La reine est la mère de tous les individus de la colonie. Son appareil reproducteur est très développé. Sa principale mission est d'assurer la ponte des œufs [57]. En plus de sa fonction de pondeuse, la reine produit plusieurs phéromones qui régulent le comportement et la physiologie des abeilles ouvrières, assurant ainsi une organisation optimale de la colonie [27]. Ces phéromones, agissant comme des médiateurs chimiques, entraînent l'inactivation des ovaires de presque toutes les ouvrières de la colonie [95]. Cependant, malgré la présence de la reine, Visscher (1996) [84] estime que 0,01 % des ouvrières se mettent à pondre des œufs non fécondés, pouvant représenter jusqu'à 7 % des œufs mâles. Toutefois, ces œufs sont rapidement retirés par les ouvrières chargées de l'inspection et du soin du couvain.

L'appareil reproducteur de la reine des abeilles est un système complexe et hautement spécialisé, lui permettant de jouer son rôle central dans la reproduction et la pérennité de la colonie. Il est principalement composé de deux ovaires, des oviductes, une spermathèque unique associée à des glandes spermathècales, et enfin le vagin et l'orifice vaginal (figure 10).

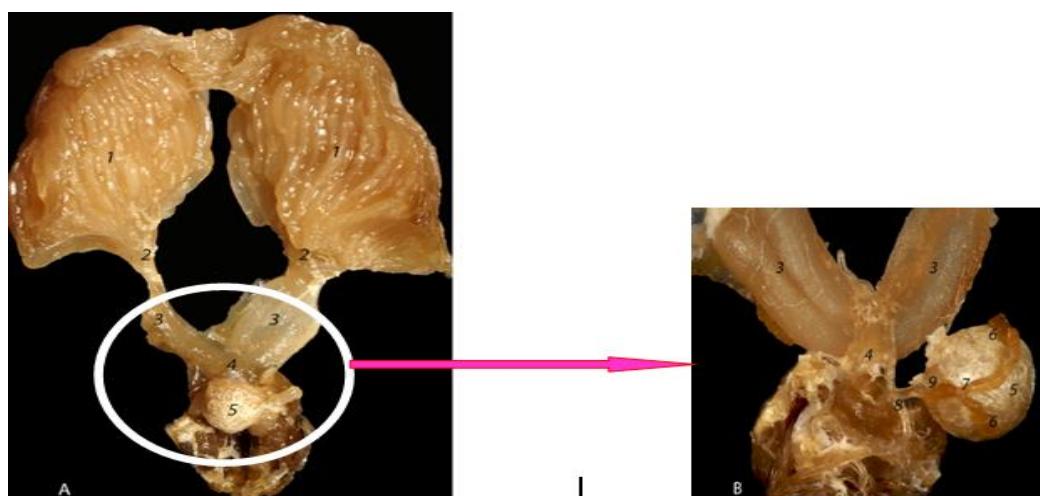


Figure 10; (A) Appareil reproducteur de la reine. (B) Région médiane de l'appareil. Ovaires (1), le calice (2), les oviductes latéraux (3) (l'oviducte droit est gonflé par les œufs), l'oviducte médian (4), la spermathèque (5) (recouverte d'un réseau trachéal)[96].

2.1.1. Ovaire :

Les pièces motrices de l'appareil reproducteur de la reine d'abeille sont les ovaires. Par leur taille démesurée et hypertrophiée, ils occupent une grande partie de l'abdomen. L'unité structurale de son parenchyme est composée d'ovarioles, en nombre de 100 à 220 par ovaire [47]. Ces ovarioles, sous forme de structures tubulaires, produisent en continu des ovules, permettant à la reine de pondre jusqu'à 1500 à 2000 œufs par jour en pleine saison [16].

2.1.2. Oviductes :

Les oviductes sont des tubes qui relient les ovaires au tractus génital de la femelle. Deux oviductes latéraux, émanant de chaque ovaire, se rejoignent pour former un court oviducte médian, qui se débouche dans la cavité vaginale de la reine. Leur rôle est de transporter les ovules vers le bas de l'appareil reproducteur pour la fécondation ou la ponte [97].

2.1.3. Spermathèque :

La spermathèque est un organe spécialisé de la reine où les spermatozoïdes sont conservés entre l'accouplement et la fécondation des œufs [98]. En effet, les reines stockent de grandes quantités de sperme qui restent viables pendant de longues périodes, parfois pendant plusieurs années [82]. La spermathèque se présente sous forme d'un petit sac globuleux, de diamètre d'environ 1 mm. Sa paroi est composée d'une couche unique d'épithélium cylindrique, tapissée intérieurement d'une muqueuse épaisse et recouverte extérieurement d'un vaste réseau de trachée [99]. Cette poche de stockage de la semence est connectée à l'oviducte médian via un canal spermatique. Ce dernier permet, d'une part, le remplissage de la spermathèque par la semence lors de l'accouplement, et d'autre part, l'acheminement des spermatozoïdes vers les ovules pour leur fécondation ultérieure [100].

2.1.4. Glande spermathècale :

Il s'agit d'une paire de glandes tubulaires, étroitement attachées à la surface de la spermathèque [101]. Des protéines similaires, présentant des profils identiques, ont été observées par Den Boer et al. [102], à la fois dans le liquide de la spermathèque et dans les sécrétions de sa glande. Cependant, l'épithélium de la spermathèque, lui-même, ne contient pas de structures glandulaires [103], ce qui

confirme que les glandes spermathècales sont bien la source des protéines présentes dans le liquide de la spermathèque [104]. Grâce à ses sécrétions nutritives, riches en protéines et en antioxydants, cette glande joue donc un rôle essentiel dans la viabilité et la survie des spermatozoïdes stockés [102], ainsi que dans leur protection contre le stress oxydatif [105].

2.1.5. Vagin :

Trois organes convergent vers l'orifice abdominal de la reine : au centre se trouve le dard, tandis que l'anus, en forme de poche, surplombe la partie supérieure, et l'orifice vaginal tapisse la partie inférieure de la cavité caudale [106]. L'orifice vaginal, dont le diamètre varie entre 0,65 et 0,68 mm, est relié au vagin [107]. Ce dernier est un conduit à paroi extensible, présentant de nombreux plis et anses, ce qui lui permet de modifier considérablement sa forme en fonction de la dilatation de l'abdomen. L'extrémité antérieure du vagin est directement raccordée à l'oviducte médian [106]. Il est le premier réceptacle de la semence lors des accouplements naturels ou de l'insémination instrumentale des reines.

2.2. Faux bourdons :

L'appareil reproducteur du faux bourdon est retroussé dans son abdomen, occupant presque sa totalité [108]. Du fait de leur longueur, les organes reproducteurs du mâle sont repliés en forme de S (figure 11). La courbe inférieure représente le bulbe de l'endophallus, la courbe médiane par le canal éjaculateur, et la courbe supérieure par ses testicules et les glandes accessoires disposées en paires : les glandes à mucus et les glandes séminales [106].

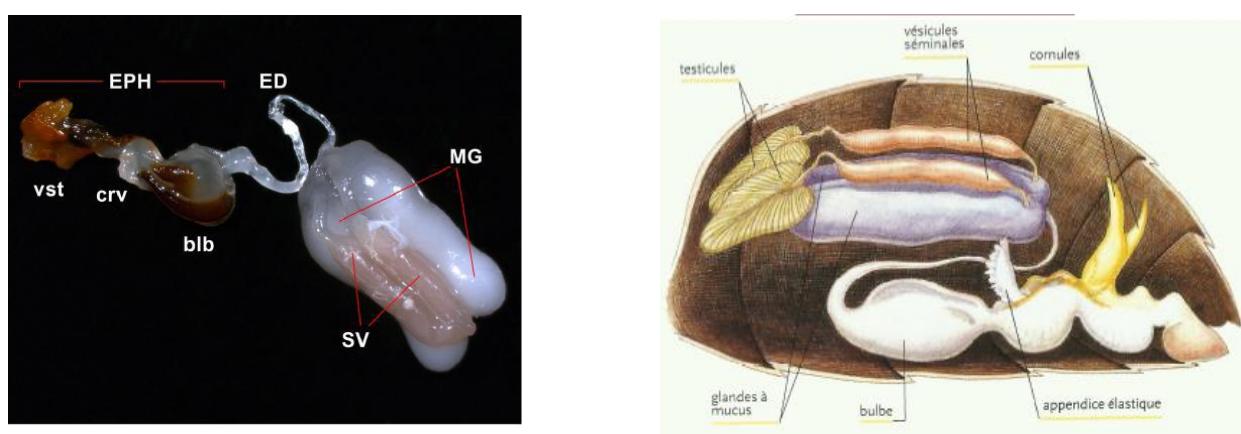


Figure 11: Organes de reproduction d'un faux bourdon. EPH : endophallus, blb: bulbe, crv : cervix (col), VST : vestibule, ED : canal éjaculateur, MG : glandes à mucus, SV : vésicules séminales (Photo : [109]; Dessin : [61]).

L'appareil reproducteur du faux bourdon se divise en deux sections. D'une part, les unités de production de la semence sont responsables de la synthèse, maturation et stockage des spermatozoïdes. Et d'autre part, l'organe copulatoire qui sert pour le transfert du sperme dans les voies génitales de la reine lors d'accouplement.

2.2.1. Unités de production et de maturation de la semence :

2.2.1.1. Testicules :

Le système reproducteur mâle d'*Apis mellifera* est composé d'une paire de testicules en forme d'une graine d'haricot, long de 5 à 6 mm chez le mâle nouveau-né [77]. Tout comme les ovaires de la reine, les testicules des mâles sont constitués de 150 à 200 tubules séminifères chacun [106]. En revanche, chez *Apis cerana*, chaque testicule ne contient que sept tubules testiculaires par gonade [110]. En raison du nombre élevé de tubules testiculaires, les mâles d'*Apis mellifera* sont capables de produire environ 10 fois plus de spermatozoïdes que les mâles des abeilles Méliponini, et 100 fois plus que les mâles des bourdons [111].

Tous les tubules testiculaires sont déjà présents dès le stade larvaire précoce et ils sont entourés individuellement d'une gaine péritonéale interne [112], contenant des cellules folliculaires nutritives et les gamètes [77], [113]. Leurs extrémités apicales se trouvent à la périphérie externe, près du péritoine, tandis que leurs parties basales sont tournées vers le centre, pour rejoindre tous à la fois le canal déférent ; le conduit qui transporte les spermatozoïdes des testicules vers la vésicule séminale [112]. L'ensemble du testicule est également entouré d'une gaine péritonéale appelée aussi capsule testiculaire. De nombreuses trachéoles traversent la capsule et s'étendent entre les tubules testiculaires, assurant les échanges gazeux [101], [111]. Au fur et à mesure que le capital spermatique est transféré dans les vésicules séminales, les testicules subissent une involution rapide et une réduction marquée de leur taille (Figures 12 et 13) [114]. Cette réduction de la taille des testicules est un indicateur de la maturité fonctionnelle des faux-bourdons [77].

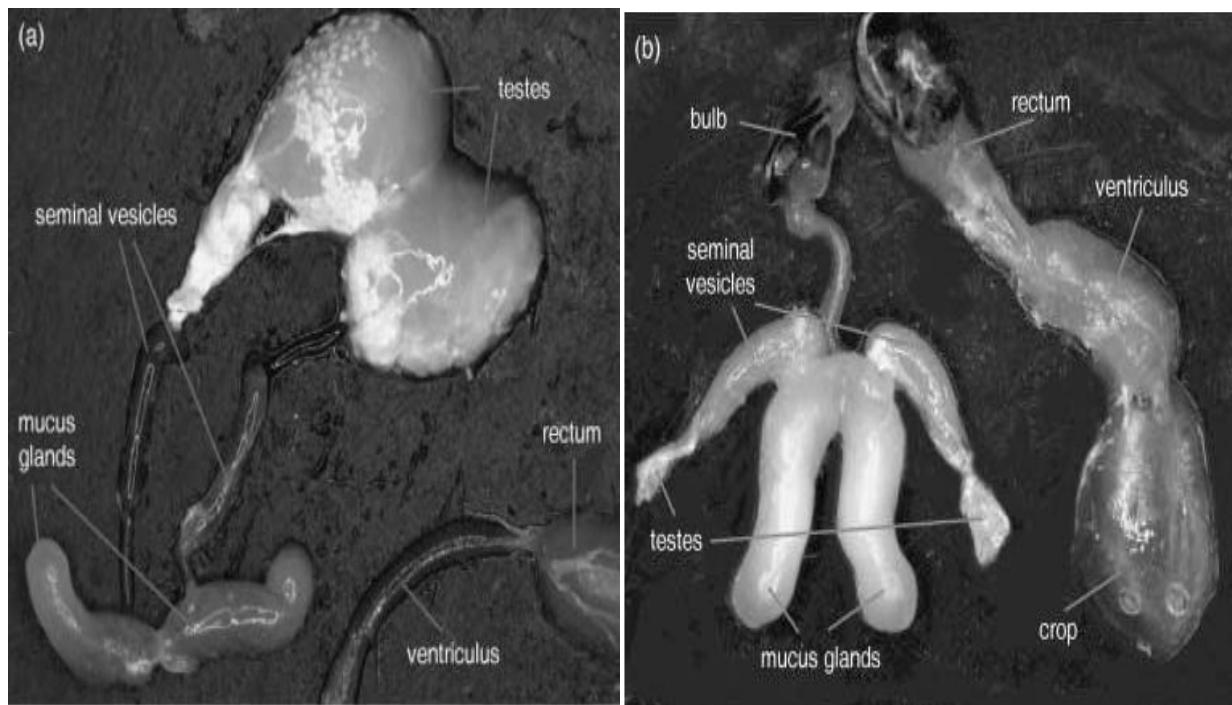


Figure 12: Différence spectaculaire entre la masse testiculaire d'un faux bourdon immature **(a)** et d'un FB mature **(b)** [115].

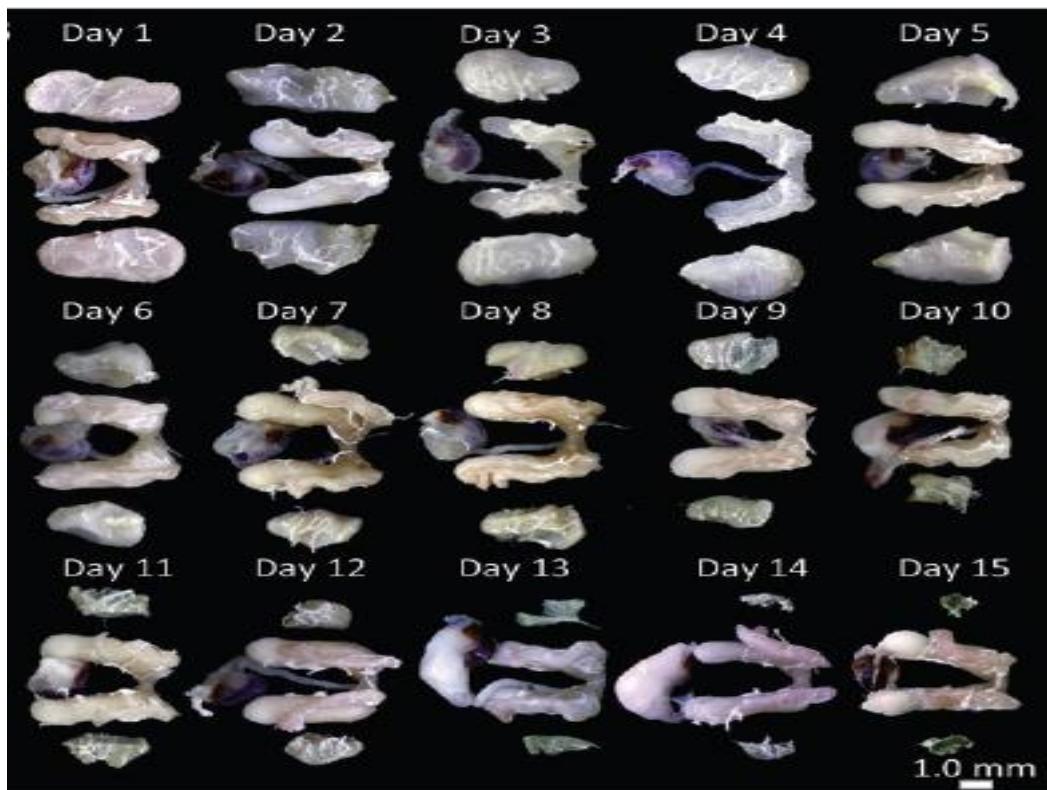


Figure 13: Evolution du développement de l'appareil reproducteur du FB, depuis l'émergence jusqu'à la maturité sexuelle [114].

2.2.1.2. Glandes séminales :

Le conduit qui sort du testicule est appelé canal déférent. Il s'élargit à mi-chemin pour former la vésicule séminale. Cette dernière est une glande paire qui mesure 1,5 à 3 mm de longueur, sur 0,5 à 1 mm de largeur. Son volume dépend du niveau de son remplissage en spermatozoïdes. Elle augmente de taille jusqu'au 5e jour post-émergence, avant de commencer à diminuer [54]. La paroi de la vésicule séminale est tapissée intérieurement d'une couche de cellules épithéliales à fonction glandulaire. Ces cellules secrètent un liquide nutritif qui permet de tenir en suspension les spermatozoïdes dans la lumière de la glande, lieu de leur stockage jusqu'à éventuelle éjaculation. En aval, les vésicules séminales s'ouvrent dans la partie proximale des glandes à mucus, qui elles-mêmes débouchent dans le canal éjaculateur, aboutissant au bulbe [106].

Les sécrétions des vésicules séminales sont essentiellement composées de protéines, mais peuvent également inclure des sucres et des lipides [116], [117]. Ces substances sont ajoutées aux spermatozoïdes et affectent toutes les phases de la physiologie reproductive de la reine fécondée, y compris la nutrition, la protection, le stockage, la viabilité et l'activation des spermatozoïdes [116]. De plus, en raison des accouplements multiples de la reine d'abeille, des composants du liquide séminal ont été supposés être décisifs pour le résultat de la compétition des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles [118]. D'avantage, elles affectent négativement les éjaculats des autres faux bourdons [119]. De ce fait, elles peuvent avoir un impact sur le conflit sexuel [120], [121]. En conséquence, selon Den boer et al (2008) [122], les sécrétions séminales doivent être sélectionnées pour soutenir les spermatozoïdes à un niveau élevé, car les mâles doivent, non seulement fournir un grand nombre de spermatozoïdes, mais aussi les motiver à atteindre la spermathèque et de maintenir leur viabilité tout au long du processus de stockage et de reproduction. D'ailleurs, Lago et al (2020) [112], ont conclu qu'il devrait y avoir une forte pression de sélection sur la production spermatique chez les mâles d'abeilles mellifères. Au final, cette compétition spermatique sévère conduit à des adaptations évolutives des mâles, visant à améliorer la fécondation des œufs par l'augmentation du nombre de spermatozoïdes et l'amélioration de leur motilité, mais aussi par la production accrue de liquide séminal [120], [123]. Il en résulte que la valeur d'un éjaculat dépend de la quantité et de la qualité, aussi bien des spermatozoïdes que des sécrétions séminales.

Chez l'abeille mellifère (*Apis mellifera*), les reines sont polyandres et copulent avec de nombreux mâles en succession rapide [98]. En l'absence de choix pré-copulatoire de partenaire [124], les composants du liquide séminal sont donc très probablement les moyens par lesquels les mâles peuvent influencer la physiologie des femelles et, ultimement, leur succès reproductif [125]. Les abeilles mellifères offrent une opportunité unique d'étudier les protéines des sécrétions séminales, car elles font partie des rares espèces d'insectes où le liquide séminal peut être prélevé directement chez le mâle [98]. Quoique, chez l'abeille sans aiguillon, *Melipona bicolor bicolor*, la vésicule séminale de cette espèce ne montrait aucune activité sécrétoire [126].

2.2.1.3. Glande à mucus :

Cette paire de glandes, d'origine mésodermique [127], se présente sous forme de grands sacs incurvés au niveau de la région postéro-ventrale de l'abdomen, dont les extrémités proximales se débouchent dans des canaux éjaculateurs latéraux et qui convergent en un canal éjaculateur commun. Ce dernier s'ouvre dans le bulbe de l'endophallus [77]. Cette glande rappelle l'image d'une cacahuète, composée d'une partie distale plus étroite et d'une partie proximale plus large, séparées par un rétrécissement. Le diamètre de la partie distale est d'environ 850 µm, tandis que celui de la partie proximale est d'environ 1100 µm. La longueur totale des glandes atteint environ 3700 µm [127].

Les glandes à mucus des mâles adultes sécrètent un fluide visqueux riche en protéines, peu de temps après leur émergence [128]. En effet, leur structure est marquée par un épithélium composé d'une seule couche de cellules sécrétrices. Elles produisent des sécrétions ayant diverses fonctions, notamment leur rôle lors du transfert de sperme [129]. C'est ainsi qu'elles contribuent à la formation du liquide séminal et l'activation des spermatozoïdes [113]. Sawarkar et Thembhare (2015) [130] ont supposé que les sécrétions des glandes à mucus jouaient un rôle important pour renforcer la connexion des partenaires en vol lors de l'accouplement. Après une copulation réussie, ce mucus blanc se durcit et forme le bouchon ou le signe de l'accouplement chez la reine [129].

Chez différents groupes d'insectes, les glandes à mucus présentent une grande variabilité en termes de taille, de forme, de nombre et d'origine embryologique [127], [130]. A titre d'exemple, chez les mâles de collembole

Allacma fusca (un insecte voisin d'araignée), ces glandes accessoires sont d'origine ectodermique [131]. Chez la drosophile, elles adoptent une forme de poire [127], tandis que chez les guêpes, elles ressemblent plutôt à des bananes [113]. En revanche, chez certaines espèces d'insectes, comme le phlébotome, la glande à mucus est absente totalement [132]. C'est le cas aussi d'espèce d'abeilles *d'Apis Meliponini* [111] ou encore *Apis florea* où cette glande se trouve à l'état très rudimentaire [133].

2.2.1.4. Canal éjaculateur :

Le canal éjaculateur est un tube qui relie les glandes accessoires à l'endophallus. Son extrémité fourchue est raccordée au conduit en commun des glandes accessoires. L'autre extrémité, qui aboutit au bulbe de l'endophallus, est obstruée par une membrane chitineuse tendre, et qui ne se déchire que sous la pression de l'éjaculat [106].

2.2.2. Organe copulatoire ou endophallus :

Alors que les insectes mâles possèdent généralement des ectophallus (organes d'accouplement externes), le faux bourdon est doté d'un endophallus, reporté entièrement à l'intérieur de l'abdomen, dans la région ventrale. Il est retroussé dans celui-ci à la manière d'un doigt de gant [106]. Il se développe ontogénétiquement à partir de l'ectoderme [134].

L'extrémité distale de l'endophallus forme le bulbe, en forme d'ampoule, qui reçoit le canal éjaculateur. Il est plus ou moins large et muni intérieurement de deux plaques chitineuses en forme de virgules [135]. La partie intermédiaire, mince et légèrement courbée vers le haut, correspond au cervix (col). Tandis que l'extrémité proximale constitue le vestibule, doté de deux petites cornes bien saillantes [134]. En plus des deux paires de glandes accessoires (séminale et à mucus), le faux bourdon possède deux autres types de glandes sexuelles au niveau de son endophallus : la glande bulbeuse et les glandes des cornules.

2.2.2.1. Glande bulbeuse :

Le bulbe représente une glande sécrétoire. Comme l'ensemble de l'endophallus, son épiderme est principalement mince et flexible, constitué d'une cuticule membraneuse recouverte d'un épithélium monocouche. L'épithélium de la glande bulbeuse est composé de cellules glandulaires dorso-latérales et de cellules

plates sur la face ventrale [134],[136]. Au début de la vie adulte, l'épaisseur de l'épithélium dorsal atteint déjà plus de 100 µm. Elle continue d'augmenter avant de commencer à diminuer autour du sixième jour d'âge. L'épithélium ventral montre également une légère augmentation d'épaisseur avant de commencer à s'amincir progressivement. Il est recouvert d'un mucus tout au long de la vie adulte du faux bourdon [136].

2.2.2. Glandes des cornules :

Deux crochets, sous forme de petites cornes, émanent de part et d'autre du vestibule. Ces structures sont des glandes à membranes cuticulaires, tapissées d'épithélium glandulaire [134]. Ces glandes秘rètent une substance visqueuse et collante, de couleur orange (allant de jaune-rougeâtre au rouge-brunâtre selon la concentration). Chez les faux bourdons nouvellement émergés, la quantité de pigments augmente à partir du troisième jour, pour atteindre un maximum au sixième jour d'âge [134].

La fonction biologique de cette sécrétion est liée aux processus d'accouplement. En effet, elle renforce l'attachement du bouchon copulatoire dans la chambre du dard de la reine [137]. Mais aussi, elle contribue à la formation de la couche externe du signe d'accouplement. Selon certaines études, les faux bourdons préféreraient saisir et accoupler les reines avec un signe d'accouplement. Ce dernier joue le rôle d'un marqueur optique pour attirer les mâles d'abeilles, connus pour avoir une bonne vision [134]. Ainsi, le signe copulatoire facilite et possiblement accélère la fréquence d'accouplement lors du vol nuptial de la reine polyandbre [138].

2.2.3. Appareil reproducteur du FB : (Ontogénèses, spermatogenèse et spermiogenèse).

Chez les faux-bourdons d'*A. mellifera*, le système reproducteur se forme dès le développement embryonnaire. Les testicules apparaissent juste avant l'éclosion de l'œuf (non fécondé) et se développent très rapidement [77]. Leur croissance rapide est due à l'elongation des tubules testiculaires qui donnent naissance aux cellules germinales [112]. La spermatogenèse commence au troisième jour du stade larvaire [139]. Les cellules germinales, les plus différenciées (plus âgées), se trouvent dans les segments basaux des tubules testiculaires [112]. Ces cellules

poursuivent la spermatogenèse dans des cellules folliculaires, formant ainsi les spermatogonies [140]. Après plusieurs mitoses, les spermatogonies deviennent des spermatocytes primaires. Dès la percolation des alvéoles, ces dernières subissent une méiose réductionnelle pour donner des spermatocytes secondaires haploïdes [77].

Le spermatocyte haploïde subit, à son tour, une méiose non réductionnelle, donnant naissance à deux spermatides sphériques [112]. A ce stade, la spermatogenèse s'achève avant l'entrée en phase nymphale [77]. Marquant une pose de deux à trois jours après le début de la mue pupale, la spermiogenèse commence par la différenciation morphologique des spermatides (développement de flagelle), où tous les spermatozoïdes sont produits avant l'émergence des faux bourdons adultes [112], [139]. Ainsi, les faux bourdons ont une quantité prédéterminée de sperme dès leur naissance [77].

En résumant, très tôt en phase larvaire, les testicules du faux bourdon bourgeonnent et commencent à produire les cellules germinales qui se développent progressivement en spermatogonies, spermatocytes, spermatides et enfin en spermatozoïdes, définissant ainsi des zones histologiques de croissance, de maturation et de transformation dans le parenchyme testiculaire [140]. En phase finale, les spermatozoïdes matures se regroupent en spermatodesmes [140],[141]. Après l'émergence des faux bourdons, les spermatozoïdes se trouvent prêts à migrer des testicules vers les vésicules séminales, où ils seront temporairement stockés [121]. Suite à cette migration, les testicules rétrécissent, s'aplatissent et montrent des signes de dégénérescence [110].

2.2.4. Morphologie et morphométrie de spermatozoïde :

Comme chez la plupart des insectes, les spermatozoïdes d'abeille *Apis mellifera* sont assez longs et filamentueux (figure 14). La tête, relativement petite et étroite, renferme un noyau en forme de bâtonnet et un acrosome allongé situé à l'avant du noyau [142]. Son flagelle effilé est constitué d'un axonème ayant une structure microtubulaire. Généralement, la longueur totale de la cellule spermatique varie entre 250 et 270 µm [143]. La tête mesure environ 10 µm de long et entre 0,4 et 0,5 µm de large [144]. Toutefois, pas mal d'auteurs ont rapporté des valeurs morphométriques très diverses en raison du moment du prélèvement (début ou fin de saison de reproduction), les colorations choisies pour la préparation des frottis

spermatiques et les procédés de mensurations adaptées [145], [146]. Chez les mâles de race Buckfast, selon les différentes colorations utilisées, la longueur totale du spermatozoïde varie de 226,56 µm à 242,59 µm. La longueur de la tête varie de 7,71 µm à 8,08 µm, tandis que la longueur du flagelle varie de 204,31 µm à 226,16 µm [146]. Par ailleurs, ces paramètres morphométriques de la cellule spermatique varient aussi en fonction de l'espèce ou de la race d'abeille étudiée. Le tableau suivant (N° 3), résume les résultats de quelques études relatives aux mensurations du spermatozoïde de quelques types d'abeilles :

Tableau 3 : Mensurations du spermatozoïde de quelques types d'abeilles.

Espèce	Longueur (µm)			Auteurs
	Total	Tête	Flagelle	
<i>Apis mellifera Linnaeus</i>	217,57	7,52	210,05	[147]
<i>Apis mellifera Ligustica</i>	230.81	7.85	222.96	[148]
<i>Apis mellifera Carnica</i>	273.50	9.43	264.07	[145]
<i>Apis mellifera Buckfast</i>	230 à 238	8,74 à 8,97	221 à 229	[149]
<i>Apis Melipona bicolor</i>	80	9,2	70,8	[150]

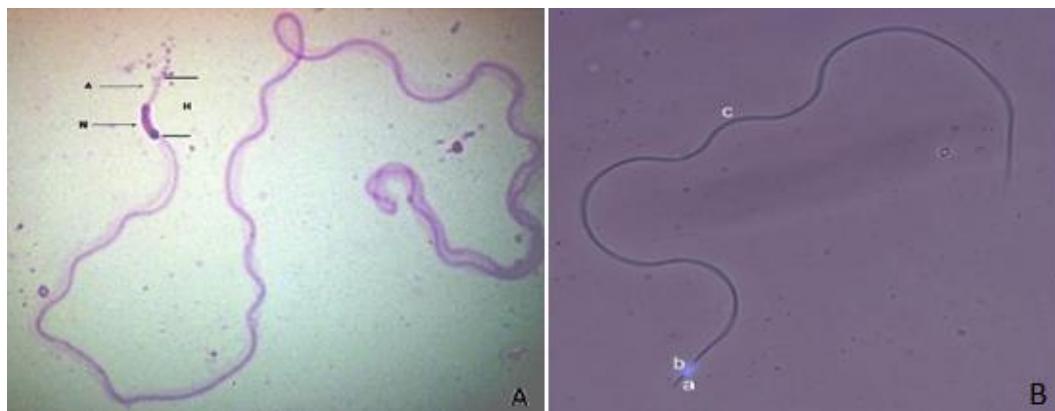


Figure 14 : Cellule spermatique du FB (A: Spermatozoïde filamentux avec un très long flagelle [146] ; B : Spermatozoïde vivant illustré par la fluorescence bleue (Hoechst) a : l'acrosome, b : le noyau, c : le flagelle [151]).

Chapitre 3

Reproduction des abeilles mellifères

3.1. Multiplication des colonies (essaimage) :

Chez la plupart des insectes sociaux, les nouvelles colonies sont fondées par des reines solitaires, qui quittent le nid parental, sans être accompagnées d'ouvrières [152]. Cependant, chez les abeilles mellifères, l'essaimage est le mode de reproduction naturel des colonies, où les reines quittent les ruches mères, accompagnées d'effectifs d'ouvrières et de faux bourdons (figure 15), à la recherche de nouveaux foyers [153]. Ce phénomène se produit généralement au printemps et au début d'été, permettant aux nouvelles colonies de construire leur nid et de stocker suffisamment de réserves pour affronter l'hiver [154]. Deux aspects du cycle de vie d'une colonie d'abeilles peuvent se chevaucher partiellement : la présence de la reine et l'essaimage [155]. Lors de préparation à l'essaimage, l'effectif des ouvrières augmente intensément, suivi d'un pic de production de faux bourdons [156]. Ainsi, les essaims disposent du plus grand nombre de mâles pour féconder les futures reines vierges.

Dans le bassin méditerranéen, le pic de production de faux bourdons a lieu en mois d'avril et de mai, ce qui coïncide avec la saison d'essaimage [56], ainsi qu'avec la période durant laquelle la plupart des nouvelles reines sont élevées [157]. Avant même la naissance des jeunes reines, la reine mère quitte sa ruche, avec une partie de sa population pour former un essaim primaire, pouvant convoiter les deux tiers de la colonie [158]. En effet, le poids d'un essaim peut varier de 0,2 Kg à 5,3 Kg [159]. Mais aussi, des essaims secondaires de petites tailles, peuvent par la suite se former sous l'égide des nouvelles jeunes reines [160]. Cependant, pour *Apis mellifera intermissa*, connu par son caractère très essaimeuse, les vieilles reines quittent rarement leurs ruches d'origine pour fonder de nouvelles colonies ; ce sont plutôt les jeunes reines qui sont souvent à l'origine de la formation des essaims, aussi bien primaires que secondaires [155], [161].

Les facteurs prédisposant à l'essaimage chez les populations d'abeilles restent encore méconnus. Toutefois, l'âge de la reine et le surpeuplement de la colonie sont des causes souvent mentionnées dans la littérature [153]. En effet, avant l'essaimage, le nombre d'ouvrières augmente dans le nid jusqu'à un point critique où l'espace devient insuffisant, ce qui déclenche la fièvre d'essaimage chez les ouvrières, qui se

mettent aussitôt à construire des cellules royales sur les bords des cadres du couvain [152]. Le nombre de cellules royales construites est en corrélation positive avec la densité de la colonie [162]. Par ailleurs, la congestion du couvain peut aussi induire le comportement d'essaimage. En effet, selon Winston et al (1980) [160], les colonies commencent à éléver de nouvelles reines, lorsque plus de 90 % de leurs rayons de couvain sont utilisés. D'autre part, une répartition d'âge biaisée en faveur des jeunes ouvrières est également associée à l'essaimage [158]. L'engorgement et l'augmentation de la taille de la colonie rendent la navigation de la reine à travers les rayons très restreinte, ce qui pourrait réduire l'effet d'imprégnation des phéromones royales. La diminution de la concentration de ces substances produites par la reine au niveau de la périphérie du nid, peut aussi contribuer au déclenchement du phénomène d'essaimage [158], [163].

Des études de modélisation, utilisant chaque paramètre individuellement, ont montré que chaque facteur ne conduisait pas à l'essaimage que lorsque toutes les autres variables atteignaient leurs seuils respectifs, suggérant ainsi que ces paramètres sont fortement corrélés [164]. Cependant, d'autres facteurs d'ordre social et environnemental peuvent induire la division des colonies, même si elles sont jugées inaptes à l'essaimage [158]. Dans tous les cas, l'initiation de l'élevage massif de reines constitue la première étape visible de la préparation à l'essaimage [165]. Pour que la reine puisse voler avec son essaim sur de longues distances, elle doit avoir un poids léger. C'est pour cette raison que les ouvrières lui imposent une restriction alimentaire, 10 à 14 jours avant l'essaimage [166]. En contraste, quelques jours avant le départ de l'essaim, les ouvrières commencent à se gorger de miel, qui leur servira comme principale source énergétique lors de la recherche d'un nouveau site de nidification [167]. Le jour venu, l'essaim quitte rapidement la ruche en masse et maintient une formation nuageuse, pendant environ vingt minutes [155], avant de se regrouper en une grappe et de former un bivouac sur un site temporaire aux alentours du rucher [158]. L'attente dure quelques heures à un ou deux jours. Pendant ce temps, des ouvrières éclaireuses se lancent à la recherche d'un nouveau refuge [168]. Une fois, le choix fait, l'essaim décolle vers son nouveau site de nidification.

La distance parcourue par un essaim vers le nid choisi, déduite du rythme de la danse des éclaireuses [153]. En effet, elle varie de 300 à 4 000 mètres pour les abeilles européennes [169] et en moyenne 4,7 Km pour les abeilles africanisées [170]. Par conséquent, l'essaimage permet donc la division des colonies et la dispersion

géographique des abeilles vers de nouveaux habitats [153]. Cependant, ce phénomène représente un enjeu économique majeur pour l'apiculteur, car il entraîne une perte d'abeilles et de miel [154]. Mais aussi, il réduit le taux de survie des colonies essaimées, d'environ 50% [163]. En zone tempérée, seules 8 à 24% des colonies mères survivent à leur premier hiver, contre 45 à 78 % des colonies filles [90]. Des études rapportent que l'essaimage entraîne généralement une perte de 40 à 80 % de la population d'abeilles ouvrières adultes [57], [171]. Cet effondrement en nombre d'ouvrières réduit drastiquement les rendements apicoles et cause des pertes sèches aux apiculteurs [172].

Pour cela, le contrôle des colonies d'abeilles et les inspections régulières des ruchers sont impératifs et constituent les pratiques les plus fiables pour prévenir l'essaimage et récolter ou piéger les essaims formés. Toutefois, cette méthode est chronophage, laborieuse pour l'apiculteur et stressante pour les abeilles [172]. Raison pour laquelle nombreux chercheurs s'efforcent à développer des systèmes de surveillance automatiques à distance des ruches, capables de détecter les signes précurseurs de l'essaimage, tels que : l'élévation de la température et la diminution des réserves de la colonie [154], utilisation des vibrations acoustiques [153] avec modélisation algorithmique [155] et la vidéosurveillance d'activité des abeilles, intégrant un processus d'apprentissage et l'intelligence artificielle [173].



Figure 15 : Essaim d'abeilles sur une branche d'arbre. [Photo personnelle].

3.2. Reproduction des castes fertiles :

3.2.1. Maturation des faux bourdons :

Après un cycle de développement de 24 jours, les faux bourdons imagos (adultes) émergent de leurs alvéoles pour rejoindre la colonie. A ce stade, ils sont nourris par les ouvrières nourrices, pendant quelques jours, avant qu'ils puissent se nourrir tout seuls mais sans autant quitter la ruche. A leur naissance, leur système reproducteur est encore immature, faudrait-il encore quelques jours pour qu'ils deviennent pubères.

A l'émergence, les organes reproducteurs des faux bourdons continuent de se développer et subissent des changements rapides pendant leur maturation sexuelle [114]. En effet, entre trois et huit jours post-émergence, les spermatozoïdes produits dans les testicules, migrent vers les vésicules séminales, lieu de leur maturation (figure 16), où ils absorbent des nutriments pour devenir pleinement fonctionnels [174]. Cette migration des spermatozoïdes vers les vésicules séminales peut se poursuivre jusqu'au douzième jour post-émergence [143]. Ils demeurent ensuite dans le liquide séminal jusqu'à l'éjaculation [115]. Quant aux gonades masculines, au fur et à mesure qu'elles se vident de leurs spermatozoïdes, elles subissent une atrophie progressive jusqu'à disparition complète [112], [114].

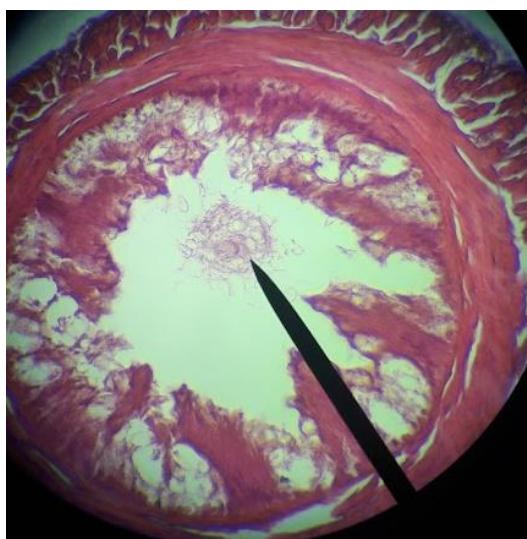


Figure 16 : Coupe transversale d'une jeune glande séminale. (Début de migration des spermatozoïdes depuis les testicules vers les glandes séminales). [Photo personnelle].

Pendant cette période, les glandes à mucus subissent des changements substantiels en fonction de l'âge. Elles se développent progressivement et accumulent des sécrétions, atteignant leur pleine maturité entre le sixième et le neuvième jour post-émergence [114], [127], [137]. A ce stade, leur sécrétion passe d'un fluide à un mucus visqueux légèrement alcalin [128]. Par ailleurs, l'activité de la glande bulbeuse atteint son pic maximal au cours des cinq premiers jours suivant l'émergence du faux bourdon [134]. De même, dès le deuxième jour post-émergence, la pigmentation orange commence à apparaître au niveau des cornules. La quantité de ces pigments augmente principalement entre le deuxième et le sixième jour d'âge [138].

Les sécrétions de ces trois glandes contribuent à la formation de spermatophores et préparent le tractus génital du faux bourdon pour un transfert fluide des spermatozoïdes lors d'accouplement. Toutefois, pendant cette période d'activité glandulaire, l'éjaculat est considéré comme n'ayant aucune capacité de fécondation, nécessitant quelques jours pour mûrir et acquérir un potentiel fécondant [175].

Ce calendrier d'activité glandulaire et de maturité des faux bourdons correspond au moment où ils commencent leurs vols nuptiaux. En effet, les mâles d'abeilles atteignent leur maturité sexuelle entre le douzième et le quatorzième jour post-émergence, c'est-à-dire plus ou moins quarante jours après la ponte de l'œuf [151], [176]. Puis les mâles resteront féconds jusqu'à la mort [61].

En somme, la maturité sexuelle des faux bourdons est déterminée par quatre éléments principaux qui sont : la migration complète des spermatozoïdes vers les vésicules séminales et l'atrésie des testicules, maturité des glandes accessoires et accumulation de leurs sécrétions, développement de la musculature du faux bourdon et capacité de déploiement de l'endophallus, et en fin l'acquisition d'aptitudes aux vols nuptiaux.

3.2.2. Vols des faux bourdons :

A l'approche de la maturation sexuelle, les muscles alaires des faux bourdons se développent davantage. Le taux d'hormone juvénile augmente progressivement au cours des premiers jours de la vie adulte, atteignant un pic lors

de la maturation sexuelle, ce qui stimule l'activité de vol [177]. Curieux et assez robustes, les faux bourdons commencent à explorer l'extérieur de la ruche entre le cinquième et le huitième jour d'âge [61], [178], [179]. Cet âge d'initiation au vol correspond au moment de la fin de transfert des spermatozoïdes des testicules vers les vésicules séminales [121]. En décollant du planché de vol, les faux bourdons pourraient mémoriser les caractéristiques environnementales autour de la ruche afin de pouvoir y retourner [180]. Toutefois, au retour, les faux bourdons peuvent dériver d'une colonie à une autre, et ils sont généralement facilement acceptés dans des colonies étrangères pendant la saison printanière [181]. L'initiation des jeunes mâles à la navigation aérienne commence par des vols stationnaires à l'entrée des ruches, suivie d'une ascension en spirale et de l'inspection des alentours du rucher [179]. En fait, les premières sorties avant la maturité sexuelle se limitent à des vols hygiéniques et de reconnaissance.

Bien que les différentes sécrétions des glandes accessoires sont déjà abondantes dès la première semaine de la vie du faux bourdon et que les spermatozoïdes acquièrent la capacité de fécondation une fois séjournés assez dans les vésicules séminales [121], ce n'est qu'entre le douzième et le quinzième jour d'âge [61], voire trois semaines [182] que les faux bourdons commencent à effectuer des vols vers les aires de congrégation. La possibilité de fréquenter régulièrement ces zones, influence la maturité sexuelle des mâles et augmente leur excitabilité [61].

Le nombre total des vols (d'orientation et nuptiaux) effectués par le faux bourdon au cours de sa vie est en moyenne 27 vols [179]. Les vols d'orientation, effectués par les jeunes mâles, étaient plus courts et plus fréquents que les vols d'accouplement. Ces vols permettent aux faux bourdons de se familiariser avec leur environnement et d'améliorer leurs capacités de navigation. Les vols d'accouplement, plus longs et plus espacés, sont destinés à la recherche de reines dans les DCA [179]. L'attente des faux bourdons et l'arrivée des reines à la DCA dure en moyenne 30 minutes avant de retourner à la ruche pour se nourrir [183]. En temps favorable, les faux bourdons peuvent effectuer plusieurs vols d'accouplement en une après-midi [179].

Quelques études empiriques ont évalué l'effet du vol sur la fécondité des faux bourdons. En effet, Rhodes [184] a montré que la quantité de sperme restant dans les vésicules séminales après l'éjaculation est plus élevée chez les jeunes

faux bourdons par rapport aux chevonnés des airs. Cela soutient l'hypothèse selon laquelle l'entraînement au vol contribue au développement de la musculature du faux bourdon, notamment les muscles abdominaux, qui jouent un rôle crucial lors de l'accouplement et du processus d'éjaculation. Par ailleurs, Hayashi et Satoh [121] ont étudié l'effet du vol sur la maturation sexuelle en comparant les drones ayant eu l'opportunité de voler et ceux en ayant été empêchés. Ils ont conclu que le vol n'avait pas d'impact significatif sur la maturation sexuelle et que l'augmentation de la concentration des spermatozoïdes dans les vésicules séminales n'était pas affectée par le vol.

En revanche, le vol pourrait réduire la fécondité des spermatozoïdes en réponse à d'autres fonctions vitales, comme l'immunité et la résistance à la température, car le maintien de la viabilité des spermatozoïdes a un coût métabolique [185]. Chez les insectes, le vol est l'activité la plus intense. De ce fait, les faux bourdons sont susceptibles de subir un stress oxydatif pendant le vol [186], ce qui pourrait entraîner une réduction de la viabilité des spermatozoïdes. En effet, les faux bourdons de plus de 21 jours d'âge, accumulant un temps de vol important, connaissent une diminution de la viabilité des spermatozoïdes [185], [187]. De même, la privation de vol et l'absence de défécation pendant leur développement, dues au confinement, pourraient également affecter la qualité et la mortalité des spermatozoïdes [42], [188].

3.2.3. C'est quoi une DCA (Drones Congrégation Area) :

Les DCA sont des zones de congrégation, ou lieux de rendez-vous, où se rencontrent les faux bourdons avec les jeunes reines vierges. Pendant la saison des accouplements, les mâles se rassemblent en hauteur dans l'air (figure 17), indépendamment de la présence de reines [182]. Ils proviennent de nombreux ruchers environnants, distants de 500 mètres jusqu'à 5 km [188], voire 7 km [182]. En utilisant une méthode de piégeage des faux bourdons et en recourant aux tests d'empreinte génétique, Baudry et al (1998) [189] ont démontré que 238 colonies, de ruchers différents, étaient représentées dans une seule DCA. Dans une étude similaire, 11000 faux bourdons, issus de 240 colonies, se rassemblent pour former une DCA [188].

Le sexe ratio reproductif chez les abeilles mellifères est d'environ 20 000 faux bourdons pour chaque reine vierge alors qu'une seule DCA peut contenir jusqu'à 30 000 mâles provenant de sources génétiques diverses [179], [188], ce qui reflète la compétition extrême lors des accouplements. Ce système de reproduction favorise l'hybridation et la diversité génétique aussi large que possible chez les abeilles [188]. C'est pour cette raison que les chercheurs ont conclu que les DCA constituent des centres de sélection naturelle où la représentabilité élevée des colonies réduit fortement la probabilité d'accouplement entre les faux bourdons et leurs sœurs reines. De plus, les résultats d'une étude, échelonnée sur deux ans, ont été rapportés par Cramp (2004) [190], concluant que les faux bourdons préfèrent les DCA les plus proches de la ruche, tandis que les reines préfèrent les DCA les plus éloignées. Ainsi, les mâles et les reines d'une même colonie ne choisissent pas la même DCA afin d'éviter la consanguinité.

Les DCA se situent dans des zones aériennes bien spécifiques et restent stables jour après jour, car les faux bourdons retournent fréquemment aux lieux où ils ont déjà détecté des phéromones de reine [191]. Mais aussi, elles réapparaissent aux mêmes endroits d'année en année [192]. En effet, des études ont rapporté que, chez les colonies d'abeilles, des générations successives de faux bourdons se trouvent fidèles aux mêmes DCA [181], parfois pendant plus de 50 ans [193]. Concluant ainsi, que les mâles d'abeilles montrent un grand degré de fidélité aux DCA [194].

Toutefois, l'expérience de navigation vers les DCA ne peut pas être transmise entre les générations de faux bourdons d'une saison de reproduction à une autre, car les mâles ne survivent jamais pendant l'hiver. De plus, les vols d'orientation des jeunes faux bourdons sont limités aux alentours des ruchers et le balancement aux vols nuptiaux se fait direct, sans exploration préalable [194]. Ce qui laisse penser que les jeunes mâles démontrent une capacité innée pour découvrir les DCA. Ceci grâce à des indices, appelés marqueurs d'essaims, qui peuvent être les cimes des arbres ou les sommets des collines [195]. En effet, des auteurs suggèrent que les mâles s'aventurent sur les pistes de navigation, en prenant le sud vers la ligne basse de l'horizon et en s'orientant par la couverture arborée afin d'intégrer une DCA [196]. Les zones de congrégation sont donc des emplacements imposés par le paysage et le relief entourant les ruchers et que les générations successives de faux bourdons devraient les découvrir instinctivement

et les animer à chaque saison de reproduction.

En général, les faux bourdons choisissent préférentiellement les DCA proches des ruches [188], loin des sources de perturbation telles que les routes et les habitations, à tel point que ces regroupements se reproduisent parfois même en mer, à 800 mètres des côtes [197]. Généralement, la plupart des DCA se trouvent sur la terre ferme, dans des espaces exposés au soleil [196] et près des arbres pour se protéger du vent [68].

Les DCA d'*Apis mellifera* se situent à des hauteurs de 5 à 60 mètres, cadrées par des repères géographiques proéminents pour l'orientation des mâles [198]. Par contre, les faux bourdons d'*Apis cerana* peuvent se rassembler à seulement 2 mètres au-dessus du sol [199] ou jusqu'à 50 mètres au-dessus de la canopée des arbres [200]. Alors que, les faux bourdons d'*Apis dorsata* choisissent de voler vers de grands arbres et se rassemblent près ou sous les branches [201], tandis que les faux bourdons d'*Apis koschevnikovi* se regroupent, plutôt, sous les cimes d'arbres plus bas [202].

Selon plusieurs auteurs, les emplacements des DCA et les horaires des vols nuptiaux des faux bourdons sont spécifiques à chaque espèce [202]. Mais aussi les conditions climatiques et les températures ambiantes sont déterminantes pour que les faux bourdons puissent rejoindre et animer les DCA. En effet, la plupart des chercheurs concordent à dire que les après-midis ensoleillées ou partiellement nuageuses, avec des températures supérieures à 20° C, sont les moments les plus favorables pour les déplacements des faux bourdons aux sites de congrégations [198].

Pour rejoindre les DCA, les faux bourdons empruntent des itinéraires spécifiques depuis leur colonie, en suivant généralement des reliefs ou des repaires linéaires du paysage, telles que des lignes d'arbres, des cours d'eau ou des routes, et parfois ils prennent de la hauteur pour suivre les sommets de collines [194]. Il semble aussi que le champ magnétique terrestre pourrait jouer un rôle dans l'orientation des mâles [191]. En général, les faux bourdons préfèrent le chemin le plus court vers les DCA, pour un accouplement rapide [74], surtout celles proches des ruchers, en raison d'une économie d'énergie et de la vulnérabilité aux prédateurs [188]. Bien que certains accouplements se produisent sur les trajectoires de navigation des faux bourdons [188], en raison de la

formation de boules transitoires et occasionnelles d'activité des mâles sur les voies de vol [203], les DCA représentent les palais nuptiaux des reines vierges [181] dont elles trouvent une variété génétique importante de partenaires en danse nuptiale.

Une fois sur les lieux, les faux bourdons se regroupent et volent en rond à des vitesses qui peuvent atteindre 12 kilomètres (km) par heure [203], formant ainsi une sphère d'un diamètre de 30 à 200 mètres [192],[203], connue sous le nom d'essaim de faux bourdons [194]. Cette sphère, sous forme d'un cumulus, est plus dense au centre qu'à la périphérie car la concentration et l'activité des faux bourdons sont plus intenses dans la partie centrale [190]. Dans une région abritant un grand rucher, Loper et al (1992) [203] ont pu répertorier 26 DCA. Le déplacement des faux bourdons, longeant les lignes d'arbres et des routes, forme un réseau de couloirs aériens de 18 km de long, sur 50 à 100 mètres de large. Ces DCA situées à une hauteur de 30 mètres, prennent la forme de cônes inversés, où la densité de faux bourdons diminuait avec l'altitude.



Figure 17 : DCA (Drones Congréation Area) [61].

3.2.4. Vol nuptial de la reine :

Les reines d'abeilles ne s'accouplent qu'au début de leur vie [185], [204]. Par la suite, la taille et la longévité de la colonie dépendent du nombre et de la viabilité des spermatozoïdes stockés dans leurs spermatheques [205]. En effet, les jeunes reines arrivent à la maturité sexuelle entre le troisième et le quatorzième jour d'âge [57], [206]. Attirées par la lumière et encouragées par les

ouvrières, les reines vierges prennent l'initiative de quitter leurs colonies. En réalité, les ouvrières adoptent un comportement agressif envers la jeune reine en la mordant, et parfois en formant une boule autour d'elle, pour lui provoquer un stress thermique. Cette hostilité bat son plein en début d'après-midi [207], [208], moment où les faux bourdons volent vers les DCA. Malgré ses manœuvres dissuasives par des sons et des vibrations, la reine se trouve forcée de sortir de la colonie et s'initier aux vols d'orientation de courte durée autour de la ruche [209], [210].

Environ une heure après le pic de départ des faux bourdons [192], les reines vierges entament leur navigation nuptiale vers les DCA les plus éloignées du rucher [211],[198], à une distance entre trois [208] et 17 km plus loin [212], ce qui oblige parfois les reines à butiner les fleurs sur leur trajet (figure N° 18), en quête d'énergie [213]. En temps favorable, les reines peuvent effectuer un seul vol [214], voire deux vols nuptiaux [109], et parfois plus [215],[206], au cours de deux à quatre jours [216],[208]. D'ailleurs, la reine peut effectuer des vols d'accouplement supplémentaires, le même jour ou les jours suivants, pour finaliser le processus de fécondation [190],[206]. Il a été suggéré que le nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque pourrait influencer la décision d'effectuer un vol supplémentaire ou de commencer la ponte [181], [217]. Au contraire, Woyke (2011) [218] affirme que la reine n'a aucun contrôle sur le nombre d'accouplements, ni sur le volume du sperme stocké.



Figure 18: Reine d'abeille mellifère (*Apis mellifera L.*), en quête d'énergie pour poursuivre son vol nuptial, elle se nourrit du nectar d'une fleur de bourrache (*Borago officinalis*) [213].

En fait, des études récentes estiment que 27 à 28 % des reines se trouvent contraintes d'effectuer plus d'un vol d'accouplement [181]. Cependant, la nécessité d'entreprendre davantage de vols augmente le risque de perte des reines. Effectivement, des chercheurs [219], [220] réalisent que 4 à 18 %, voire jusqu'à 29 % [221] de reines ne revenaient pas à leurs ruches lors des vols nuptiaux suite aux dangers externes de prédateurs et aux intempéries [181], ou même suite aux dérives vers d'autres colonies lors de leur retours [219], car les ouvrières tuent toute reine étrangère qu'elles détectent, sauf si leur propre reine a été perdue [220].

Ainsi, les reines prennent des risques lors de ces vols, qui devraient donc être aussi longs que nécessaire mais aussi courts que possible [190]. En pratique, lorsque les DCA sont richement peuplées par les faux bourdons, les vols nuptiaux durent généralement entre 10 et 30 minutes [210]. Puis elles retournent à leurs ruches une fois reçues suffisamment de sperme ou à défaut de manque d'énergie. En réalité, la durée dépend de l'éloignement des DCA et de l'abondance des faux bourdons, qui devraient être présents avant l'arrivée des reines vierges dans les zones de congrégation. En effet, dans une expérience visant à évaluer l'efficacité de la durée des vols nuptiaux, révèle que les reines fréquentées les DCA moins peuplées (5000 mâles) revenaient avec moins de semence, après plus de 30 mn de vol. Lorsque cette expérience répétée avec des DCA plus dense (15000 mâles), aucune reine n'a dû voler plus de 30 minutes, avec un taux de fécondation très élevé [190].

A la lumière de ces études, on conclut que les vols trop longs augmentent le risque d'une fécondation insuffisante, soulignant l'importance d'un nombre adéquat de faux bourdons pour un accouplement optimal. D'ailleurs, plusieurs auteurs affirment que chez de nombreuses espèces d'*Apis*, les agrégations importantes de faux bourdons, semblent faciliter et garantir des accouplements rapides et efficaces des reines d'abeilles (*Apis mellifera*: [222]; *Apis cerana*: [199] ; *Apis koschevnikovi*: [201]; *Apis dorsata*: [223]).

D'emblée et depuis leurs ruchers, les faux bourdons marquent leur trajectoire de navigation par les phéromones (sécrétions exocrines odorantes) des glandes mandibulaires et labiales, reconduisant ainsi, à la fois, les autres mâles

[224] et les jeunes reines [225] vers les DCAs. Une fois sur l'arène nuptiale, ces phéromones masculines facilitent la formation des DCAs [224] et modulent les interactions sociales entre les mâles [226]. A l'arrivée des reines à destination, et parfois sur les corridors même de vol nuptial, les jeunes vierges secrètent, à leur tour, des phéromones royales (9-ODA), d'origine mandibulaires, qui induisent l'attraction des mâles [227]. En plus de ce leurre olfactif, les reines émettent des signaux visuels à courtes distances, facilitant ainsi le rapprochement des mâles pour l'accouplement [73]. Les faux bourdons se précipitent alors et entrent en compétition acharnée, formant un essaim sous forme d'une comète, tout en essayant de se positionner favorablement afin de s'accoupler avec la reine [73], [228]. De toute évidence, les reines s'accouplent avec tout mâle capable de les capturer.

3.2.5. Accouplement :

Autrefois, des chercheurs pensaient que la fécondation des reines d'abeilles d'espèces *Apis* se faisait à l'intérieur même de leurs colonies. Pire encore, des hypothèses plus insolites stipulent que cette fécondation pourrait être conçue en butinant les fleurs. L'étude des rassemblements massifs de faux bourdons, à des moments réguliers de la journée et dans des endroits bien précis et constants, a finalement pu résoudre l'éénigme de la fécondation des abeilles, malgré que la constatation effective des accouplements au niveau des zones de congrégation reste très difficile (figure 19). La preuve irréfutable est apportée en utilisant des leurres imprégnés par les phéromones royales [212] ou par l'utilisation des reines vierges, attachées à l'aide d'un fin fil et reliées à des ballons d'hélium, puis relâchées au sein d'une DCA [228]. Naturellement, les mâles ne portaient aucun intérêt pour les reines passant à l'extérieur de cette zone. Par contre, une fois que la reine franchit la limite de la DCA, les mâles forment un véritable essaim et pourchassent la reine en vue de la féconder [61]. Et lorsque la reine quitte la zone, les faux bourdons interrompent instantanément sa poursuite et rejoignent le groupe [203].



Figure 19 : Accouplement de la reine avec un faux bourdon en plein vol [61].

Contrairement aux faux bourdons qui sont monogames, les reines d'abeilles d'*Apis mellifera* sont extrêmement polyandres. La copulation se déroule en plein vol, dans les zones de congrégation des mâles [135], à des fréquences d'accouplement allant de 10 à 26 fois [202], [207], [214]. D'autres auteurs rapportent que les femelles peuvent s'accoupler avec plus de 50 mâles [229], [230]. Cependant, chez les abeilles naines (*A. florea* et *A. andreniformis*), les reines de ces espèces reviennent avec le sperme de seulement 3 ou 4 mâles après un seul vol [202]. Alors que, l'espèce meliponini est exclusivement monogame [230].

La reine d'*Apis mellifera* peut s'accoupler séquentiellement avec plusieurs mâles au cours d'un même vol nuptial [215]. Après un chevauchement fugace de cinq secondes, l'éjaculation se produit. Le mâle ayant eu la chance de s'accoupler se paralyse et meurt quelques minutes après, car une partie de l'endophallus reste accrochée dans la chambre du dard de la reine [202], [231]. Puis vient un autre mâle, qui devrait préalablement nettoyer les voies génitales femelles des restes de son prédécesseur, avant de pouvoir s'accoupler avec la reine à son tour [232]. Les faux bourdons transfèrent des spermatozoïdes, du liquide séminal et du mucus dans le bulbe de l'endophallus éversé, puis éjaculent le sperme dans l'oviducte de la femelle [233]. Le mucus reste dans le bulbe de l'endophallus, ce qui aide à maintenir la connexion entre une reine en vol et le faux bourdon jusqu'à ce que le transfert de sperme dans les oviductes de la femelle soit terminé [202], [233]. Suite à ces accouplements répétés au bout de 15 à 30 minutes, l'accumulation des sécrétions des glandes à mucus des mâles lors du processus d'éjaculation, forme «le signe d'accouplement» au niveau de l'entrée de la chambre du dard de la reine [129].

3.2.5.1. Eversion de l'endophallus lors d'accouplement :

Lors de l'accouplement naturel chez *Apis mellifera*, l'endophallus du faux bourdon se fait expulser à l'extérieur de l'abdomen et se déploie, d'une manière irréversible, dans la cavité vaginale de la reine [208], [233]. Cette éversion se produit instantanément lorsqu'un faux bourdon agrippe la reine en vol nuptial. Mais aussi, elle peut également être reproduite manuellement, en vue de récolter la semence à des fins d'insémination artificielle ou pour des analyses spermatiques. Ce déploiement de l'endophallus résulte de la contraction des muscles abdominaux sous l'effet de l'excitation du faux bourdon ou encore par l'application d'une pression sur le thorax, causant l'augmentation de la pression de l'hémolymphé à l'intérieur de l'abdomen [233]. Ce processus d'accouplement est fatal, car le faux bourdon se paralyse et meurt aussitôt [218], [232]. L'éversion de l'endophallus se déroule en deux étapes :

3.2.5.1.1. Eversion partielle :

Suite aux contractions musculaires, l'endophallus est expulsé de la cavité abdominale par éversion. Dans un premier temps, c'est le vestibule et les cornules qui se déploient à l'extérieur (figure 20). L'extrémité fine et recourbée de l'endophallus s'insère dans la cavité vaginale de la reine, et les cornules servant de crochets pour maintenir le couple [218]. Subitement, le rétrécissement du conduit cervical (le col) bloque l'enchaînement du processus d'éversion, ce qui augmente la pression au niveau bulinaire. Le bulbe, rempli de mucus, ne peut pas passer à travers un canal aussi étroit et, en conséquence, l'éversion de l'endophallus marque un arrêt [233]. Tout comme *Apis mellifera*, l'éversion partielle se produit aussi chez les faux bourdons d'*Apis cerana* et d'*Apis dorsata* [78].

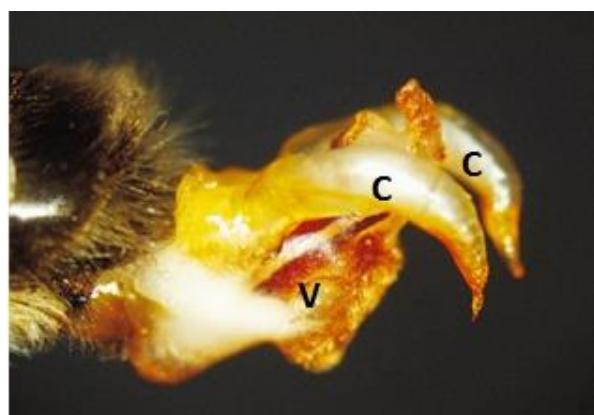


Figure 20 : Eversion partielle de l'endophallus. V : vestibule, C : cornules [233].

3.2.5.1.2. Eversion complète :

Après une courte pause et sous l'effet des contractions agonisantes et continues, le col finalement cède à la pression graduelle par l'ouverture de la paroi dorsale du canal cervical. A ce stade, le bulbe avec ses plaques chitineuses, s'engage à travers le col et poussé vers l'extérieur pour former une vésicule transparente à l'extrémité de l'endophalus (figure 21). Une pression accrue agrandit davantage la vésicule et élargit suffisamment le conduit cervical, ce qui facilite l'éjaculation du sperme dans les oviductes de la reine [233], puis les plaques chitineuses glissent hors du bulbe pour former le signe d'accouplement [218].

L'interphase de temps dans la jonction de ces deux étapes, engendre une augmentation de la pression à l'intérieur de l'endophalus, ce qui permet d'éjecter le sperme avec une grande force dans l'orifice vaginal de la reine. Cette éjaculation sous haute pression est particulièrement importante pour garantir un succès reproductif lors des accouplements multiples [233].



Figure 21 : Eversion complète de l'endophallus [129], [233].

3.2.5.2. Signe d'accouplement :

Ce signe, appelé aussi bouchon copulatoire, se forme et se loge dans la chambre du dard de la reine fécondée, entre l'apex de l'aiguillon et la dernière sternite ventrale [218]. C'est un tissu structurel obstruant momentanément l'entrée vaginale, afin d'éviter l'écoulement de l'éjaculat spermatique vers l'extérieur [234]. Il mesure 3,2 mm de long sur 1,6 mm de large, avec une hauteur de 1,75 mm [218]. Initialement, on croyait que le signe d'accouplement correspondait au bulbe, arraché de l'endophalus ou mordu par la reine. Cependant, Woyke et Ruttner

(1958) [235] ont réalisé finalement que ce bouchon est composé principalement des plaques chitineuses du bulbe, positionnées sur le côté ventral de la chambre du dard et enrobées par un mucus blanc, qui se coagule davantage sur la partie antérieure des plaques. Ce mucus sert à fixer le bouchon aux parois crâniales de la chambre du dard [218]. Tandis que la partie postérieure du bouchon qui dépassait de l'extrémité de l'abdomen, était constituée de membranes épithéliales provenant des glandes à mucus [129]. L'extrémité caudale du signe d'accouplement se termine par un fin filament (figure 22), sous forme d'une queue, servant probablement comme point d'attraction pour les ouvrières afin de nettoyer la chambre de dard de la reine, une fois qu'elle est retournée dans sa colonie [218].



Figure 22: Signe d'accouplements avec filament terminal [218].



Figure 23: Membrane orange [218].

Le signe d'accouplement est recouvert, de part et d'autre, d'une membrane orange (figure 23), qui correspondait à l'épithélium détaché des cornules lors de l'éversion de l'endophallus. Cette membrane se converge caudalement sur la surface dorsale du bouchon, pour former un amas très dense, de couleur orangée [218]. Cette masse orange joue le rôle d'un leurre optique afin de captiver davantage de faux bourdons pour l'accouplement [232], [236]. La coloration orange est issue des sécrétions des glandes des cornules. Ces sécrétions, de nature visqueuses et collantes, servent aussi à renforcer l'attachement du bouchon copulatoire dans la chambre du dard de la reine [137]. Pendant la première copulation, le bouchon copulatoire résultant ne porte pas de membrane orangée. Celle-ci est ajoutée par le faux bourdon suivant lors de sa tentative de fécondation. Ainsi, le signe d'accouplement, avec tache orange, résulte de deux accouplements successifs : le premier mâle dépose les plaques chitineuses et le mucus, le second y ajoute la membrane orange [218]. Lors d'accouplement subséquent, l'endophallus du nouveau faux bourdon faisait un accès entre le dernier sternite et le signe d'accouplement précédent. L'intrusion et l'éversion progressive de l'endophallus dans la chambre du dard, extirpait le bouchon laissé par le premier mâle [232]. Il arrive parfois que le bouchon d'accouplement soit recouvert de deux membranes colorées, c'est le signe que la dernière tentative d'accouplement est avortée [218]. La reine termine son vol nuptial lorsque le dernier faux bourdon ne parvient pas à retirer le signe d'accouplement précédent. La courbure, vers l'avant (figure 24), du filament terminal du bouchon copulatoire témoigne de cette tentative infructueuse [218].



Figure 24 : Signe d'accouplement du dernier faux bourdon [218].

3.2.5.3. Ejaculation et stockage du sperme dans la spermathèque :

Lors de l'accouplement, le sperme est éjaculé de l'endophallus dans la cavité vaginale, sous la pression du mucus sécrété par les glandes accessoires [129]. En raison du volume limité de la bourse copulatrice de la reine pour contenir tous les ejaculats, environ 10 % de l'éjaculat de chaque mâle est transféré vers son oviducte médian et ses oviductes latéraux au cours des accouplements (figure 25) [181]. La reine conserve un faible pourcentage de sperme de chaque mâle avec lequel elle s'est accouplée. En se référant au stock des spermatozoïdes dans les vésicules séminales [188], seulement 3 à 5 % de spermatozoïdes éjaculés de chaque faux bourdon sont stockés dans la spermathèque de la reine [208]. Au cours de ses vols nuptiaux, la reine collecte 8 à 10 µl de sperme dans ses oviductes et reçoit une moyenne de 87 millions de spermatozoïdes [237]. Or, la spermathèque ne peut en contenir que cinq à six millions [208], [231] et parfois moins (4,37 millions de spermatozoïdes) [238]. Par conséquent, les spermatozoïdes excédentaires sont éliminés à travers le vagin. Une fois que la reine a terminé son dernier vol nuptial, elle retourne à la ruche et commence à stocker le sperme dans sa spermathèque (figure 26). L'ensemble du processus de stockage des spermatozoïdes prend environ 40 heures. Les reines fécondées avec plus de sperme, ont tendance à stocker plus de spermatozoïdes et, par conséquent, à féconder les œufs pour une longue durée [67].

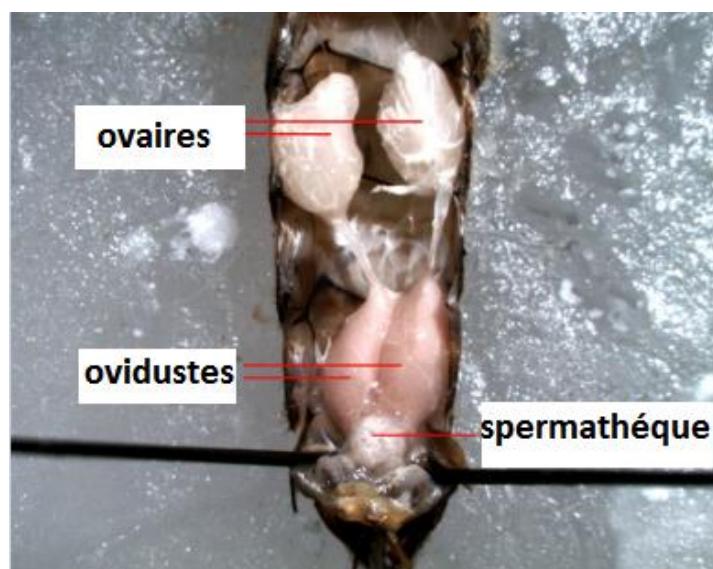


Figure 25 : Organe reproducteur d'une reine fraîchement fécondée, en rose : les oviductes latéraux bourrés du sperme des spermatozoïdes [109].

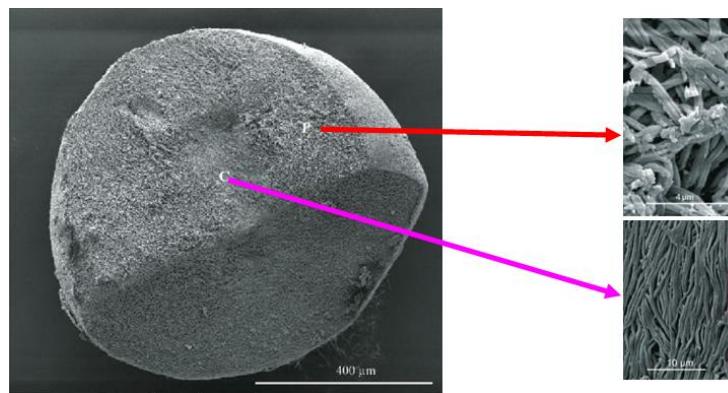


Figure 26 : Double coupe de la spermathèque d'une jeune reine d'abeille fécondée, vue au microscope électronique à balayage. Masse très dense en spermatozoïdes, C (centre): SPZ allongés en faisceaux, P (périmétrie): SPZ enrôlés et entrelacés [104].

3.2.6. Retour de la reine à la ruche et début de ponte:

Au retour de la reine dans sa colonie, les ouvrières se précipitent à retirer le dernier signe copulatoire pour nettoyer sa chambre de dard des restes des accouplements. L'activité des cellules neuro-sécrétrices des reines d'abeilles est marquée par deux phases importantes. La première correspond au démarrage des vols nuptiaux, et la seconde survient juste avant le début de la ponte des œufs [239]. En effet, les accouplements entraînent des changements comportementaux et physiologiques chez les reines revenant des DCA ; notamment l'arrêt des vols nuptiaux, l'activation du développement ovarien et le début de la ponte [239], [240]. Toutefois, les reines nouvellement fécondées passent par une période de latence avant de commencer la ponte. Cette période varie de 5 jours à 4 semaines [55], [204] et de 2 à 14 jours selon Uzunov et al (2024) [241]. Elle dépend fortement des conditions d'accouplement, de la saison, de la température à l'intérieur des colonies [181]. Mais aussi, cet âge de début de ponte peut varier d'une sous-espèce à une autre. A titre d'exemple, au Brésil, les reines d'abeilles africanisées présentent un démarrage de ponte échelonné entre le 9^{ème} et le 17^{ème} jour post-accouplement, avec une corrélation morphologique notable. En effet, les reines plus lourdes commencent la ponte plus précocement par rapport aux reines légères [221]. Pour éviter que les reines fécondées ne quittent de nouveau la colonie, le sperme des mâles modifie l'expression de gènes liés à la vision dans le cerveau des reines, réduisant la sensibilité à la lumière des ocelles et de leurs yeux composés, ce qui rend la navigation de la reines pleines extrêmement périlleuse [242].

3.2.7. Fin de vie des faux bourdons :

L'élevage des faux bourdons est un investissement important, mais très coûteux pour les colonies. C'est pourquoi les abeilles régulent activement les populations de mâles [55], [75], [243]. En fin de saison apicole et lorsque la période d'accouplement des reines est achevée, alors que les récoltes de nectar se raréfient davantage, les faux bourdons sont expulsés des colonies [69]. Les abeilles ouvrières les bloquent l'accès à la ruche et elles n'hésitent pas à les tuer s'ils se montrent trop insistants (figure 27) [61]. En dehors de la colonie, les mâles sont très vulnérables à la prédateur, à la famine et aux conditions climatiques défavorables [91]. En effet, les faux bourdons s'engourdissent très vite au-dessous de 20° C et meurent rapidement au-delà des températures de 40° C [61], [185].

En général, les mâles n'ayant pas la chance de s'accoupler avec les reines ont une durée de vie qui dépasse rarement six semaines [244]. Toutefois, la gestion apicole oblige parfois à prolonger la présence des faux bourdons dans les ruches et à maintenir leur élevage aussi tard que possible. Pour y parvenir, l'apiculteur devrait contrecarrer la disette de fin de saison, en simulant la miellée par le nourrissage des colonies avec du sirop à raison de 100 ml par jour. Une deuxième méthode consiste à orphelinier la colonie de mâles. Privée de la reine, la ruche maintient alors ses faux bourdons plus longtemps. Et pour prévenir l'apparition des ouvrières pondeuses (fausses reines), il convient d'introduire régulièrement du couvain ouvert, tout en détruisant, huit jours plus tard, tout élevage royal [61].



Figure 27: Elimination des faux bourdons à la fin de la saison de reproduction [61].

Chapitre 4

Semence des faux bourdons

4.1. Evaluation de la qualité spermatique des faux bourdons :

La récolte de la semence pour analyse et évaluation de la qualité spermatique des faux bourdons peut être réalisée soit par dissection des vésicules séminales [188], soit par éversion manuelle suivie d'un rinçage de l'endophallus [245] ou encore par collecte de la semence selon la méthode couramment utilisée pour l'insémination instrumentale des reines [246].

Le volume de la semence, le nombre de spermatozoïdes, la viabilité et la motilité ainsi que le pourcentage des malformations des spermatozoïdes sont les indicateurs majeurs qui reflètent la qualité spermatique des mâles [88], [109], [143], [247], [248], [249]. Le volume est mesuré suite à la collecte du sperme à l'aide d'une pipette micro-capillaire [109]. Le nombre de spermatozoïdes est déterminé, le plus souvent, par les cellules de comptage (cellule de Malassez : [250] et cellule de Neubauer : [251]).

Compte à la viabilité des spermatozoïdes, elle est souvent déterminée par l'utilisation des sondes fluorescentes (figures 28 et 29), pour marquer les noyaux des spermatozoïdes morts, comme : l'iodure de propidium (en rouge) et Draq5 (en orange), ou pour marquer les noyaux des spermatozoïdes vivants, comme : le SYBR-14 (en vert), Hoechst (en bleu), orange acridine (en vert), ainsi que le Calcein Violet pour marquer le cytoplasme (en bleu) des spermatozoïdes vivants [58], [143], [146], [151], [252]. Le comptage des spermatozoïdes (morts et vivants) sous microscope à fluorescence, après différentes colorations, est la méthode la plus utilisée pour évaluer la viabilité d'un échantillon spermatique. Toutefois, il existe pas mal d'autres techniques telles que la cytométrie en flux [253], [254] et l'analyse d'images par CASA, qui servent aussi à évaluer la motilité des spermatozoïdes [151], [249].

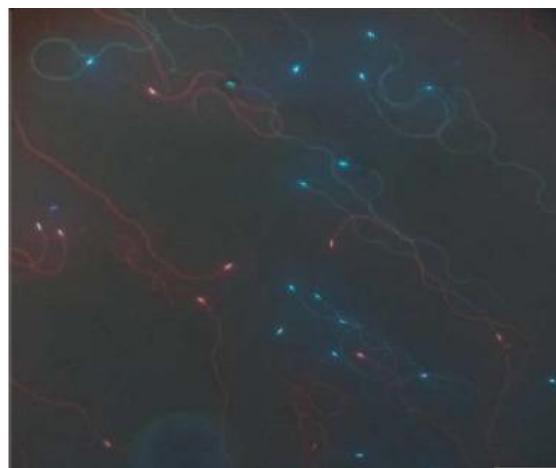


Figure 28 : Test de viabilité par évaluation de l'intégrité de la membrane plasmique à l'aide des colorants Hoechst/PI. (En bleu : SPZ vivants et en rouge : SPZ morts) [143].

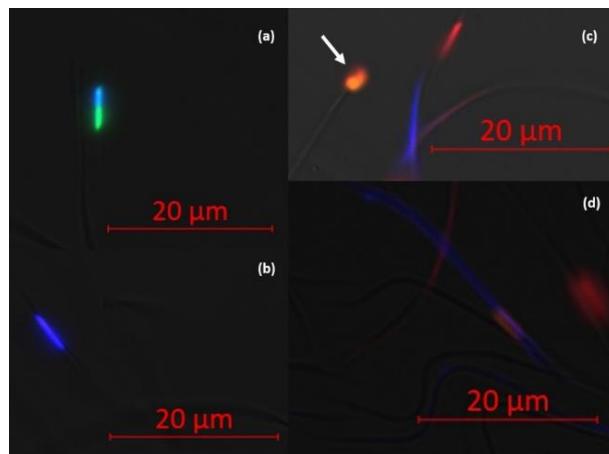


Figure 29 : Tests de viabilité des SPZ. [SYBR-14 (noyau en vert), Hoechst (noyau en bleu), Draq5 (noyau en orange), Propidium iodé (noyau en rouge), Calcein Violet (flagelle en bleu)] [252].

Chez les mammifères, l'évaluation de la morphologie des spermatozoïdes constitue une étape essentielle de l'analyse spermatique. En revanche, chez les mâles d'abeilles, ce test demeure encore très peu documenté [205]. Toutefois, les rares recherches menées à ce sujet ont mis en évidence divers types d'anomalies spermatiques chez le faux bourdon. Des altérations morphologiques du flagelle ont été observées, telles que des queues enroulées sur elles-mêmes, des flagelles

raccourcis ou en surnuméraires [149], [255]. D'autres anomalies concernent la tête du spermatozoïde, notamment des variations de la forme et de la taille du noyau (macro ou microcéphalie), des spermatozoïdes polycéphales, des acrosomes fléchis, courbés ou même absents [149].

4.2. Ejaculat spermatique du faux bourdon :

Différentes études rapportaient des résultats très variables quant au volume d'éjaculat des mâles d'abeilles. Selon Woyke (1962) [222], un faux bourdon sexuellement mature produisait entre 1,50 et 1,75 µl de sperme, contenant environ 11 millions de spermatozoïdes, soit une concentration de 7,5 millions de spermatozoïdes par µl. En revanche, des résultats plus récents, estiment que le volume moyen de sperme collecté chez les faux bourdons matures est de 0,7 µl, avec 5,73 à 6,25 millions de spermatozoïdes, soit une concentration de 8,38 à 9,16 millions de spermatozoïdes par µl [149]. En général, le volume spermatique d'un faux bourdon varie de 0,1 à 1,8 µl [256], [257]. La différence de ces résultats rapportés résulte de l'âge et de la taille des faux bourdons, de la lignée génétique, du statut nutritionnel, de la saison, mais aussi de la technique utilisée pour la collecte de la semence [46]. Les échantillons collectés à partir des glandes séminales des faux bourdons affichent des nombres de spermatozoïdes très éparses : 6,9 à 7,6 millions [174], [258], 8,6 à 9,2 millions [187], [188], 11,4 à 12 millions [259], [260]. Quant aux prélèvements réalisés sur éjaculation suite à l'éversion manuelle de l'endophallus, le nombre de spermatozoïdes varie de 1,5 à 10,5 millions [58], [261].

4.3. Facteurs influençant la qualité spermatique :

4.3.1. Age du faux bourdon et de la reine :

Plusieurs études ont montré que la sénescence des faux bourdons affecte négativement la qualité de la semence. Avec l'âge, le volume spermatique se réduit [46], [237] et sa viscosité augmente [204], [237]. La réduction du volume spermatique avec l'âge induit la production d'une semence foncée et très visqueuse, ce qui complique l'expulsion du sperme excédentaire par la reine après les accouplements [237]. Des auteurs concordent à dire qu'à l'âge de 21 jours, le faux bourdon produit un volume d'éjaculat adéquat avec un pic de concentration en spermatozoïdes [46], [262].

Quant à la viabilité, les ejaculats frais présentent une viabilité spermatique très variable, allant de 55 à 90 % [151]. Selon Locke et Peng (1993) [187], la viabilité spermatique passe de 86 % à 81 % entre J14 et J20 de la vie du faux bourdon. Et d'après Stürup et al (2013) [185], les mâles âgés de plus de 20 jours perdent 50 % de leur viabilité spermatique. Toutefois, d'autres études rapportent que l'effet délétère de l'âge n'altère pas le pouvoir fécondant des spermatozoïdes qui affichent, en tout temps, une viabilité constante [42], [262]. Cependant, une étude progressive, réalisée par Gençer et al (2014) [109], a montré une réduction d'environ 10 % de la viabilité des spermatozoïdes lors de leur passage des vésicules séminales (98,1%) vers les oviductes latéraux de la reine (88,7%), suite à la pression accrue exercée sur les spermatozoïdes lors de l'accouplement.

Des auteurs suggèrent que lors du passage des spermatozoïdes depuis les oviductes vers la spermathèque de la reine, les cellules spermatiques mortes ou présentant des malformations sont éliminées dans le flux spermatique excédentaire. Après le stockage des spermatozoïdes dans la spermathèque, leur viabilité peut également être variable, allant de 20 % à 100 %, avec des moyennes comprises entre 80 % et 98 % [238], [257]. L'effet de mélange de semences de plusieurs faux bourdons est incriminé [120], [263]. De même, une perte progressive de viabilité avec l'âge croissant de la reine a également été décrite [255], [264].

4.3.2. Poids de faux bourdon :

Gençer et Firalti (2005) [260] ont constaté que les petits faux bourdons, élevés dans des cellules d'ouvrières, avaient un désavantage reproductif par rapport aux grands mâles élevés dans des cellules de faux bourdons. Ces résultats sont soutenus par Bratu et al [149], rapportant que les gros faux bourdons (240 à 280 mg) affichaient une meilleure concentration spermatique que ceux inférieurs à 240 mg. De plus, ils présentaient des spermatozoïdes légèrement plus longs, mais avec une proportion accrue de malformations, sans pour autant altérer leur motilité (91 %). D'autre part, la taille des faux bourdons est relative à l'origine de l'œuf. En effet, les mâles issus des ouvrières pondeuses, dans le cas des colonies orphelines, présentent des poids nettement inférieurs à ceux issus des reines fécondées. Ils produisent moins de spermatozoïdes (8,62 contre 12,01 millions) par rapport aux faux bourdons issus de reines dans des colonies normales [260]. De plus, ils présentent plus d'anomalies spermatiques [56].

4.3.3. Température du couvain :

Une colonie d'abeille régule activement et en permanence la température de la ruche pour garantir des conditions optimales d'élevage du couvain [265]. En conditions normales, les faux bourdons sont élevés dans une zone du couvain maintenue à une température constante de 33 à 35 °C [57]. Malgré que l'élevage des mâles supporte des variations des températures optimales par rapport à celles requises pour le couvain des ouvrières [266], une différence de 4°C entre les températures minimales et maximales d'élevage du couvain, affecte la fertilité des faux bourdons et la qualité spermatique [267]. En effet, au-delà de 36°C, il a été constaté une diminution de nombre et de viabilité des spermatozoïdes chez les mâles [268],[267]. En revanche, à des températures de couvaison plus basses (32 °C), les nouveaux-nés faux bourdons présentent des testicules et des glandes annexes plus grandes. Cependant, une fois matures, ils affichent une faible capacité d'éversion d'endophallus et un volume d'éjaculat très réduit, tout en gardant un atout notable de viabilité (80 %) spermatique très élevée [267].

4.3.4. Origine Génétique :

La structure génétique d'une colonie influence le poids et la qualité des mâles d'abeilles [205]. Selon Rinderer et al (1985) [259], les faux bourdons européens pesaient plus (220,2 mg contre 194,6 mg) et possédaient plus de spermatozoïdes que les faux bourdons africanisés (5,7 millions contre 4,6 millions). De même, les faux bourdons d'*Apis mellifera ligustica* étaient plus lourds (232 contre 197 mg) et produisaient plus de spermatozoïdes (12,2 contre 10,6 millions) que ceux d'*Apis mellifera syriaca* [56]. Dans la même tendance, Taha et Alqami (2013) [269] ont constaté que les faux bourdons d'*Apis mellifera carnica* étaient plus lourds et produisaient encore plus de spermatozoïdes que ceux de l'abeille yéménite (*Apis mellifera jemenitica*). Ces derniers avaient également des organes reproducteurs (testicules, vésicules séminales et glandes à mucus) plus petits que ceux des faux bourdons carnioliens. Conformément à cette dynamique, l'étude réalisée par Rhodes et al (2011) [46] et qui porte sur l'analyse de la fertilité de quatre lignées génétiques différentes de faux bourdons, a clairement démontré que les mâles de l'une des lignées testées, produisaient un volume et un nombre de spermatozoïdes supérieurs, tandis qu'une autre lignée présentait des valeurs significativement plus faibles. En revanche, Rousseau et al [42], [44] rapportent que le nombre de spermatozoïdes et la viabilité des gamètes ne semblent pas

influencés par la lignée génétique.

4.3.5. Nutrition :

Les carences alimentaires, pendant le stade larvaire, affecte négativement le couvain d'abeilles et entraînent la diminution du poids et la tailles des ailes des faux bourdons, deux paramétrés qui peuvent être perçus par les apiculteurs comme des indicateurs de stress nutritionnels [270]. Ces indicateurs corporels peuvent être utilisés par les éleveurs de reines pour évaluer la qualité spermatique des faux bourdons. En effet, les colonies à faibles apports en pollen produisent des mâles de petite taille, avec un volume spermatique très réduit et une insuffisance d'éjaculation lors d'éversion manuelle de l'endophallus [54]. Toutefois, aucune différence significative de la concentration et de la viabilité spermatique par rapport aux faux bourdons issus des colonies sans limitation d'apports polliniques [54], [185]. Cette privation en pollen, pouvait aussi retarder l'âge de la maturité, sans affecter le volume et la viabilité spermatique [271]. D'une manière similaire, et selon le même protocole d'affamement des larves de mâles pendant dix heures, Szentgyörgyi et al (2017) [270] ont constaté que les adultes émergés sont plus légers mais sans impact sur leur volume spermatique.

D'autre part, la supplémentation des colonies en pollen permet aux faux bourdons d'atteindre leur maturité sexuelle précocement, mais sans amélioration du volume, ni de la concentration spermatique [271]. Toutefois, une supplémentation en pollen, enrichie en sirop de sucre, permet la production de mâles plus gros, avec un volume spermatique plus important ainsi qu'une meilleure viabilité des spermatozoïdes [272]. Par conséquent, le nourrissent des colonies d'abeilles par du sirop sucré et des galettes protéinées (pollen), permet l'amélioration de la qualité reproductive des mâles.

Chapitre 5

Partie expérimentale

5.1. Problématique :

L'apiculture, étant l'art d'élevage des abeilles mellifères, présent de multiples intérêts, articulés autour de trois axes interdépendants: environnemental, socio-économique et socio-culturel [273]. L'Algérie, avec sa diversité floristique et ses vastes espaces naturels, possède un fort potentiel pour le développement de l'apiculture, contribuant ainsi à la préservation de la biodiversité et au maintien de l'équilibre des écosystèmes. Mais surtout, cette filière joue un rôle essentiel sur le plan socio-économique, et la wilaya de Tizi-Ouzou en constitue l'un des pôles les plus dynamiques. Grâce à des conditions climatiques favorables et sa diversité floristique, cette région aux reliefs montagneux préservés, offre un environnement idéal pour l'élevage des abeilles et la production de différents types de produits de la ruche.

L'élevage des abeilles en Kabylie, représente une source de revenus non négligeables pour de nombreuses familles, où l'apiculture est ancrée comme une tradition ancestrale. Les apiculteurs locaux exploitent les ressources mellifères variées, notamment les maquis, les forêts, les garrigues, les haies, les plantes des prairies, les plantations de reboisement et les arbres fruitiers, permettant ainsi la production de plusieurs variétés de miels aux propriétés spécifiques, réputés pour leur haute qualité et leurs vertus thérapeutiques.

L'intérêt grandissant porté à l'apiculture dans cette Wilaya, a redynamisé l'activité de la menuiserie relative à la production de ruches et d'accessoires apicoles. Mais aussi, fort est de constater que les apiculteurs professionnels optent davantage pour la modernisation de la filière en diversifiant leurs productions apicoles telles que : le pollen, le pain d'abeille, la gelée royale, la propolis, la cire, le venin, les essaims et la production de reines fécondées. Ces productions annexes ont inspiré quelques apiculteurs à s'initier dans la valorisation de ces divers produits en industrie pharmaceutique et cosmétique, apportant ainsi une plus-value économique aux apiculteurs.

Avec plus de 20 000 espèces répertoriées à travers le monde, dont une cinquantaine sont domestiquées par l'homme, les abeilles occupent une place centrale dans les écosystèmes et contribuent de manière déterminante à la pollinisation agricole [11]. Un service éco-systémique, assuré notamment par l'abeille occidentale (*Apis mellifera*), les abeilles orientales (*Apis cerana*, *Apis dorsata*,...) et les abeilles mélipones [10], [13]. L'habitat naturel de l'abeille *Apis mellifera*, qui compte plus de 25 sous-espèces (figure 31), s'étend de l'Afrique du Sud à travers la savane, la forêt tropicale, le désert et le climat tempéré de la Méditerranée, atteignant la limite de son expansion en Europe du Nord et dans le sud de la Scandinavie [274]. Au cours de ces derniers siècles et en raison de son utilisation pour la production de miel et la pollinisation des cultures, *Apis mellifera* a été largement naturalisée à travers les Amériques, l'Asie et l'Australie [55]. Elle se distingue depuis, comme l'espèce la plus répandue dans les élevages apicoles à travers le monde [275], [276]. Des analyses morphométriques et génomiques de cette espèce ont permis d'identifier quatre lignées évolutives distinctes (figure 30) : **M** (Europe de nord-ouest), **A** (Afrique), **C** (Europe de sud-est) et **O** (Asie occidentale). Les sous-espèces natives de l'Afrique du nord, à savoir *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*, appartiennent à la lignée africaine [277], [278].



Figure 30 : Répartition géographique des quatre lignées évolutives de l'espèce *d'Apis mellifera* [27].



Figure 31 : Répartition géographique des 25 sous-espèces d'*Apis mellifera* à travers l'Afrique, l'Europe et le Moyen orient [279]

L'étude réalisée par Achou et al. (2015) [280] au nord de l'Algérie, révélait une faible introgression génétique (3,1%) d'haplotypes européens (C7 et M4) au sein d'*Apis mellifera intermissa*. Ceci est dû probablement à l'importation des colonies d'abeilles ou à l'introduction illégale de reines étrangères. Hormis ces pollutions génétiques et les différents facteurs biologiques et environnementaux qui réduisent les rendements apicoles et menacent la pérennité des abeilles autochtones, l'infertilité des reines est fréquemment signalée par les apiculteurs locaux comme un problème majeur. Or, la qualité des reines est liée à leur succès d'accouplement et leur capacité de ponte régulière et constante [238]. A cet effet, il devient alors impératif d'intervenir rapidement pour réformer les reines défaillantes, qu'elles soient malades, blessées ou infertiles, et procéder à leur remplacement afin de préserver la viabilité des colonies. Par ailleurs, les professionnels en apiculture le savent bien, que l'utilisation des jeunes reines de bonne qualité reproductive améliore significativement la productivité et la rentabilité des exploitations apicoles [281]. Pour cette raison, les éleveurs d'abeilles devraient procéder annuellement au remplacement des vieilles reines, dès le début de la saison apicole [55]. C'est ainsi apparu l'intérêt grandissant de l'élevage des faux bourdons pour assurer une bonne fécondation des reines vierges en tout moment, tant les conditions climatiques le permettent.

Ainsi, la mise en place d'une stratégie de gestion des ruchers, avec réflexion pour maintenir en permanence des colonies à mâles, est une approche visionnaire et capitale. La problématique de cette démarche est de savoir quels sont les facteurs influençant cet élevage et en quel moment de la saison apicole la fertilité des mâles est optimale, sachant que leur fécondité est étroitement liée aux réserves cumulées dans la ruche [272]. Dans les conditions naturelles, la qualité et la disponibilité de nourriture (miel et pollen) varient en fonction des saisons et dépendent de la diversité et de l'abondance des plantes mellifères en floraison [282], [283].

La wilaya de Tizi-Ouzou se distingue par une topographie très variée et un climat méditerranéen marqué par l'alternance d'une saison humide et d'une saison sèche. Ces conditions favorisent le développement d'une végétation dense et diversifiée, particulièrement riche en plantes mellifères qui se succèdent presque tout au long de l'année. Toutefois, l'abondance de ces ressources mellifères et pollinifères est observée au printemps, période de l'année qui marque le début du calendrier apicole. Sur la bande littorale, où l'hiver demeure relativement doux, la saison apicole débute dès le mois de janvier et se prolonge jusqu'au début du mois de juillet. Puis, cette activité

connaît une interruption durant les fortes chaleurs estivales, avant de reprendre à partir de septembre, favorisée par la floraison tardive de certaines espèces mellifères telles que la carline laineuse, l'eucalyptus, l'inule visqueuse et l'arbousier.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la fertilité des faux bourdons d'*Apis mellifera intermissa* pendant la période de reproduction et d'essaimage des abeilles, mais aussi en hors saison de reproduction car la floraison tardive de quelques plantes mellifères et les températures propices permettent aux colonies d'initier l'élevage des mâles. Cette approche est abordée sur deux volets :

A. Le premier volet de l'étude consiste à mener une enquête auprès des apiculteurs de la wilaya de Tizi-Ouzou, à l'aide d'un questionnaire, afin de recueillir un maximum d'informations concernant le statut du faux bourdon, en tant que caste à apparition saisonnière dans les colonies. L'objectif est d'évaluer les connaissances fondamentales des éleveurs d'abeilles sur les mâles, notamment leur période d'apparition, leur biologie, leur rôle au sein de la colonie et leur comportement dans et autour des ruchers. La finalité de cette enquête est de déterminer l'importance accordée par les apiculteurs à l'élevage des faux bourdons dans leurs pratiques apicoles.

B. Le deuxième volet consiste à évaluer la fertilité des faux bourdons par moyens d'étude histologique des appareils reproducteurs mâles. Le principe de cette approche repose sur l'élaboration des lames histologiques pour la recherche de spermatozoïdes dans les glandes séminales, ainsi que l'évaluation de l'activité des glandes à mucus, en focalisant sur leurs sécrétions glandulaires. La fertilité des mâles est évaluée en fonction de la période d'élevage, l'âge de la reine, l'état de peuplement de la ruche et l'âge des faux bourdons. Cette technique trouve son intérêt en tant qu'outil pédagogique, en fournissant des supports histologiques, utiles à l'étude de la fertilité des faux bourdons.

5.2. Cadre de l'étude :

La Wilaya de Tizi-Ouzou est limitée au sud par la wilaya de Bouira, au Nord par la mer méditerranéenne, à l'Ouest par la wilaya de Boumerdès et à l'Est par la wilaya de Bejaia (figure 32). Elle est constituée de 67 communes. Cette wilaya dispose de réserves naturelles et d'une biodiversité importante et nécessaire au développement de l'apiculture. Elle bénéficie de la proximité du Parc national du Djurdjura et des massifs forestiers d'Akfadou, Yacourene, Zekri, Bounaamane, Tigrine, Tamgout et Mizrana. Elle est connue pour sa production de miel, notamment du miel toutes fleurs de montagne,

ainsi que le miel de bruyère, d'eucalyptus, d'inule visqueuse et d'arbousier. La transhumance permet d'exploiter les fleurs de jujubier au sud du pays. Les apiculteurs utilisent principalement des ruches Langstroth et rarement les ruches traditionnelles (en bois ou en liège), et ils pratiquent les soins nécessaires aux abeilles, malgré le coût élevé des médicaments vétérinaires. Le miel est principalement vendu directement du producteur au consommateur, bien que le marché soit difficile à évaluer. La Wilaya de Tizi-Ouzou comptait 120. 000 ruches gérées par plus de 5 000 apiculteurs. Des ruchers écoles ont été créés pour former le public à l'apiculture et promouvoir l'agrotourisme, avec l'objectif de transmettre le métier et de partager les bonnes pratiques.

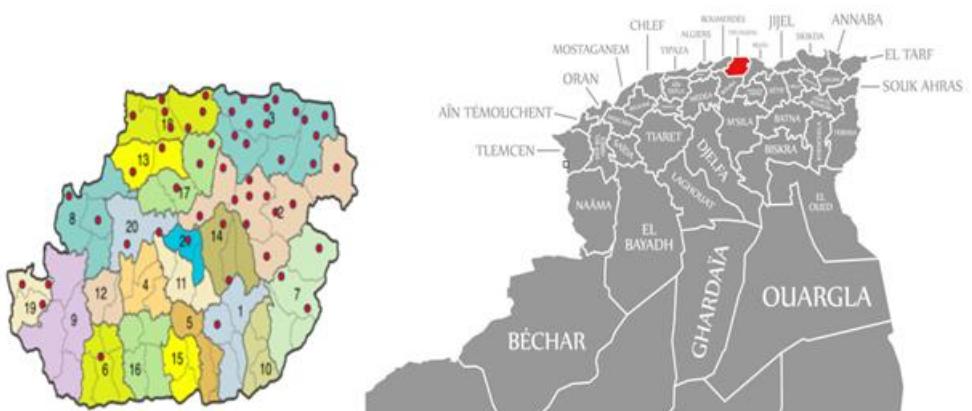


Figure 32 : Carte de la Wilaya de Tizi-Ouzou (cadre d'étude) et les postions des apiculteurs collaborés avec l'enquête.

5.3. Matériel et Méthodes :

La présente étude a été menée de 2017 à 2018 et s'est déroulée en deux étapes : la première consistait en une enquête sur la gestion de l'élevage des faux bourdons, tandis que la deuxième étape portait sur l'étude de leur fertilité.

53.1. Enquête sur la gestion d'élevage des faux bourdons par les apiculteurs :

L'étude a été menée à travers la distribution d'un questionnaire (annexe 1) détaillé à 81 apiculteurs, afin d'examiner les pratiques de gestion de la reproduction des colonies d'abeilles, ainsi que l'impact et le rôle des faux bourdons.

Le questionnaire envoyé aux apiculteurs visait à recueillir des informations sur la gestion d'élevage des faux bourdons (FB) dans leurs ruchers. Il abordait plusieurs aspects, tels que le mois de première apparition et de forte densité des FB, ainsi que la période d'activité intense et les moments de la journée où ces derniers sont les plus actifs au niveau du trou de vol. Il s'intéressait également à la disparition des FB, à leur

rôle dans la colonie ou à l'extérieur, et au nombre de sites de congrégation dans la région.

Les apiculteurs ont aussi été interrogés sur la variation annuelle des emplacements des sites de congrégation, la fertilité des faux bourdons et les facteurs qui peuvent l'influencer, comme l'âge, la nourriture, ou l'origine de l'œuf. D'autres questions portaient sur la prise en compte de la présence des FB avant l'essaimage artificiel ou l'élevage des reines, ainsi que les méthodes utilisées pour estimer leur âge et vérifier leur puberté.

Le questionnaire a également exploré les pratiques de gestion d'élevage des faux bourdons et des reines, l'usage de l'insémination artificielle, ainsi que l'analyse de la qualité spermatique des FB. Enfin, il a abordé la question du déplacement des essaims vers des régions éloignées pour la fécondation des futures reines. Ces données ont permis d'analyser les pratiques des apiculteurs en matière de gestion des FB et de leur influence sur la reproduction des abeilles.

Le choix des apiculteurs a été effectué selon la méthode de boule de neige. Cette approche a permis de contacter initialement un petit groupe d'apiculteurs, qui à leur tour, ont recommandé d'autres apiculteurs, élargissant progressivement l'échantillon. Cette méthode a été privilégiée afin d'atteindre des apiculteurs ayant une expérience variée et une connaissance approfondie des pratiques apicoles.

Les questionnaires ont été remis de manière directe (main à main) ou envoyés par voie électronique, en fonction des préférences des participants, pour maximiser le taux de réponse. Les réponses recueillies ont été analysées à la fois qualitativement et quantitativement, dans le but d'identifier les pratiques courantes et d'évaluer l'importance des faux bordons dans la gestion de la reproduction des abeilles.

5.3.2. Etude de la fertilité des faux bourdons :

Cette étude consistait à évaluer la fertilité des faux bourdons afin d'identifier les facteurs influençant leur performance reproductive. Elle visait également à recueillir des données essentielles pour améliorer la gestion de la reproduction.

5.3.2.1. Cadre expérimental :

Un échantillonnage à choix raisonné a été adopté pour cette étude. Les prélèvements apicoles ont été réalisés sur des ruchers situés à Azeffoun (figure 33), dans la Wilaya de Tizi-Ouzou (Algérie). De mars à juin 2018, douze (12) ruches ont fait l'objet de prélèvements de faux bourdons (matures et immatures), réparties sur deux ruchers, situés à des altitudes respectives de 150 et 450 mètres au-dessus du niveau de la mer. Hors cette période temporelle, aucun prélèvement n'a été possible, en raison de la disparition des faux bourdons. Toutefois, en octobre 2018, des échantillons ont été collectés, profitant d'une reprise ponctuelle de la ponte des reines et de la réapparition temporaire des mâles, favorisées par des conditions climatiques propices et la floraison de deux principales plantes mellifères, l'eucalyptus et l'inule visqueuse, peuplant densément la région d'étude.



Figure 33 : Zone de position des ruchers, objets des prélèvements des faux bourdons (Commune d'Azeffoun).

5.3.2.2. Echantillonnage (les faux bourdons):

86 prélèvements des appareils reproducteurs mâles ont été effectués sur des faux bourdons adultes. Les mâles immatures ont été échantillonnés juste à leur émergence ou sur les cadres de provision latéraux (figure 34). Ils sont caractérisés par une taille et une musculature moins imposantes, des yeux violets, un duvet blanc, moins dynamiques avec l'absence de vibrations à la pincée. Tandis que les faux bourdons matures (plus de deux semaines), ont été récoltés sur le trou de vol, prêts à rejoindre les zones de congrégation (figure 35). Ils se distinguent par un corps massif, noir et poilu, des yeux noirs, vigoureux et émettent des vibrations à la pincée.



Figure 34 : Prélèvement des FB immatures (soit juste à leur émergence du couvain, soit sur les cadres latéraux de provision : mince, gros yeux violettes, duvet blanc).



Figure 35 : Prélèvement des FB matures sur les trous de vol des ruches.

5.3.2.3. Technique de prélèvement :

L'échantillonnage des faux bourdons consistait au prélèvement des appareils reproducteurs, en entier, par la technique de pincement (figure 36), inspirée par Cobey et al (2013) [246], et qui consiste à prendre le faux bourdon entre le pouce et l'index, de telle sorte que sa tête se dirige vers la paume de la main et l'abdomen vers l'extérieur. Et à l'aide d'une pince mousse, on saisit les deux derniers tergites et on tire délicatement pour les sectionner du reste de l'abdomen. Il se produit une déchirure entre le 5^{eme} et le 6^{eme} segment qui permet de retirer l'appareil reproducteur, tracté par le canal éjaculateur, qui est lui-même, relié au bulbe qui se trouve dans les derniers segments pincés.

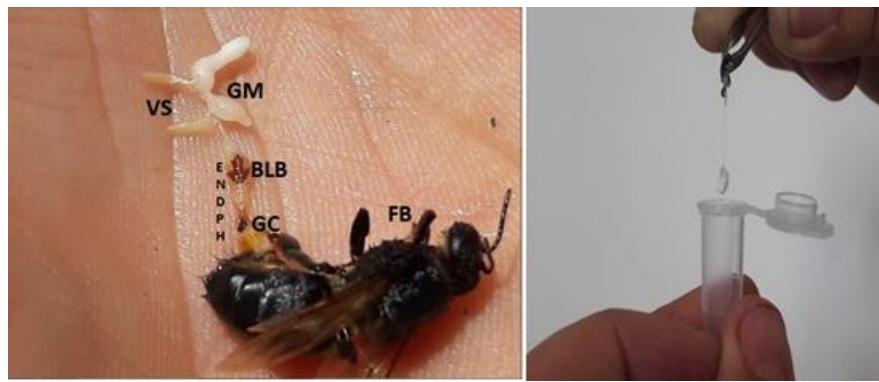


Figure 36 : Organe de reproduction de faux bourdon (FB), juste après le prélèvement [GM : glandes à mucus, VS : vésicules séminales et ENDPH : l'endophallus (BLB : le bulbe avec ses plaques chitineuses et GC : les glandes des cornules en jaune)].

5.3.2.4. Fixation et conservation des prélèvements :

Pour fixer les constituants cellulaires, préserver l'architecture des tissus et les protéger contre l'autolyse et les contaminations bactériennes, les appareils reproducteurs prélevés ont été immédiatement placés dans des tubes Eppendorf, étiquetés préalablement, contenant une solution de formaldéhyde à 10%. Le formol, en tant qu'agent fixateur, pénètre rapidement dans les tissus et garantit une excellente conservation des échantillons.

5.3.2.5. Réalisation des lames histologiques :

La préparation et l'observation des lames histologiques ont été réalisées au laboratoire de médecine de l'Université ABOUDAOU (Bejaïa), équipé du matériel de marque LEICA.

5.3.2.5.1. Phase de déshydratation :

Après réception au laboratoire, les prélèvements sont placés individuellement dans des histocassettes étiquetées préalablement (référence de l'échantillon et date de prélèvement). Afin d'extraire l'eau contenue dans les tissus et d'éliminer le fixateur, on a effectué une déshydratation à l'éthanol. Ainsi, les histocassettes ont été insérées dans l'automate de déshydratation, où elles subissent des bains d'alcool en respectant le temps et le protocole suivant : huit (08) bains successifs d'éthanol dont la concentration est croissante de **70 à 100% (70,75, 80, 85, 90, 95, 96 et 100%)** pendant **45 mn chacun**.

5.3.2.5.2. Phase d'éclaircissement (déshydratation finale) :

Cette étape a pour but d'éclaircir les échantillons et de les rendre miscibles avec la paraffine. Pour ce faire, les prélèvements sont immergés dans des bains de xylène, un solvant qui remplace l'alcool dans les tissus. Le protocole consiste à placer les histocassettes dans **deux bains** successifs **de xylène**, pendant **01h30 mn chacun**.

5.3.2.5.3. Phase d'imprégnation :

Cette étape cruciale, consiste à l'inclusion de la paraffine dans les tissus. Pour cela, les échantillons sont plongés dans la paraffine à 60° C. Sous l'effet de la chaleur, le solvant (xylène) se dissout et s'évapore, ce qui permet la pénétration de la paraffine fondu dans les espaces libérés des tissus. Le protocole consiste à submerger les histocassettes dans **deux bains de paraffine pure**, pendant **30 mn chacun**.

5.3.2.5.4. Phase d'enrobage :

Cette étape consiste à emboiter les échantillons dans des blocs de paraffine. Elle se déroule comme suit

- Chauffage des moules métalliques, pouvant s'imbriquer avec les histocassettes.
- Remplissage partiel des moules métalliques par la paraffine chaude.
- Pose des moules métalliques sur une plaque chauffante légèrement tempérée.
- Retrait des histocassettes des bains de paraffine chaude et transfert individuel des échantillons dans les moules métalliques.
- Pour assurer un positionnement central des échantillons, les moules ont été délicatement placés sur une plaque froide, permettant à la paraffine de durcir rapidement.
- Une fois la paraffine suffisamment durcie et les tissus bien fixés, les parties supérieures des cassettes, portant les références des échantillons, sont positionnées sur les moules métalliques.
- Dans un bac de paraffinage (station d'enrobage), et à travers les fonds grillagés des parties supérieures des histocassettes, la paraffine liquide (chaude) est ajoutée jusqu'au remplissage total des moules métalliques.
- Pose des moules métalliques sur une plaque réfrigérante pour permettre le durcissement rapide des blocs de paraffine.

5.3.2.5.5. Phase de dégrossissement :

Après démoulage, on obtient des fragments tissulaires inclus dans des blocs de paraffine. Puis on procède au dégrossissement des blocs paraffinés à raison de 10 µm, jusqu'à l'apparition des tissus de l'échantillon. Puis les blocs de paraffine sont ensuite conservés pendant toute la nuit dans un congélateur pour durcir davantage.

5.3.2.5.6. Microtomie :

Une fois les blocs de paraffine retirés du congélateur, ils sont ensuite déposés sur une surface de glace, pendant 10 à 20 mn avant de passer au microtome, à raison de 2 µm, pour réaliser des coupes histologiques suffisamment fines. Quatre coupes (lames) pour chaque échantillon ont été réalisées. Un prélèvement a été exploité pour réaliser une coupe complète de l'échantillon (coupes sérielles de 28 lames).

5.3.2.5.7. Etalement des coupes :

Les références de chaque échantillon, indiquées sur les caches des histocassettes portant les blocs de paraffine, sont préalablement gravées sur des lames en verre, à l'aide d'un crayon en diamant. Les rubans de coupe obtenus par microtomie sont étalés à la surface d'un bain-marie afin de les déplisser. Les coupes nettes et non abîmées sont ensuite placées sur les lames imbibées d'eau, et étalées délicatement.

5.3.2.5.8. Phase de déparaffinage :

Après un séchage de 10 minutes sur une plaque chauffante à 69°C, les lames porteuses de coupes histologiques sont placées sur des portoirs, puis transférées dans une étuve à 75°C. Un étuvage prolongé toute la nuit permet le déparaffinage des coupes.

5.3.2.5.9. Phase de réhydratation :

Les coupes histologiques déparaffinées doivent subir le processus inverse de déshydratation initiale selon le protocole suivant :

- Un bain de xylène pendant 30 mn.
- Un bain d'éthanol à 10% pendant 10 mn.
- Puis un rinçage à l'eau pendant 3 mn.

5.3.2.5.10. Coloration :

Après réhydratation des tissus, les lames ont été placées dans différents bains de colorants selon le protocole suivant :

- Un bain d'hématoxyline de Harris (coloration des noyaux) pendant 7 mn.
- Rinçage rapide à l'eau courante.
- Puis un bain d'éosine (coloration du cytoplasme) pendant 3 mn, suivi de rinçage à l'eau courante jusqu'à disparition de la couleur rouge sur les bords des lames.

5.3.2.5.11. Montage des lames :

Le montage consiste à couvrir l'échantillon porté sur la lame par une lamelle, mais préalablement, une série de bains, pendant une minute chacun, sont nécessaires pour une meilleure fixation de l'échantillon, à savoir :

- Un bain d'éthanol pour faire déshydrater les coupes.
- Un bain d'éthanol et de xylène.
- Puis deux bains successifs de xylène pur pour un bon éclaircissement.

Enfin, une goutte de colle (EUKITT ®) est posée sur la lame pour fixer définitivement la lamelle. Les lames sont ensuite laissées sécher à l'air libre pendant 24 h

5.3.2.6. Observations des coupes histologiques :

Les lames histologiques ont été observées à l'aide d'un microscope optique pour examiner les spermatozoïdes contenus dans la vésicule séminale (figures 37 et 38), ainsi que les sécrétaires des glandes à mucus (figure 39). L'analyse des lames histologiques repose sur une évaluation objective en tenant compte à la fois de la présence ou de l'absence totale de spermatozoïdes et des sécrétions des glandes mucus.

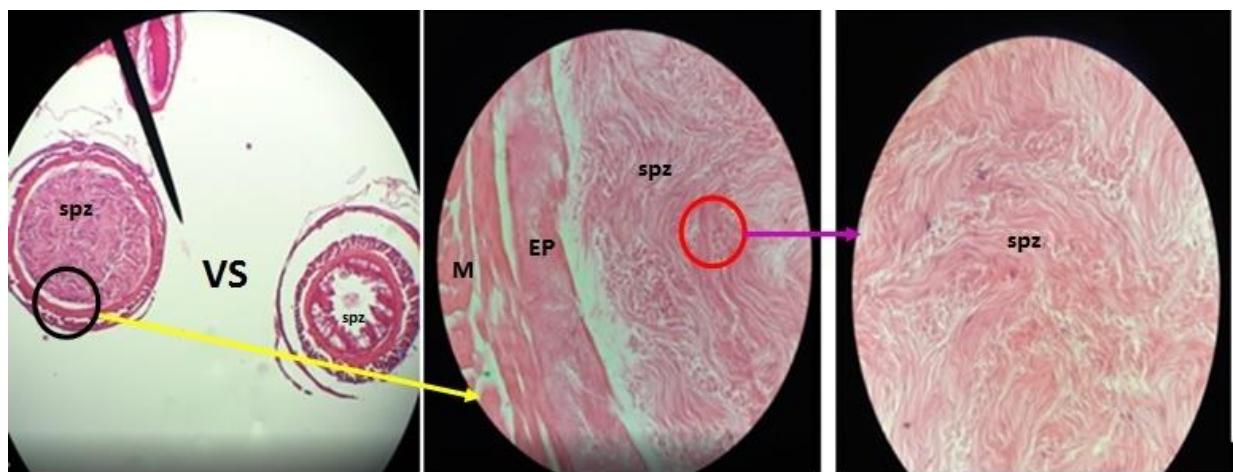


Figure 37 : Coupes transversales des vésicules séminales (VS). (M) : couche musculaire, (EP) : épithélium, (spz) : spermatozoïdes.



Figure 38 : Coupe longitudinale d'une glande séminale, perforée latéralement (VS : vésicule séminale, PDVS : pôle distale de la glande séminale, spz : spermatozoïdes, tg : tissu glandulaire de la glande séminale, cm : les couches musculaires).

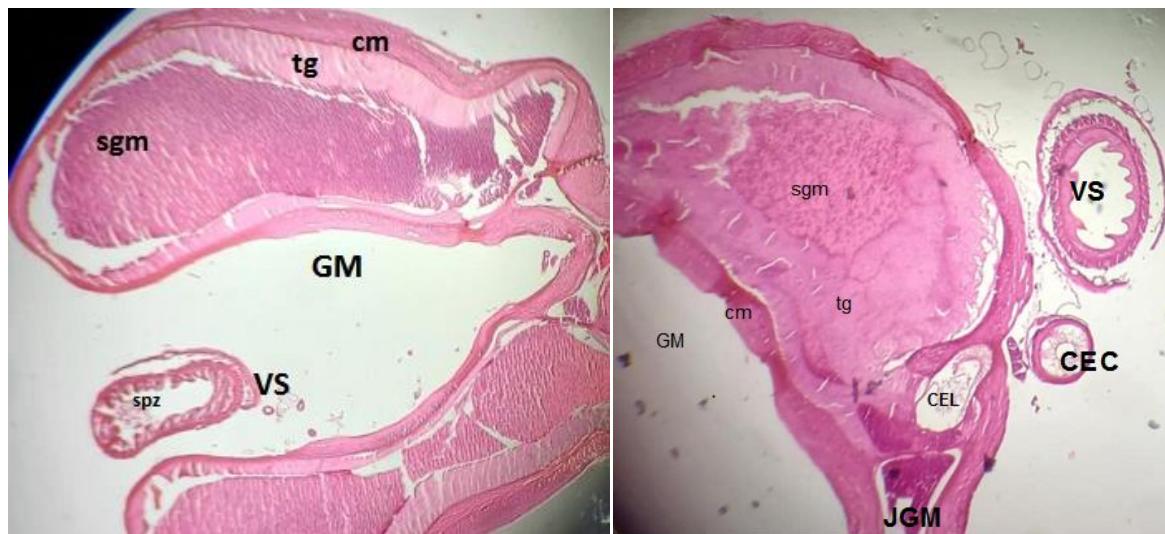


Figure 39 : Coupes longitudinales des glandes à mucus (GM : glande à mucus, VS : vésicule séminale, CEC : canal éjaculateur commun, CEL : canal éjaculateur latéral, JGM : jonction de la paire de glandes à mucus, spz : spermatozoïdes, sgm : sécrétions des glandes à mucus.

5.3.2.7. Analyse des données :

Les données ont été saisies sur Microsoft Excel (2007 ; Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) et importées dans le logiciel SAS (*Statistical Analysis Systems Software, 2001*) pour l'analyse statistique. Le test d'indépendance du chi-carré et le test exact de Fisher ont été utilisés pour déterminer l'association entre la présence de spermatozoïdes, les sécrétions des glandes à mucus et la période d'élevage, l'âge de la reine, la population de la ruche et l'âge des faux bourdons. Une valeur p de 0,05 a été considérée pour déterminer le niveau significatif.

5.4. Résultats :

5.4.1. Résultats de l'enquête :

Sur les 81 questionnaires distribués, 52 ont été récupérés, soit un taux de réponse de 64% (Figure 40). Ces réponses ont permis d'analyser en profondeur les pratiques des apiculteurs concernant la gestion des faux bourdons (FB) dans leurs ruchers.

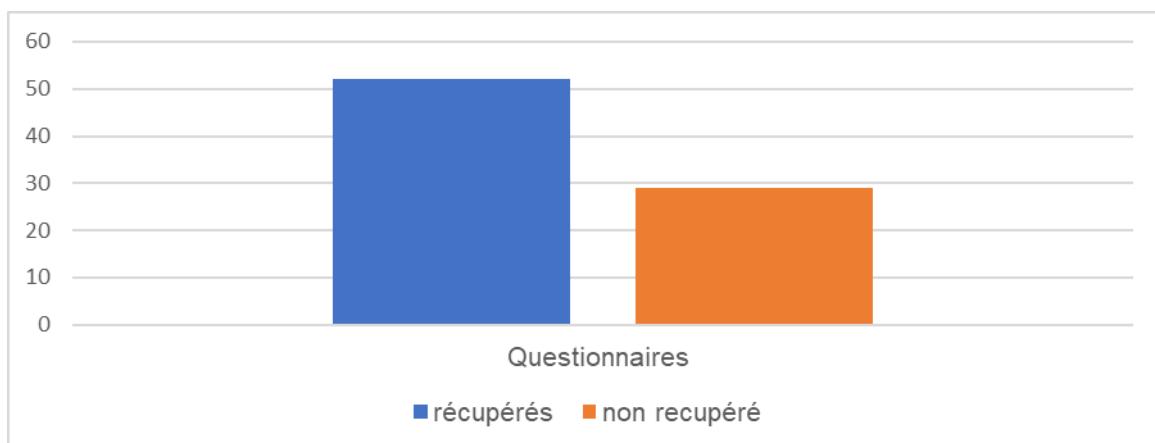


Figure 40 : Pourcentage de questionnaires récupérés.

Le taux de réponse de 64% (52 questionnaires récupérés sur 81 distribués) est relativement bon, indiquant un intérêt et une participation significatifs des apiculteurs à l'étude. Ce taux suggère que les apiculteurs sont généralement disposés à partager leurs pratiques et expériences, ce qui permet de collecter des données représentatives et fiables pour l'analyse des méthodes de gestion des faux bourdons et de la reproduction des abeilles. Toutefois, il reste une part de non-réponse, ce qui pourrait indiquer des obstacles à la participation, comme des contraintes de temps ou un manque d'intérêt.

5.4.1.1. Age des apiculteurs :

Sur les 52 apiculteurs ayant répondu au questionnaire, 21 ont fourni des informations concernant leur âge (Figure 41). Cette donnée permet d'analyser la répartition des apiculteurs en fonction de leur âge et d'évaluer si des différences notables existent dans leurs pratiques apicoles, leurs approches dans la gestion des colonies, ou leur adoption de nouvelles techniques.



Figure 41 : Âge des apiculteurs participés à l'enquête.

Parmi les 21 apiculteurs ayant répondu à la question sur l'âge, la répartition est la suivante : 7 apiculteurs sont âgés de 21 à 35 ans, 12 apiculteurs de 35 à 49 ans, 1 apiculteur entre 49 et 63 ans, et 1 autre dans la tranche d'âge supérieure à 63 ans. Cette distribution suggère une prédominance d'apiculteurs dans les tranches d'âge intermédiaires (21-49 ans), ce qui pourrait refléter une pratique apicole relativement active et diversifiée, avec moins de représentation chez les plus jeunes et les plus âgés.

5.4.1.2. Expérience des apiculteurs :

Parmi les 52 apiculteurs ayant répondu, 21 ont indiqué leur niveau d'expérience (Figure 42). Cette information permet d'analyser l'impact de l'expérience sur les pratiques apicoles, avec une possible différence dans les méthodes utilisées par les apiculteurs plus expérimentés par rapport aux moins expérimentés.

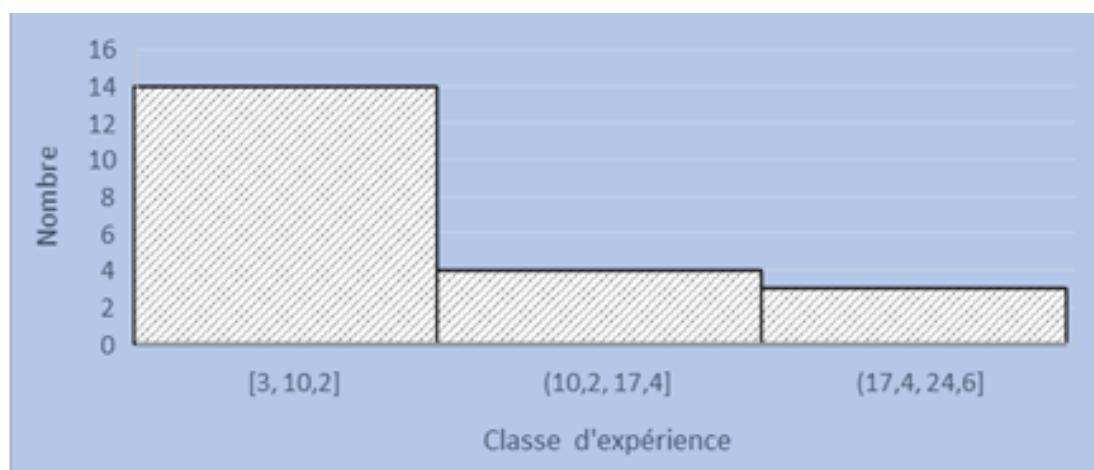


Figure 42 : Expérience des apiculteurs.

La figure 42 montre que parmi les 21 apiculteurs ayant répondu à la question sur l'expérience, 14 ont une expérience de 3 à 10 ans, 4 apiculteurs ont une expérience de 10 à 17 ans, et 3 apiculteurs possèdent une expérience de plus de 17 ans. Cela indique une majorité d'apiculteurs relativement jeunes en termes d'expérience, avec quelques apiculteurs ayant une expérience plus avancée dans la pratique apicole.

5.4.1.3. Activité des faux bourdons :

Parmi les 52 apiculteurs ayant répondu au questionnaire, 21 ont répondu à la question concernant l'apparition des faux bourdons (Figure 43). Cette information permet d'analyser les variations dans le timing de l'apparition des FB selon les pratiques locales et les conditions spécifiques à chaque rucher, ce qui peut influencer la gestion des colonies et la reproduction des abeilles.

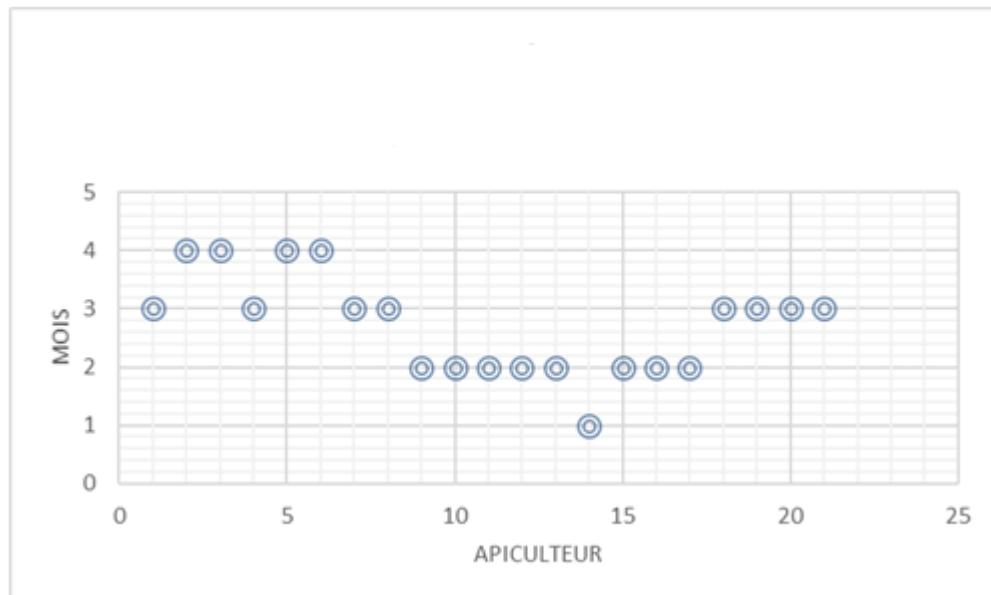


Figure 43 : Mois d'apparition des faux bourdons.

Le résultat montre que, parmi les 21 apiculteurs ayant répondu à la question sur l'apparition des faux bourdons, 1 apiculteur observe leur apparition en janvier, 8 en février, 8 autres en mars et 4 en avril. Ces réponses révèlent une diversité de périodes d'apparition, avec une concentration des observations en février et mars, et des cas isolés en janvier et avril.

5.4.1.4. Mois d'activité intense des faux bourdons :

Parmi les 52 questionnaires récupérés, 21 apiculteurs ont répondu à la question concernant le mois d'activité intense des faux bourdons.

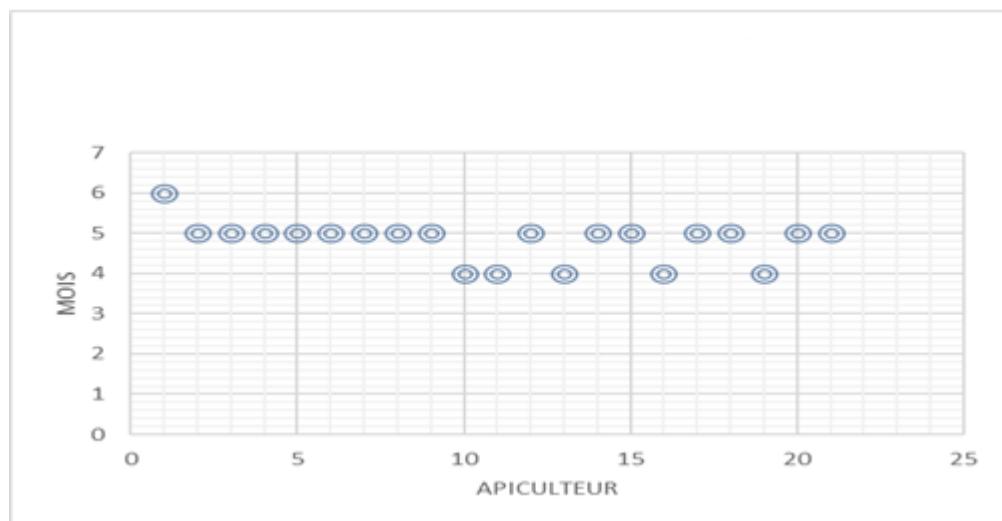


Figure 44 : Activité intense des faux bourdons.

La figure 5 révèle que 15 apiculteurs identifient le mois de mai comme période d'activité intense des faux bourdons (Figure 44), tandis que 5 la situent en avril et 1 en juin. Cette répartition montre une concentration de l'activité des faux bourdons au mois de mai, avec des observations également en avril et juin, bien que moins fréquentes.

5.4.1.5. Mois de disparition des faux bourdons :

Sur les 52 questionnaires récupérés, 21 apiculteurs ont fourni des réponses concernant le mois de disparition des faux bourdons (Figure 45). Ces données permettent d'examiner la période à laquelle les faux bourdons cessent d'être présents dans les ruchers, ce qui est essentiel pour mieux comprendre leur cycle de vie et adapter les pratiques de gestion apicole.

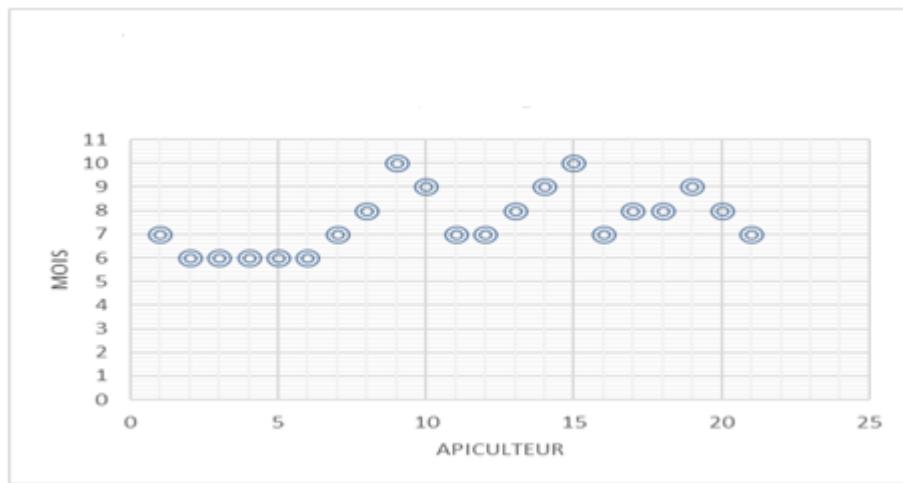


Figure 45 : Mois de disparition des faux bourdons.

Les résultats montrent que la disparition des faux bourdons se produit principalement entre juin et août, avec 5 apiculteurs observant leur disparition en juin, 6 en juillet, et 5 en août. Quelques apiculteurs notent aussi leur disparition plus tard, en septembre (3) et en octobre (2), suggérant des variations possibles selon les conditions locales.

5.4.1.6. Principaux rôles des faux bourdons :

Les apiculteurs estiment que les faux bourdons jouent un rôle essentiel dans la fécondation, tout en contribuant également à la ventilation et à la couvaison du couvain.

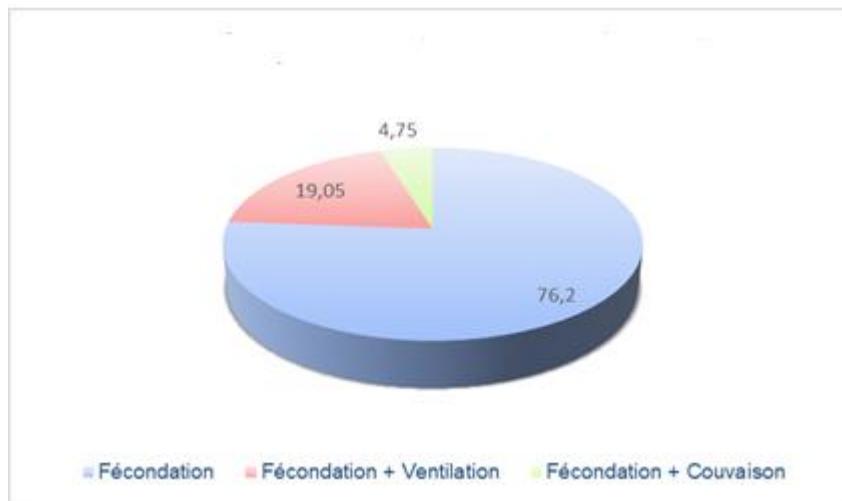


Figure 46 : Principaux rôles des faux bourdons.

Les résultats montrent que 76,2 % (Figure 46) des apiculteurs estiment que les faux bourdons jouent un rôle principalement dans la fécondation, tandis que 19,05 % considèrent qu'ils contribuent à la fois à la fécondation et à la ventilation, et 4,75 % les associent à la fécondation et à la couvaison.

5.4.1.7. Pratiques de L'insémination artificielle :

Dans le cadre de cette étude, il a été important d'examiner certaines pratiques apicoles, notamment l'utilisation de l'insémination artificielle (IA). Les résultats suivants présentent la proportion d'apiculteurs ayant recours à cette technique.



Figure 47: Pratique de l'insémination artificielle.

Les résultats montrent que 14,29 % des apiculteurs ont recours à l'insémination artificielle (IA), tandis que le reste, soit 85,71 % (Figure 47), ne pratique pas cette méthode.

5.4.1.8. Maturité des Faux Bourdons :

La maturité sexuelle du mâle dépend de plusieurs facteurs, notamment de son âge, mais aussi de l'exercice au vol.

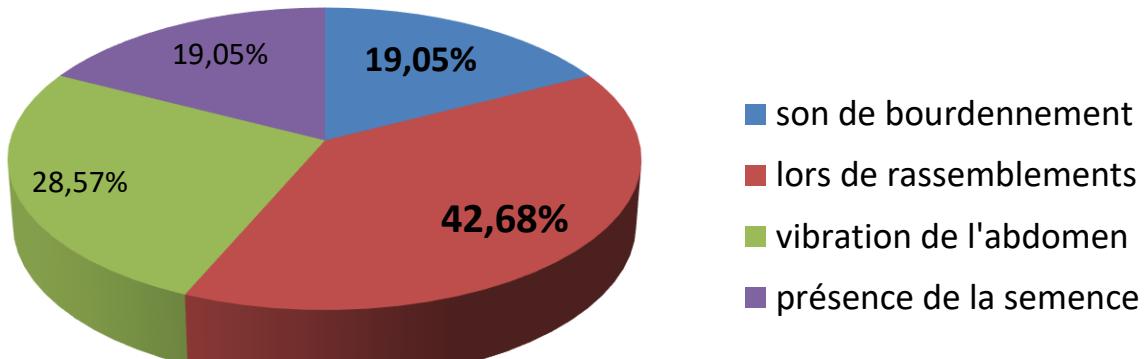


Figure 48 : Maturité sexuelle des Faux Bourdons.

D'après l'enquête réalisée auprès des éleveurs questionnés, 19,05% estiment qu'un FB est mature et fertile au son d'un bourdonnement qu'il émet, 28,57% aux vibrations provoquées par pinçements de son abdomen, 42,86% lors de rassemblements à des emplacements bien déterminés tel que le trou de vol, ou autres sites de congrégation et 19,05 % lors de présence de sperme obtenue par la méthode d'éversion manuelle (Figure 48).

5.4.2. Résultats de l'étude de fertilité des faux bourdons :

Au cours de cette étude, 86 échantillons ont été prélevés, à partir de douze (12) ruches pendant deux périodes de l'année. Ces prélèvements ont été réalisés en pleine saison de reproduction des abeilles (Mars, Avril, Mai, Juin), ainsi qu'en arrières saisons (Octobre). Figure 49.

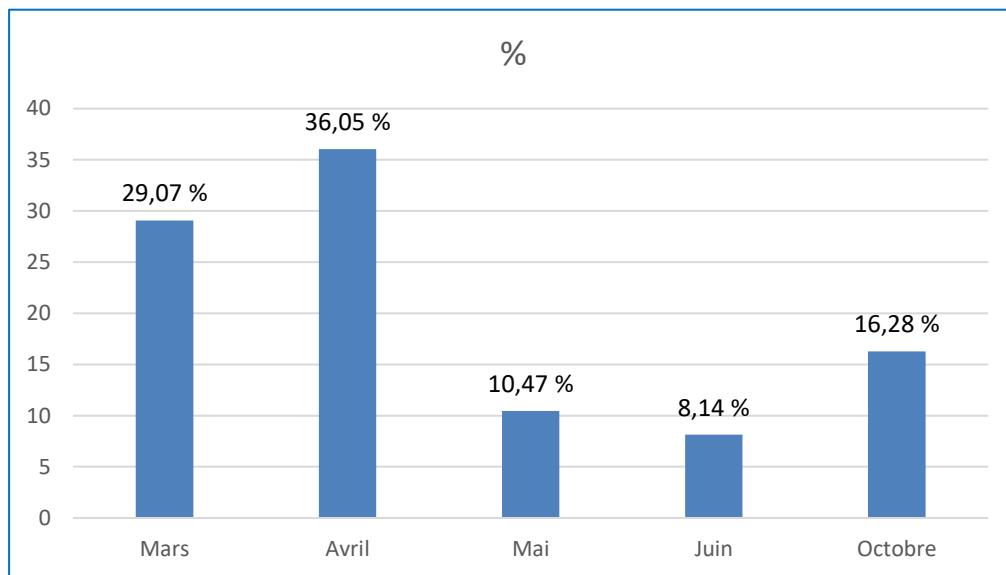


Figure 49: Répartition des échantillons selon le mois de prélèvement

La figure 49 indique que 29,07 des échantillons ont été prélevés en mois de mars. Le mois d'avril a enregistré le nombre le plus élevé d'échantillons collectés, représentant 36,05 %, suivi de près le mois de mai avec 10,47 % et le mois de juin qui a compté pour 8,14 %. Toutefois, la collecte en fin de saison, notamment en octobre, a représenté 16,28 % de l'ensemble des échantillons. Ces résultats mettent en évidence une concentration marquée des prélèvements durant les mois de reproduction, mettant l'accent sur la pertinence de cette période pour les études et analyses réalisées sur les ruches.

L'âge des reines des colonies échantillonnées varie de 01 à 5 ans avec une fréquence significative ($P=0,002$) plus élevée pour les reines âgées d'un an. En termes de population, l'état des ruches était fort dans 33,33% des cas, 50% moyens et 16,67% étaient peu peuplés. Les faux bourdons étudiés étaient immatures à 41,86% et mature à 58,14% ($P=0,13$).

5.4.2.1. Présence des spermatozoïdes :

La majorité des échantillons avait enregistré une présence de spermatozoïdes dans les vésicules séminales (62,78% vs. 37,22%, $P=0,02$), (Figure 50).

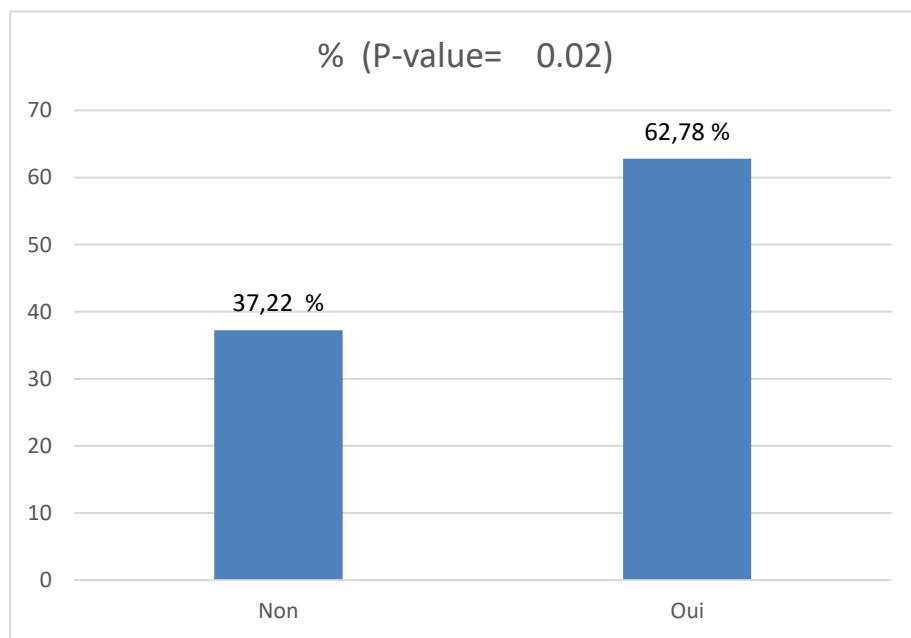


Figure 50 : Présence de spermatozoïdes dans les vésicules séminales.

5.4.2.1.1. Présence de spermatozoïdes selon le mois de prélèvement :

Pendant la pleine saison de reproduction allant du mois de mars, avril, mai jusqu'au mois de juin, le taux des échantillons présentant des spermatozoïdes dans les vésicules séminales est de 60%, 80,65%, 66,67% et 100% respectivement. Tandis que, en hors-saison de reproduction qui correspond au mois d'octobre, seulement 7,14% des échantillons avaient enregistré la présence de spermatozoïdes dans les vésicules séminales (Figure 51).

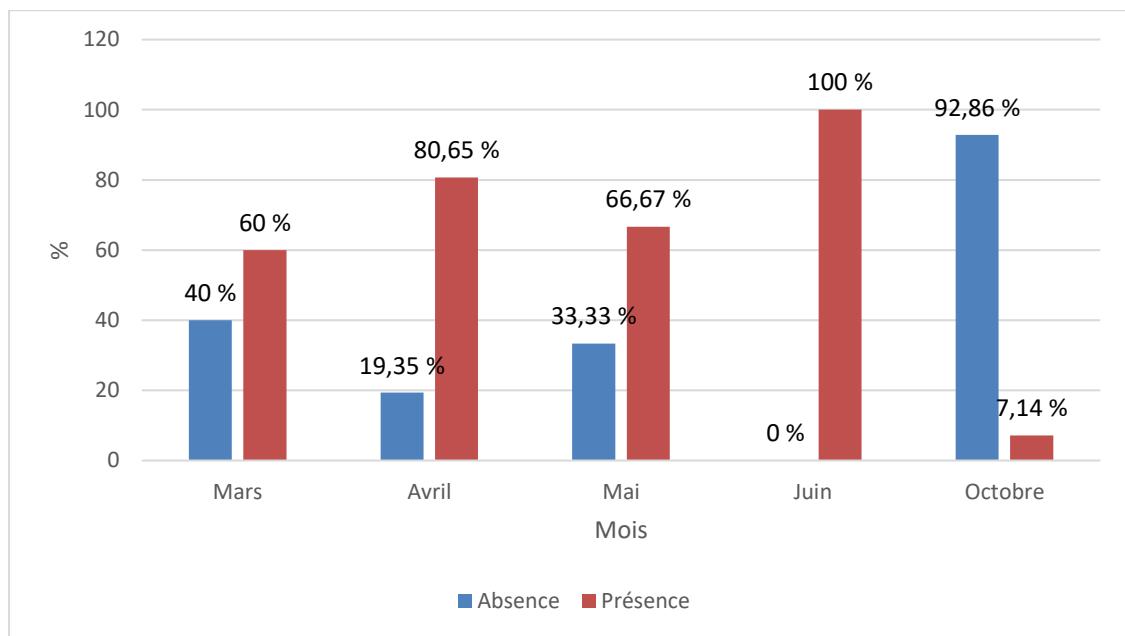


Figure 51 : Présence de spermatozoïdes selon les mois.

5.4.2.1.2. Présence de spermatozoïdes selon l'âge des reines :

Concernant la présence de spermatozoïdes selon l'âge des reines, des taux de 65.38 %, 85.71 %, 68.75 % et 86.67 % des faux bourdons avaient enregistré la présence de spermatozoïdes, issus respectivement de ruches dont les reines étaient âgées de 1, 2, 3 et 5 ans. Seules les ruches avec les reines âgées de 4 ans avaient enregistré des faux bourdons avec de faibles taux de présence de spermatozoïdes et dont l'échantillonnage est effectué en hors saison de reproduction (mois d'octobre).

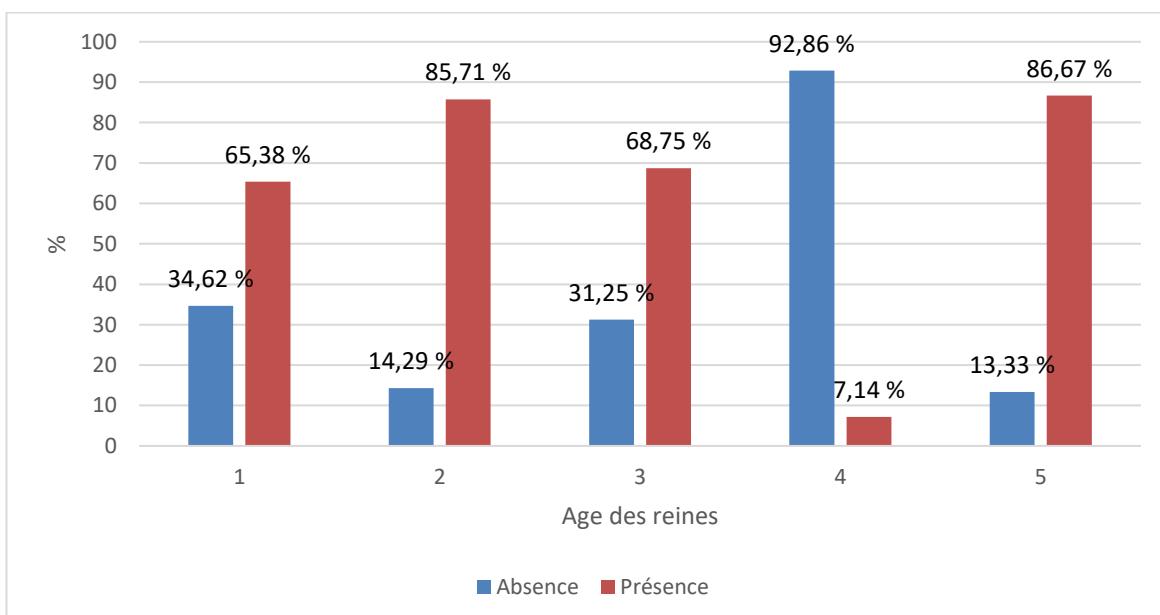


Figure 52 : Présence de spermatozoïdes selon l'âge des reines.

5.4.2.1.3. Présence de spermatozoïdes selon l'état des ruches :

Les ruches avec un état jugé fort en termes de population, avaient enregistré un pourcentage de présence le plus élevé de spermatozoïdes (89,29%) contre 70,59% pour les ruches jugées faibles et encore moins (41,46%) pour les ruches moyennes (Figure 53).

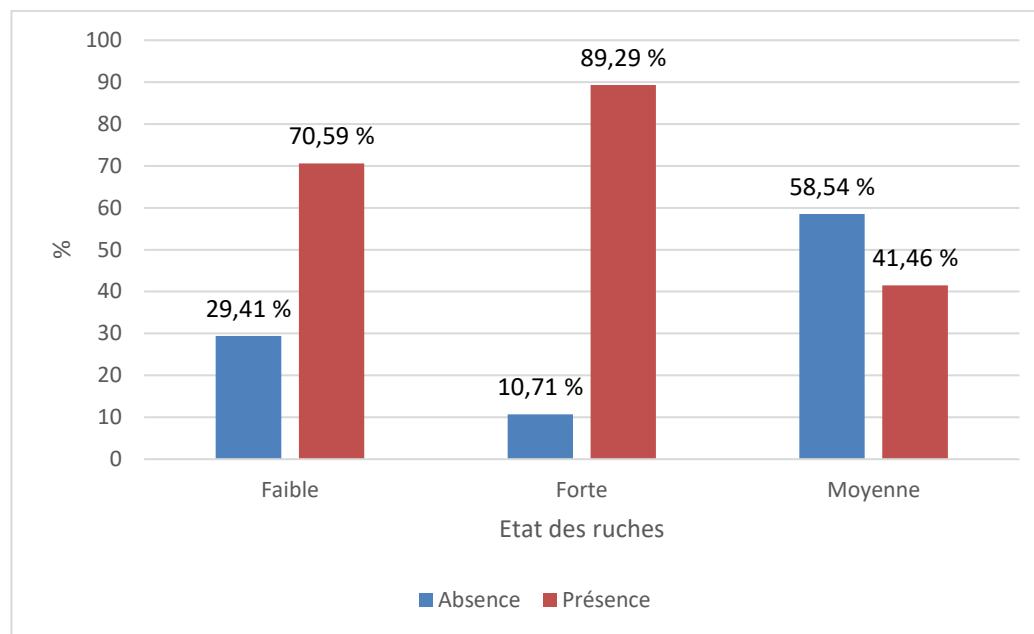


Figure 53 : Présence de spermatozoïdes selon l'état des ruches.

5.4.2.1.4. Présence de spermatozoïdes en fonction de l'âge des faux bourdons (Immature et mature) :

Les faux bourdons jugés matures avaient enregistré un pourcentage de présence de spermatozoïdes de 76% dans les glandes séminales contre 44% chez les faux bourdons immatures ($P=0,002$). (Figure 54).

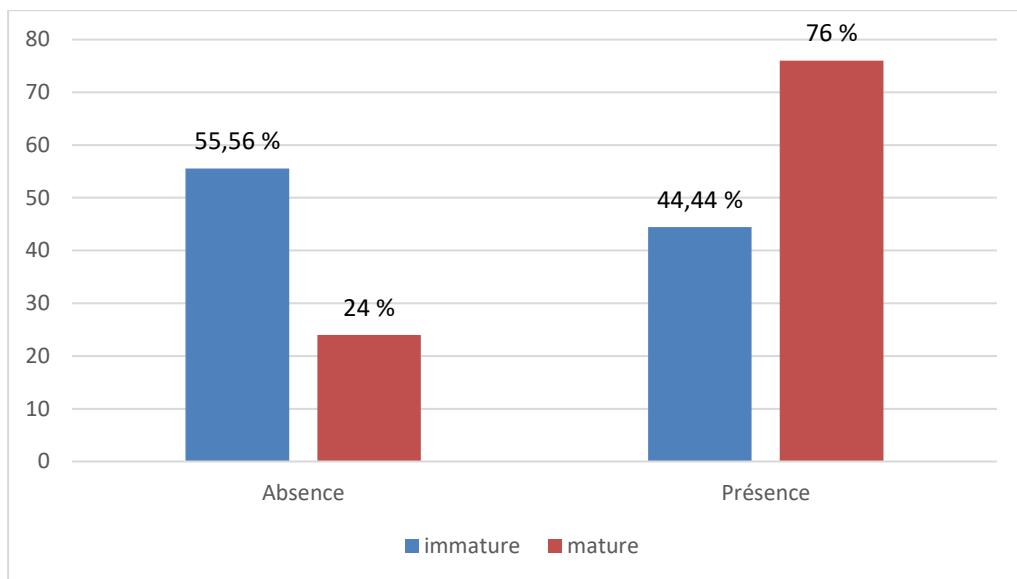


Figure 54 : Présence de spermatozoïdes selon l'âge des faux bourdons.

5.4.2.2. Activité des glandes à mucus :

La majorité des échantillons effectués sur les faux bourdons avait enregistré une présence de l'activité sécrétoire des glandes à mucus (96,51% vs 3,49%, $P<0,0001$). (Figure 55).

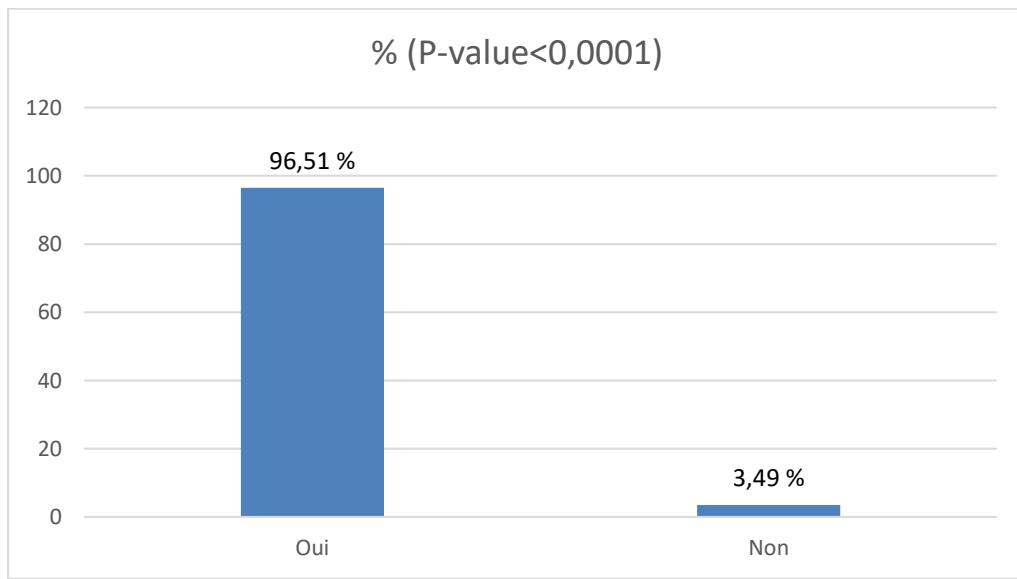


Figure 55 : Présence de l'activité sécrétoire des glandes à mucus.

5.4.2.2.1. Activité des glandes à mucus selon le mois de prélèvement :

Les fréquences de présence des sécrétions des glandes à mucus varient de 92,86% à 100% selon les mois de pleine ou hors saison de reproduction.

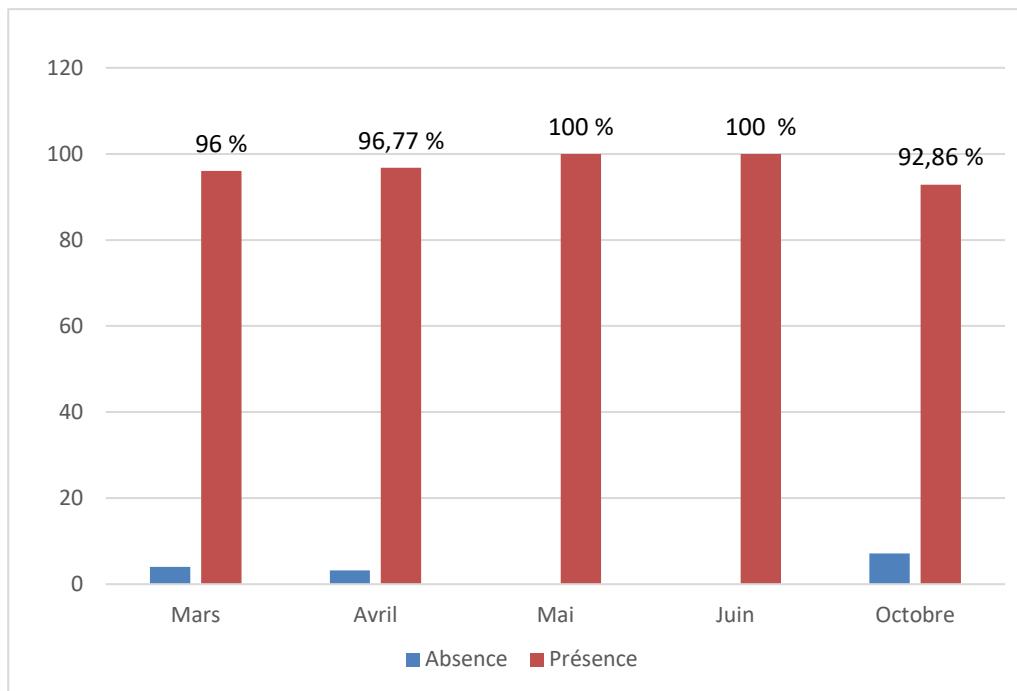


Figure 56 : Activité des glandes à mucus selon le mois de prélèvement.

Comme le montre la figure 56, durant la période de reproduction qui s'étend de mars à juin, l'activité reste presque stable : elle se fixe à 96 % en mars, connaît une légère hausse en avril (96,77 %), puis atteint son apogée à 100 % en mai et juin. En revanche, en octobre, l'activité diminue à 92,86 %.

5.4.2.2.2. Activité des glandes à mucus selon l'âge des reines :

Des taux de 96.15 %, 85.71 %, 100%, 92.89 % et 100% de présence de sécrétions de glandes à mucus sont enregistrés chez les faux bourdons issus, respectivement, de reines âgées de 1, 2, 3, 4 et 5 ans (Figure 57).

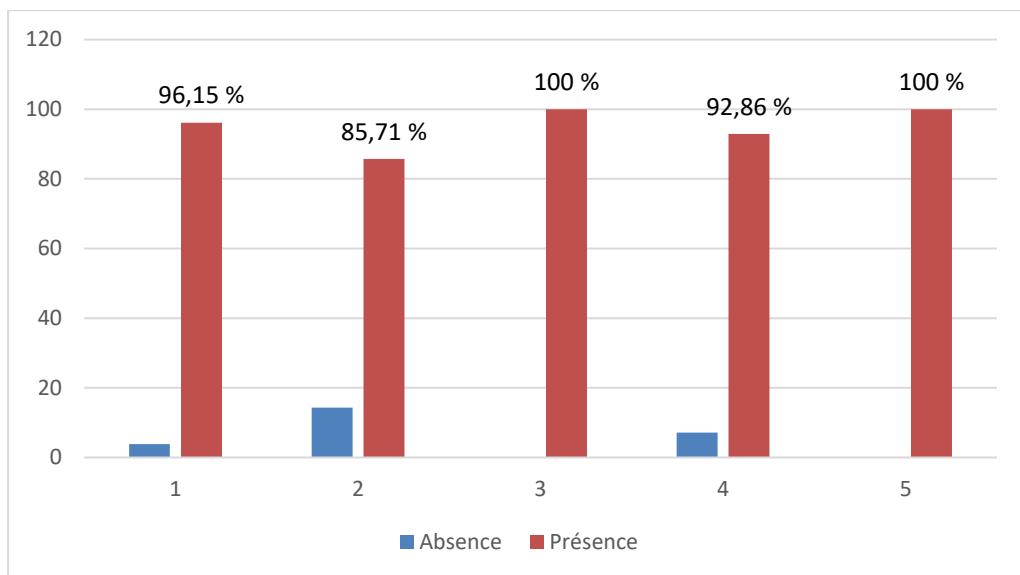


Figure 57 : Activité des glandes à mucus selon l'âge des reines.

5.4.2.2.3. Activité des glandes à mucus selon l'âge des faux bourdons (immature et mature) :

L'âge des faux bourdons ne semble pas affecter l'activité de sécrétion des glandes à mucus qui affichent des taux de 100 % pour les faux bourdons immatures contre 91,67% pour les faux bourdons matures (Figure 58).

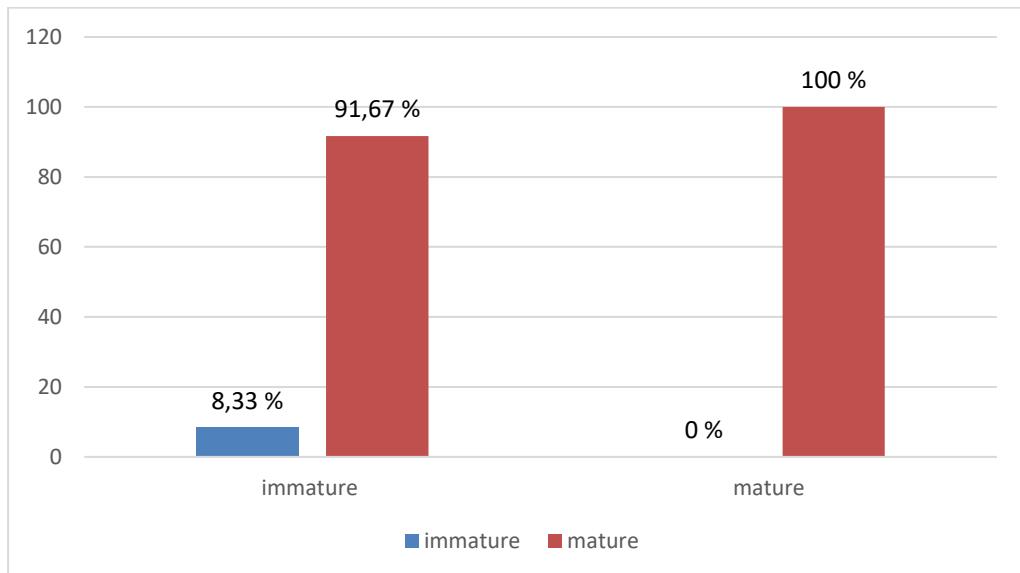


Figure 58 : Activité des glandes à mucus selon l'âge des faux bourdons (matures et immatures).

5.4.2.2.4. Présence des sécrétions des glandes à muqueuses en fonction de l'état des ruches :

L'analyse révèle une activité marquée des glandes à mucus chez les faux bourdons, quel que soit l'état de peuplement des ruches (Figure 59).

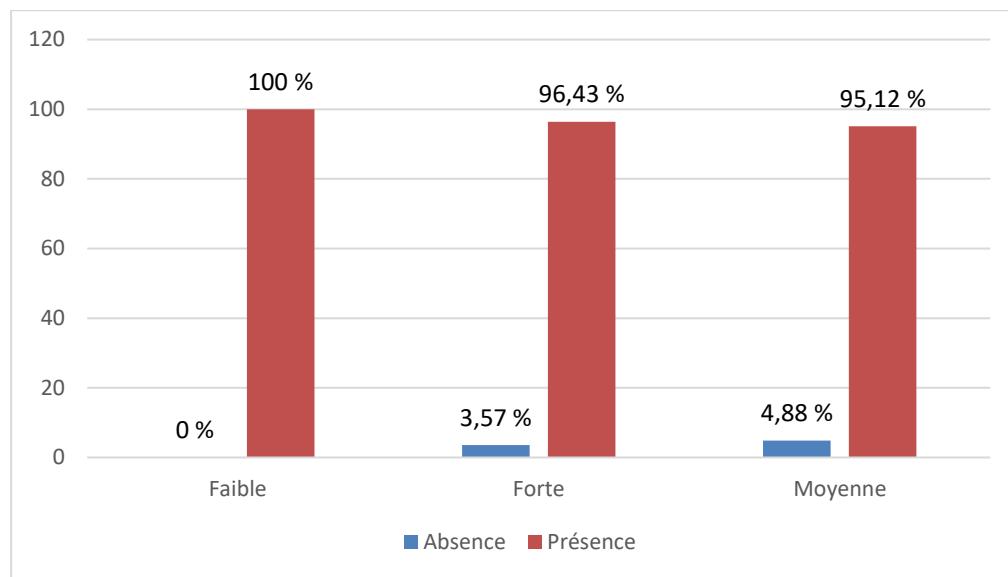


Figure 59 : Activité des glandes à mucus selon l'état des ruches.

Les taux de présence des sécrétions atteignent 96,43% dans les colonies fortes, 95.12% dans celles à population moyenne, et même 100% dans les ruches faiblement peuplées.

5.5. Discussion :

5.5.1. Enquête sur la gestion de l'élevage des FB par les apiculteurs :

Cette enquête explore les perceptions des pratiques des apiculteurs concernant les faux bourdons (FB), leur cycle biologique et leur rôle dans la ruche. Avec un taux de réponse de 64 % (52 réponses sur 81 questionnaires), cela suggère une représentativité acceptable. Cependant, le faible taux de réponses pour certaines questions limite la généralisation des conclusions.

5.5.1.1. Profil des apiculteurs :

La majorité des répondants (12/21) ont entre 35 ans et 49 ans, reflétant une tendance observée dans d'autres régions, comme en Europe où l'apiculture attire principalement des adultes d'âge moyen. Concernant l'expérience dans le domaine de l'apiculture, 66,7 % ont 3 ans à 10 ans d'expérience, une proportion similaire à une étude réalisée dans sept pays européens dont 64 % des apiculteurs cumulent une expérience de moins de 10 ans, pratique indiquant une profession en renouvellement [284].

5.5.1.2. Cycle des faux bourdons :

L'apparition des faux bourdons est principalement observée en février-mars, alignée avec les cycles naturels en zones tempérées, où les colonies initient la production de faux bourdons au printemps [57]. Cependant, quatre apiculteurs signalent une apparition en avril, possiblement liée à des variations climatiques locales, comme observé par Le Conte et al. [285] dans les régions à hivers prolongés. La disparition des faux bourdons survient majoritairement entre juin et août (71,42%), cohérente avec leur expulsion en fin de saison de reproduction [286]. Les observations tardives (octobre et novembre, 23,80 %) pourraient refléter des stratégies de colonies fortes ou des climats plus chauds, phénomènes décrits en Méditerranée [287].

5.5.1.3. Rôles des faux bourdons :

Une majorité des apiculteurs (76,2 %) associent les faux bourdons à la fécondation, confirmant leur fonction primaire connue [288]. Toutefois, 19,05 % mentionnent la ventilation comme rôle secondaire lors de la régulation thermique [265]. La méconnaissance partielle des rôles multiples des faux bourdons, (exemple : régurgitation du miel) souligne un besoin de formation, identifié par Stabentheiner et al. [289] dans des contextes similaires.

5.5.1.4. Utilisation de l'insémination artificielle:

Selon Kouas et Adjlane (2021) [288], l'adoption de cette technique commence à se développer en Algérie sous l'initiative de certains apiculteurs et associations apicoles. C'est exactement ce qui a été constaté dans notre étude qui révèle que seuls 14,29 % des apiculteurs enquêtés ont recours à l'insémination artificielle, un pourcentage nettement inférieur à celui observé en Europe (42 %) selon Du et al. [289]. Ce constat pourrait traduire l'existence de contraintes d'ordre technique ou économique dans la région concernée.

5.5.1.5. Critères de maturité sexuelle des faux bourdons :

Les apiculteurs identifient la maturité sexuelle selon des signes comportementaux (vibrations, bourdonnements) ou contextuels (congrégations). Bien que ces indicateurs soient empreintes utiles, ils contrastent avec les marqueurs physiologiques validés tels que la régression et l'atrésie testiculaire à 12-14 jours comme décrit par Rhodes [290], suggérant un décalage entre savoir pratique et connaissances scientifiques.

5.5.2. Fertilité des faux bourdons :

Dans cette étude, la fertilité des mâles d'abeille a été évaluée par moyen d'une technique histologique, réalisée sur les organes reproducteurs des faux bourdons. Cette approche a été effectuée sur deux périodes allant de mois de mars jusqu'au mois de juin (période de pleine saison de reproduction) et en période dite hors saison (mois d'octobre). Le principe est basé sur la détection d'éventuelle activité sécrétoire des glandes à mucus ainsi que la recherche des spermatozoïdes dans les vésicules séminales qui sont le lieu de stockage spermatique chez les faux bourdons.

5.5.2.1. Production des spermatozoïdes en fonction de la saison d'élevage des faux bourdons :

Nos résultats ont montré que, pendant la période de reproduction des abeilles, le taux de faux bourdons qui présentaient des spermatozoïdes dans les vésicules séminales, augmente dès le début de la saison de reproduction (mars : 60 %) jusqu'à la fin (juin : 100 %). Alors que, en hors-saison de reproduction (octobre), ce taux régresse significativement ($P=0001$) à une valeur de 7,14 %. L'abondance de production de faux bourdons en saison de reproduction est corrélée à l'abondance de la synthèse de spermatozoïdes et ceci peut être expliqué par la profusion du pollen comme source protéique et du nectar comme source énergétique. Au printemps, la zone où a été effectuée cette étude s'enrichit de multitudes de plantes mellifères à l'exemple d'oxalis, la bruyère, le ciste, le chardon, la bourrache, le thym, la lavande, le trèfle, le medicago et une variété d'arbres fruitiers tels que le cerisier, le prunier, le pommier, le poirier, l'abricotier et les agrumes. L'abondance des sources de nectar mais surtout du pollen stimule les reines à augmenter le rythme de la ponte, ce qui provoque le repeuplement exponentiel des colonies d'abeilles en particulier par les ouvrières nourricières qui sont au service de l'élevage des faux bourdons. Cette période de reproduction et d'abondance des provisions s'étend du mois de février jusqu'à la fin juin, période qui correspond au début des chaleurs d'été. Les mois de juillet et d'août sont caractérisés par de fortes canicules et des périodes très sèches, ce qui diminue drastiquement l'activité des abeilles et la cessation momentanée de la ponte des reines. À partir du mois de septembre, une floraison timide commence à réapparaître par quelques rares plantes mellifères telles que l'eucalyptus et l'inule visqueuse. La densité plus ou moins importante de ces deux plantes dans la région d'étude et les températures propices permettent la reprise de l'activité de ponte des reines et la réapparition relativement faible et rare des faux bourdons. Toutefois, la fertilité de ces faux bourdons hors saison est jugée médiocre car seulement 7,14 % contiennent des spermatozoïdes dans leurs vésicules séminales selon les résultats de cette étude. Il est donc probable que, le nombre ainsi que la fertilité des faux bourdons, sont étroitement influencés par la saison et plus que vraisemblablement par la richesse des ressources mellifères et la quantité de provisions.

Plusieurs études similaires ont rapporté des résultats semblables. En effet, alors que les facteurs saisonniers qui stimulent l'initiation du couvain de faux bourdons sont méconnus, il est généralement constaté que la population des mâles augmente progressivement dès l'entrée du printemps jusqu'au début de l'été. Quoique, selon Boes (2010) [75], les colonies d'abeilles pourraient régler, en elles-mêmes, la production de faux bourdons en fonction d'une combinaison de facteurs environnementaux tels que la disponibilité de la nourriture, l'effectif des ouvrières, les températures externes, la durée de la journée et la concentration de dioxyde de carbone dans la ruche. Par ailleurs, Rhodes et al. (2011) [46] rapportent que la qualité des faux bourdons varie durant la saison apicole et que l'élevage de ces derniers dépend fortement des ressources alimentaires disponibles. Dans ce contexte, il a été constaté que l'accès au pollen pendant le développement larvaire affecte directement la qualité de reproduction des faux boudons. En effet, Czekońska et al. (2015) [54] ont réalisé que la privation des colonies d'abeilles en matières protéiques par l'installation permanente des trappes à pollen pendant le développement larvaire des faux bourdons, induit à la naissance des mâles de petite taille avec une capacité d'éjaculation insuffisante par rapport aux faux bourdons issus des ruches dépourvues de trappes à pollen. Toutefois, la qualité spermatique de ces deux groupes reste similaire en termes de concentration et de viabilité spermatique. D'autre part, Stürup et al. (2013) [185] rapportent que la privation des faux bourdons en pollen, après leur éclosion, n'affecte pas leur fécondité et la viabilité spermatique reste réservée malgré les carences protéiques.

De toute évidence, la période de vie larvaire des faux bourdons pourrait être particulièrement critique suite aux carences nutritionnelles, notamment les protéines et les acides aminés. Ces disettes alimentaires peuvent provoquer un développement abdominal réduit chez les faux bourdons, affectant ainsi la taille des testicules et des vésicules séminales [291]. Elles ont également été associées à une détérioration de la qualité du sperme, réduisant le nombre de spermatozoïdes produits et affectant leur viabilité et leur mobilité, ce qui compromet leur capacité à atteindre et à féconder l'ovule [292].

Par ailleurs, Rousseau et Giovenazzo (2016) [272] ont mené une expérimentation pour élucider l'impact de la supplémentation alimentaire sur le développement et la fertilité des faux bourdons. Il en résulte que la supplémentation

en pollen (15 % de protéines ad libitum) et en sirop de nourrissement (1,2 litres de sucre / semaine) affecte positivement, aussi bien la taille et le poids que la production des spermatozoïdes et la viabilité spermatique chez les faux bourdons nourris par rapport au groupe témoin.

Le développement des ruches d'abeilles pendant la saison apicole, entre autres l'élevage des mâles, est rythmé par la taille des colonies, l'âge des reines, l'état des provisions, l'abondance des sources de nectar et de pollen ainsi que les conditions climatiques. C'est ainsi que l'élévation des températures externes stimule l'éveil de la colonie pour sortir de l'hibernation hivernal. L'abondance des ressources mellifères et les hausses graduelles des températures printanières stimulent davantage l'activité des abeilles et incitent les reines à augmenter la cadence de la ponte des œufs. Au fur et à mesure que le printemps s'approche de la fin, les températures externes s'élèvent rapidement, au point d'atteindre des températures ralentissant le dynamisme des ruches. Dans cette optique, Stürup et al. (2013) [185] ont testé la fécondité des faux bourdons, soumis expérimentalement à des températures extrêmes (39°C) pendant 24 heures. Ils rapportent ainsi, que l'exposition des faux bourdons à des températures élevées diminue significativement la viabilité des spermatozoïdes. Au-delà des températures de 40° C, la viabilité même des mâles est compromise. Ils confirment finalement que les faux bourdons sont extrêmement sensibles aux fortes chaleurs. A la lumière de cette expérimentation, on conclut que la saison et le climat constituent des facteurs favorables ou limitant pour l'élevage et la reproduction des faux bourdons, comme en témoignent les travaux de Morais et al (2022) [293] dans le nord-est du Brésil, dont ils rapportent que les faux bourdons des abeilles domestiques présentent une meilleure qualité spermatique pendant la saison humide que pendant la saison sèche.

Dans les conditions semi-arides du bassin méditerranéen, l'apparition des faux bourdons s'étend du mois de février jusqu'au mois de juillet, avec un pic d'élevage en mois d'avril et de mai [56]. Ces auteurs ont réalisé une étude sur deux espèces d'abeilles mellifères en Jordanie. Ils rapportent ainsi, qu'en mai (pic de saison de reproduction), les faux bourdons issus de reines d'*Apis mellifera ligustica* et d'*Apis mellifera syriaca*, présentaient respectivement des corps massifs (232 mg et 197 mg) et produisaient plus de spermatozoïdes (12.2 millions et 10.6 millions) par rapport aux faux bourdons de reste de l'année. De même, les faux

bourdons issus des ouvrières pondeuses de ces deux espèces, en mois de mai, présentaient respectivement des poids de (181 mg et 170 mg) et produisaient plus de spermatozoïdes (8.5 millions et 7.8 millions) par rapport aux faux bourdons d'ouvrières de reste de l'année. Alors que, dans l'hémisphère nord, en est du Canada, la courte saison apicole débute du mois de mai jusqu'au mois d'août. Selon une étude réalisée au Québec, Rousseau et al. (2015) [42] rapportent que le volume spermatique, lors d'éversion manuelle des faux bourdons, varie en fonction de la saison de reproduction et que les mâles élevés au mois de mai (début de saison) affichaient le plus bas niveau de fécondité. Néanmoins, le nombre de spermatozoïdes et la viabilité spermatique ne semblent pas affectés par la période d'élevage des faux bourdons. Par ailleurs, dans l'autre côté du globe, en sud-est de l'Australie (Canberra), une étude a été réalisée par Rhodes et al. [46] sur des faux bourdons de quatre lignées australiennes d'*Apis mellifera*. Cette expérimentation est échelonnée sur trois saisons à savoir : le printemps, l'été et l'automne, et qui correspondent à la période allant du mois d'octobre au mois d'avril. Il a été rapporté que la capacité d'éjaculation des faux bourdons, après l'éversion manuelle, n'est pas affectée par l'effet saison, tandis que, la concentration spermatique est significativement ($P<0,05$) dépendante de la saison d'élevage des faux bourdons. En effet, le volume spermatique était significativement plus élevé chez les faux bourdons du printemps (octobre et novembre) que chez ceux élevés en été et en automne (février jusqu'au avril). Par contre, la concentration spermatique est significativement plus élevée chez les faux bourdons de l'automne (avril) que chez ceux élevés au printemps et en été.

La plupart des études sur la qualité spermatique des faux bourdons n'ont évalué que quelques paramètres tels que le volume du sperme, la concentration et la viabilité spermatique. Alors que, l'évaluation objective et poussée de la qualité spermatique des faux bourdons devrait inclure les tests d'appréciation quantitative de l'intégrité spermatique [151], ainsi que les approches d'estimation de la fonctionnalité et de la motilité spermatique [249]. A ce sujet, il a été rapporté, qu'en Europe centrale (Pologne), les spermatozoïdes collectés sur des faux bourdons au début de la saison de reproduction (juin) sont plus long et présentaient des mouvements de rotation massale plus intenses que ceux collectés en fin de saison apicole (août) [145]. Une étude récente et plus large sur les faux bourdons d'*Apis mellifera*, englobant plusieurs paramètres spermatiques, a été menée au Brésil

dans la région de Caatinga. Ce biome est caractérisé par un climat tropical semi-aride dont le pic de la saison humide s'étend de mois de mars au mois de juin, tandis que la saison sèche s'étend de mois d'octobre jusqu'au décembre. Il a été ainsi rapporté par Morais et al. (2022) [293] que le nombre, la viabilité et la motilité spermatiques sont significativement plus élevés en période humide qu'en période sèche. De plus, tous les paramètres morphométriques liés à la longueur de la tête, de la queue et à la longueur totale du spermatozoïde étaient significativement plus élevés pendant la saison humide que pendant la saison sèche. Par contre, une incidence élevée de malformations spermatiques est observée au cours des deux saisons, avec un taux significativement plus évident en période humide qu'en période sèche.

Dans cette optique, une étude innovante basée sur l'histopathologie des tissus testicules des faux bourdons d'*Apis mellifera ligustica*, pourrait apporter des explications à l'origine de ces altérations spermatiques. En effet, Power et al (2020) [77], en utilisant une technique histologique, ont pu mettre en évidence l'absence de maturation des tubes séminifères, voire même leur dégénérescence sur des échantillons de faux bourdons, prélevés au printemps (du mois de mars au mois de juin) dans la région de Campania en Italie.

Toujours dans le contexte méditerranéen, l'étude réalisée par Zaitoun et al (2009) [56], chez *Apis Ligustica* et *Apis syriaca*, a révélé que les spermatozoïdes des mâles de ces deux races d'abeilles mellifères, présentent moins d'anomalies morphologiques (21 % et 20 % respectivement) en mois de mai (pic de la saison de reproduction), par rapport aux faux bourdons de reste de l'année. De même, les faux bourdons issus des ouvrières pondeuses affichent moins d'anomalies spermatiques (24 % et 26 %, respectivement pour *Apis syriaca* et *Apis ligustica*) en pleine saison par rapport aux mâles hors saison de reproduction.

5.5.2.2. Sécrétions des glandes à mucus en fonction des saisons d'élevage des faux bourdons:

Rappelant qu'au cours de la période de maturation sexuelle des faux bourdons, qui dure jusqu'à l'âge de 14 jours, les spermatozoïdes migrent progressivement depuis les gonades vers les vésicules séminales qui sont les lieux de stockage du sperme, en attente de l'accouplement [110]. Toutefois, le rôle principal de ces glandes annexes est alloué à leurs sécrétions exocrines, en

particulier celles des glandes à mucus. Dans cette étude, la lecture histologique des lames élaborées nous a permis d'évaluer l'activité sécrétoire de ces glandes, pendant la pleine saison de reproduction et hors saison apicole. En effet, la majorité (plus de 90 %) des échantillons prélevés est marquée par la présence de sécrétions des glandes à mucus aussi bien en pleine saison qu'en hors saison apicole, avec un taux maximal (100 %) en mois de mai et juin, période qui correspond au pic de la saison de reproduction au nord de l'Algérie. Chez les abeilles domestiques, le couvain de mâle commence à apparaître dans les colonies avec l'augmentation du flux de nectar et du rendement en pollen. Et la production maximale des faux bourdons est coïncidée avec le pic de disponibilité des ressources mellifères. Ce pic d'abondance alimentaire, écartant toute carence nutritionnelle possible, se répercute positivement sur la fonction de reproduction des faux bourdons en stimulant le métabolisme maximal des glandes sécrétoires. En effet, peu après l'émergence des faux bourdons, ces glandes à mucus commencent à secréter un liquide visqueux riche en protéines [128]. Toutefois, l'intensité de l'activité sécrétoire des glandes à mucus est tributaire du statut nutritionnel des faux bourdons pendant leur stade larvaire. En effet, Rousseau et al (2015) [42] ont rapporté qu'en début de la saison apicole (mois de mai) au Québec, dont les ressources mellifères et polliniques sont encore rares, les premières cohortes des faux bourdons qui naissent, affichent des volumes spermatiques très réduits. Les travaux de Czekońska et al. (2015) [54] en témoignent de l'effet des carences protéiques provoquées par la mise en place permanente des trappes à pollen, pendant le développement larvaire des faux bourdons. Il en résulte la naissance des mâles d'abeilles de petite taille avec une capacité d'éjaculation et des volumes spermatiques très réduits, conséquence d'une activité sécrétoire insuffisante. En revanche, selon Rousseau et Giovenazzo (2016) [272], la supplémentation des colonies d'abeilles en sirop, mais surtout en pollen, pendant les premières phases d'élevage du couvain mâle, améliore la qualité et la fertilité des faux bourdons, en donnant naissance à des mâles de poids élevés avec des volumes spermatiques très importants. Et selon Rhodes et al. (2011) [46], malgré que l'éversion manuelle des faux bourdons, lors de la collecte de la semence, ne soit pas affectée par l'effet de la saison, il n'en demeure pas moins que le volume spermatique est plus important au printemps qu'en été et en automne, en sud-est de l'Australie.

5.5.2.3. Fertilité des faux bourdons en fonction de l'âge des reines :

Dans notre étude, la différence de production de spermatozoïdes par les faux bourdons est très évidente entre la saison de reproduction et hors saison. Par contre, l'activité sécrétoire des glandes à mucus, qui reflète, en partie, le volume spermatique, varie peu entre ces deux saisons. Ces résultats sont d'autant plus évidents malgré l'âge différent des reines dont sont issus les faux bourdons échantillonnés. En effet, la reine dont proviennent les mâles prélevés hors saison de reproduction est âgée de quatre ans, donnant naissance à une cohorte d'individus dont la fertilité globale est très faible en termes de présence de spermatozoïdes. Mais aussi, l'activité sécrétoire des glandes à mucus relativement baisse par rapport à ceux prélevés en plein saison de reproduction. Ceci pourrait être expliqué par le fait que la spermatogenèse est très exigeante, en quantité et en qualité, aux éléments nutritionnels essentiels, en particulier les vitamines et les protéines polliniques.

Or, en hors saison, contrairement au printemps, les apports polliniques assurés par les ouvrières ne sont pas satisfaisants, tant sur le plan quantitatif qu'en termes variétal et qualitatif, ce qui induit des carences nutritionnelles, surtout au stade larvaire d'élevage. Il s'ensuit un avenir reproducteur peu prometteur de faux bourdons. En effet, la valeur nutritionnelle du pollen est déterminée par la qualité des protéines et leurs acides aminés, les lipides (surtout les flavonoïdes phytostérols), les carbohydrates (glucides) ainsi que les vitamines et leurs métabolites secondaires tels que les caroténoïdes [294]. Alors que, le pollen de bonne valeur nutritionnelle joue un rôle important sur le statut sanitaire des abeilles, renforçant le système immunitaire et assurant le bon développement des colonies [295]. En outre, il stimule la croissance optimale des glandes hypopharyngiennes des ouvrières nourricières pour la synthèse de la gelée royale [296]. Il augmente aussi l'activité enzymatique au niveau de l'appareil digestif [297]. Il assure également une qualité élevée d'hémolymphé [296] et augmente la fertilité des mâles [298].

Alors que, le peu du pollen floral d'hors saison était la seule source des protéines pour les abeilles dans notre étude, les faibles miellées et la rareté des ressources du nectar en cette période était comblée par les réserves internes accumulées pendant le printemps et par les apports externes lors de

nourrissement d'été. Par conséquent, un déséquilibre du rapport entre les taux de protéines et de glucides est évident, ce qui pourrait expliquer la fertilité médiocre des faux bourdons hors saison, rapportée dans notre étude. Les résultats d'une étude, dirigée par Czekońska et al. (2015) [54], confortent cette hypothèse. En effet, les faux bourdons élevés dans des colonies ayant un accès restreint au pollen présentaient un poids de 254 mg, un pourcentage d'éjaculation de 68%, un volume spermatique de 0,9 µL avec une viabilité de 68%. Par contre, les faux bourdons élevés dans des ruches ayant accès libre au pollen (dépourvues de trappes à pollen), leur poids à l'émergence est de 262 mg, le pourcentage d'éjaculation est de 80 %, présentant un volume spermatique de 1,1 µL, avec une viabilité de 80%.

Par ailleurs, les faux bourdons prélevés en pleine saison de reproduction sont issus de reines âgées entre un et cinq ans. Pendant toute cette période, les mâles testés présentaient des taux élevés de production de spermatozoïdes et d'activité de synthèse des glandes à mucus, avec un pic au mois de juin. Ceci nous mène à dire que l'âge des reines n'influence guère la fertilité de leurs descendances, si ce n'est la saison d'élevage en termes du climat mais surtout de l'abondance et la diversité des ressources de butinage, qui module le pouvoir fécondant des faux bourdons.

D'autre part, il est important de signaler que le seul protocole thérapeutique adopté dans la gestion des ruchers, objets de prélèvements de faux bourdons, est le traitement contre le varroa. L'acide oxalique est généralement appliqué en début de saison apicole (fin janvier ou début février), tant que les températures externes sont encore très basses. Il présente l'avantage d'être efficace et l'absence de contamination des produits de la ruche. Un deuxième traitement est appliqué, à base d'Amitraz (Apivar®), lorsque la surface du couvain est réduite et la ponte de la reine est diminuée ou cessée complètement [299]. Pour éviter la contamination du miel par les résidus chimiques de ce produit, le traitement est effectué en fin du mois d'octobre, juste après la récolte tardive, et après l'enlèvement des hausses. Or, dans notre étude, le prélèvement des faux bourdons d'hors-saison était réalisé avant le deuxième traitement anti-varroase (début octobre). Ce qui laisse penser que les abeilles, en particulier les mâles, ont subi la forte pression estivale de cet acarien. Cette hypothèse pourrait contribuer à l'explication de la fertilité médiocre des faux bourdons tardivement échantillonnés, car des auteurs rapportent que le varroa affecte le succès reproducteur des mâles [300]. Dans l'étude réalisée par

Duay et al. (2002) [258], une corrélation positive a été établie entre la durée du vol et le nombre de spermatozoïdes chez les faux bourdons. En effet, les mâles infestés par le varroa produisent 24 à 45 % moins de spermatozoïdes, avec une capacité de vol très réduite.

Modélisation de la population Varroa avec Apivar

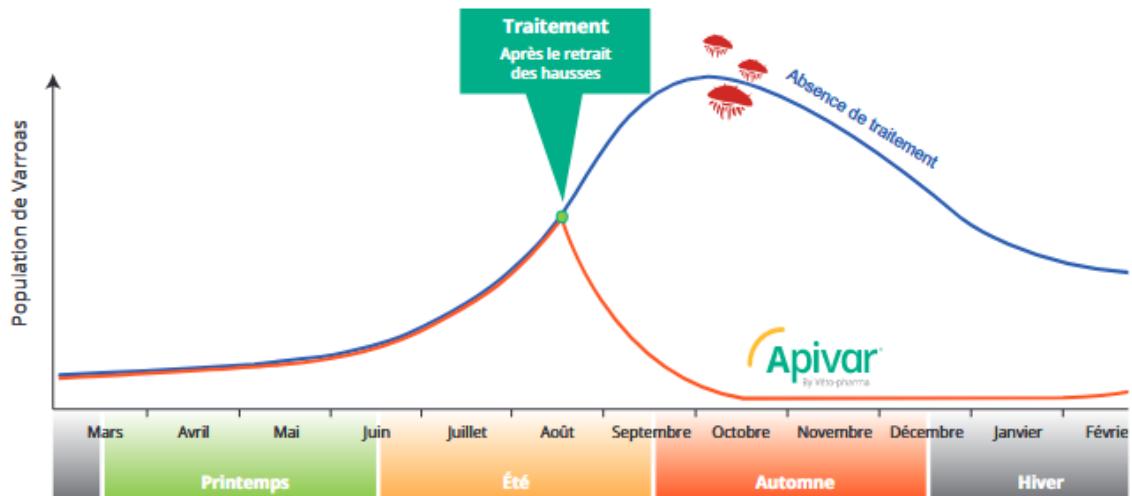


Figure 60 : Courbe d'infestation des colonies par le varroa et protocole d'application du traitement par Apivar® [299].

De ce qui précède, l'âge des reines n'a pas d'effet marqué sur la fertilité des faux bourdons. Cependant, l'absence ou la présence d'une reine dans une colonie peut en affecter potentiellement. Dans ce contexte, les ouvrières pondeuses apparaissent dans les colonies désespérément orphelines et donnent naissance à des mâles de petite taille. Ces faux bourdons issus de ces colonies orphelines produisent moins de spermatozoïdes à viabilité inférieure, avec davantage d'anomalies morphologiques par rapport à ceux issus par une reine dans une colonie normale [56]. Des résultats similaires ont été déjà rapportés par Schlüns et al. (2003) [188], observant une moyenne de 11,95 millions de spermatozoïdes pour les faux bourdons normaux, contre 7,45 millions pour les mâles issus des ouvrières pondeuses.

Fait intéressant, dans l'étude réalisée par Ginçer et Firatli (2005) [260], les faux bourdons issus de reines et ceux issus des ouvriers pondeurs présentaient respectivement 12,01 millions et 10,17 millions de spermatozoïdes, et ce malgré l'élevage qui est initié dans des cellules de mâles. Quant aux faux bourdons issus des ouvrières pondeuses, élevés dans de petits alvéoles (cellules d'ouvrières), ils

affichent une moyenne de 8,62 millions de spermatozoïdes dans leurs vésicules séminales. Ces résultats suggèrent que la fertilité des mâles dépend principalement de l'origine de l'œuf haploïde, et partiellement du type de cellule d'élevage. D'autre part, ces trois types de faux bourdons présentent respectivement des poids de 273,8 mg, 227,3 mg et 173,5 mg à l'émergence. Cette décroissance du poids peut être expliquée par la différence du profil nutritionnel [260]. Ainsi, on peut conclure que la fertilité des faux bourdons dépend fortement de l'origine de l'œuf haploïde et, dans une moindre mesure, de type (taille) de la cellule d'élevage, probablement par les quantités d'apports alimentaires prodigués aux larves du couvain.

Pour conclure d'une manière plus objective, si les résultats de cette étude n'ont pas révélé un effet direct de l'âge des reines sur la fertilité de leurs descendances masculines et que la littérature pointe plus sur l'origine de l'œuf haploïde, il n'en demeure pas moins que l'effectif et la force de la colonie sont inversement corrélés à l'âge de la reine. En effet, opter pour des jeunes reines, de bonne qualité reproductive [238], augmente significativement l'effectif des colonies d'abeilles, ce qui constitue un facteur clé d'amélioration de la productivité des exploitations apicoles [281]. De ce fait, l'âge des reines influence indirectement la fertilité des faux bourdons, par le biais de la taille de l'essaim ; facteur décisif dans le maintien du couvain dans de bonnes températures et le rendement de butinage des ouvrières adultes.

5.5.2.4. Fertilité des FB en fonction de l'état de peuplement des ruches :

Dans cette étude, les faux bourdons issus de ruches très denses en population et de colonies peu peuplées ont affiché des taux élevés de présence de spermatozoïdes dans leurs vésicules séminales (89,29 % et 70,59 % respectivement), contre seulement 41,46% pour les ruches de taille moyenne. Parallèlement, l'activité des glandes à mucus s'est révélée fortement marquée chez tous les faux bourdons, indépendamment de l'état de peuplement de leurs ruches. Selon Henderson (1991) [301], la taille de l'essaim dans les colonies d'abeilles influence la construction des rayons à mâles et la production de faux bourdons. C'est ainsi, la période de forte production du couvain mâle, qui serait à l'origine du pic de production des faux bourdons, survient juste après celle des ouvrières [75], [156]. Quant aux colonies faibles, elles ne peuvent même pas initier l'élevage des mâles [301]. En fait, les colonies d'abeilles régulent la production des mâles en fonction de leur capacité à

entretenir leur couvain. Le nombre de population d'ouvrières est déterminant en termes de soins apportés à l'élevage, de production de la gelée royale, de synthèse de gelée nourricière (bouillie larvaire), d'assurance des conditions d'ambiance optimales dans la ruche et l'aptitude à profiter des miellées et de la récolte du pollen [56].

À cet effet, les colonies comptant une forte population d'ouvrières ont de grandes chances de produire des faux bourdons très fertiles. Quant aux colonies faibles, objets de prélèvements dans cette étude, elles étaient en réalité très développées en début de saison de reproduction, avant de subir la fièvre d'essaimage, qui a entraîné une chute importante de leur effectif. Quoique, les faux bourdons issus de ces colonies restent toutefois assez fertiles, car ils étaient nés à une période où les colonies étaient encore prospères (abondance d'ouvrières et des réserves alimentaires). En revanche, les colonies moyennes avaient toutes des reines âgées plus de deux ans, ce qui se traduit par un taux de ponte relativement faible. Cette baisse de ponte réduit le nombre d'ouvrières disponibles, entraînant ainsi une diminution de la collecte de ressources florales. Ces deux facteurs principaux contribuent à une production limitée de faux bourdons, dont la fertilité est également faible en raison du manque de soins apportés aux larves et d'un apport nutritionnel insuffisant. Sachant que, en cas de disette, c'est le couvain mâle qui fait l'objet d'inévitables restrictions [270].

Par ailleurs, dans une colonie d'abeilles, la température optimale de couvaison est de 34 °C [302]. Toutefois, la répartition de la température dans la ruche n'est pas uniforme. Sachant que le couvain des faux bourdons est moins exigeant en chaleur par rapport au couvain d'ouvrières [265], c'est pourquoi la reine adopte une stratégie de ponte très réfléchie, en réservant le centre du nid pour la ponte des œufs fécondés et la périphérie pour les œufs haploïdes. Dans le cas des colonies moins peuplées, surtout en temps froid, la difficulté réside dans le maintien d'une ambiance optimale dans la ruche. Toute une chute de température du couvain, engendre la naissance de faux bourdons à capacité d'éjaculation très faible avec diminution du volume spermatique [267]. En revanche, en temps chaud, l'incapacité des petits essaims à correctement ventiler le couvain mâle induit la diminution du nombre de spermatozoïdes, avec une viabilité très réduite [267],[268].

5.5.2.5. Fertilité des faux bourdons en fonction de leurs âges :

Dans notre étude, les faux bourdons immatures testés pour leur fertilité sont collectés directement dans la ruche, soit juste à leur émergence ou plutôt recherchés

sur les cadres latéraux de provision. Un taux de 44 % de ces mâles présente des spermatozoïdes dans leurs vésicules séminales. Par contre, la totalité (100 %) de ces FB immatures affiche une activité sécrétoire des glandes à mucus. Selon la littérature, la migration des spermatozoïdes depuis les testicules vers les vésicules séminales débute après le troisième jour post-émergence du faux bourdon et peut se poursuivre jusqu'au 12e jour [143]. De même, dès l'émergence, les glandes à mucus se développent progressivement et accumulent leurs sécrétions glandulaires. Elles atteignent leur pleine maturité entre le sixième et le neuvième jour de la vie adulte des faux bourdons [114]. C'est ainsi que le volume spermatique augmente avec l'âge de faux bourdon, même au-delà de sa maturité sexuelle [42]. Ce profil sécrétoire des glandes à mucus, dès l'émergence des mâles, explique pourquoi l'ensemble des faux bourdons a présenté une activité glandulaire. En revanche, les 56 % des mâles pour lesquels aucun spermatozoïde n'a été détecté dans les vésicules séminales pourraient ne pas avoir encore atteint l'âge de migration des spermatozoïdes.

Concernant les faux bourdons matures, ils sont collectés à l'entrée de la ruche, sur le plateau d'envol. Ces mâles avaient enregistré un pourcentage de présence de spermatozoïdes de 76 % dans les glandes séminales et une activité sécrétoire des glandes à mucus dans 91,67 % des cas. Portant ces faux bourdons simulant des vols de reconnaissance autour des ruchers, semblent prêts à rejoindre les DCAs pour la fécondation des reines, alors que 24 % de ces mâles sont dépourvus de spermatozoïdes et 8,33 % ne présentent aucune activité sécrétoire des glandes à mucus. Or, ces sécrétions jouent un rôle capital dans la reproduction des castes fertiles, en activant les spermatozoïdes [127] et en participant à la formation du spermatophore et du liquide séminal [69]. Mais aussi, étant riche en protéines qui se polymérisent rapidement au contact de l'air, elles renforcent l'attachement du faux bourdon à la reine lors de l'accouplement et forment ensuite le bouchon copulatoire au niveau de la chambre du dard de la reine [202].

L'absence de spermatozoïdes et de l'activité sécrétoire des glandes à mucus chez une portion des faux bourdons matures reflète clairement la présence d'un problème de fertilité des mâles. Plusieurs études ont rapporté que la production, la maturation et la viabilité des spermatozoïdes chez les mâles abeilles sont étroitement liées à l'âge. L'éversion manuelle de l'endophallus est la méthode la plus couramment utilisée pour induire l'éjaculation et la récolte du sperme. Dans ce contexte, chez les faux bourdons matures (âgés de 12 à 14 jours), le pourcentage des individus qui

présentent du sperme lors d'éjaculation manuelle varie de 8,3 % à 58,6 % [46], [303]. Une étude réalisée, en deux années successives, sur des mâles âgés de 14, 20, 25 et 35 jours, a révélé que ce pourcentage d'éjaculation positif passe de 63,5 % à 87,8 % [42], [272]. De même, l'étude réalisée par Rhodes et al. (2011) [46] a montré une même allure de croissance en taux de mâles éjaculés (à 14 jours : 58,6 % et à 35 jours : 75,8 %).

Compte tenu de la concentration spermatique et du risque de diminution de la viabilité des spermatozoïdes à partir de la quatrième semaine de vie, l'âge idéal des faux bourdons pour la collecte de la semence et la fécondation des reines, est suggéré autour de 20 jours post-émergence [46], [262]. Dans cette optique et selon certains auteurs, le pourcentage de faux bourdons collectés après une éjaculation forcée varie de 62 % à 80 % entre l'âge de 15 à 25 jours post-émergence [54], [304]. Les résultats de ces différentes études corroborent le taux (76 %) obtenu dans notre étude, en termes de présence de spermatozoïdes dans les organes reproducteurs mâles. Toutefois, lors d'éversion manuelle de l'endophallus, une manipulation mal intentionnée ou l'exercice d'une pression excessive sur le thorax du faux bourdon peuvent entraver l'éjaculation ou même faire éclater les organes reproducteurs mâles à l'intérieur de son abdomen (figure N° 38), ce qui pourrait nuancer les résultats rapportés par les précédentes études. En revanche, dans notre étude, comme celle réalisée par Den Boer et al. (2010) [305], la recherche des spermatozoïdes a ciblé les vésicules séminales, lieux de stockage du sperme des faux bourdons [121]. Cependant, sous l'effet d'excitation des mâles, l'éjection de la semence, depuis les vésicules séminales vers le bulbe, est probable, même en plein prélèvement, sauf que le pincement des derniers tergites empêche l'extériorisation de l'endophallus. De ce fait, les vésicules séminales se vident de leurs spermatozoïdes et l'analyse pourrait révéler un résultat négatif.

Une interaction entre l'âge et l'effet saison a été observée par Rousseau et al. (2015) [42] dont ils rapportent que le volume spermatique des faux bourdons, d'âges différents (14, 21 et 35 jours), varie significativement selon que les mâles sont collectés au printemps ou en été. Quoiqu'il soit, cette variation saisonnière est d'une tendance non uniforme. En effet, Fisher et al. (2018) [303] ont constaté des variations significatives de la viabilité spermatique des faux bourdons, prélevés dans un même rucher et pendant deux étés consécutifs. Suggérant ainsi que les facteurs environnementaux, comme les ressources alimentaires, semblent avoir un impact plus

marqué sur la fertilité des mâles d'abeilles.

En conclusion, les résultats de notre étude, ainsi que les différentes ressources bibliographiques, concordent à établir que la densité des colonies, l'âge des faux bourdons et le moment d'élevage des mâles sont des facteurs interdépendants et interactifs, qui modulent significativement la fertilité des faux bourdons. Si l'âge des reines d'abeilles n'a pas d'effet direct sur la fertilité de leurs descendances masculines, nos résultats révèlent, encore une fois, une forte variabilité saisonnière de la fertilité des faux bourdons, sans qu'elle soit forcément constante d'année en année. Par conséquence, le succès reproductif des mâles d'abeilles est fortement conditionné par la période d'élevage et la richesse des biotopes en plantes mellifères et l'abondance des sources d'approvisionnement en miel et en pollen.

5.6. Conclusion :

L'enquête sur la gestion de la reproduction des faux bourdons auprès des apiculteurs révèle des tendances alignées avec la littérature sur le cycle des faux bourdons, mais souligne des lacunes dans les pratiques et les connaissances (rôles secondaires des faux bourdons). Nonobstant, fort est de constater qu'un éveil de conscience commence à s'émerger, compte à la gestion de l'élevage et l'importance de reproduction des faux bourdons. Les observations confirment que l'apparition et la disparition des FB suivent les cycles naturels en zones tempérées, bien que des variations locales existent, influencées par le climat et les ressources florales. Au regard des étages pédoclimatiques de la Wilaya de Tizi-Ouzou, les variations observées pourraient être exploitées par des études croisées avec des données climatiques. En perspective, des études futures devraient intégrer des méthodes mixtes (questionnaire et observations directes), avec un échantillonnage plus large, pour affiner ces résultats et populariser davantage l'intérêt des faux bourdons dans la bonne gestion apicole.

L'analyse histologique des tissus reproductifs mâles a permis de déterminer des facteurs intrinsèques qui conditionnent la fertilité des faux bourdons. De surcroit, l'état de peuplement et la densité élevée des colonies influence la fertilité des mâles d'abeilles et, du coup, pourrait améliorer le taux de fécondation des jeunes reines. De même, il est crucial d'observer l'âge de maturité des faux bourdons, surtout lors du recours à l'insémination instrumentale, car leur fertilité est optimale lorsque les mâles se montrent vigoureux, excités et prêts à rejoindre les sites des congrégations. Quant à l'âge des reines, il n'a aucun effet direct sur la fertilité de leur descendance.

Par ailleurs, l'étude de la fertilité des faux bourdons a clairement démontré le lien étroit entre la saison d'élevage et la production de spermatozoïdes par les faux bourdons dans le nord algérien. Cette production spermatique excelle au cours de la saison de reproduction des abeilles et reste relativement stable jusqu'à la fin du printemps. Par contre, elle décline très significativement en hors-saison apicole. Néanmoins, la réapparition éphémère des mâles dans les ruches hors saison de reproduction, même avec une faible qualité spermatique, permet aux éleveurs d'abeilles de lancer l'élevage de reines et de récupérer ainsi les ruches orphelines, causées généralement par les fortes canicules et la disette de l'été. Ces reines nouvellement obtenues en hors saison, malgré que leur fertilité soit

généralement médiocre, elles empêchent, via leurs phéromones, l'apparition des ouvrières pondeuses qui sont à l'origine des colonies bourdonneuses. Mais aussi, elles permettent, néanmoins, la survie de la colonie jusqu'au début de la saison printanière pour reprendre la ponte et offrir la chance à la colonie d'élever de nouvelles reines de remplacement en pleine saison de reproduction.

Au final, la gestion d'élevage des faux bourdons par les apiculteurs gagnerait à intégrer davantage de connaissances scientifiques, notamment sur leur biologie et leur nutrition. Optimiser les pratiques apicoles (supplémentation alimentaire, sélection des colonies fortes, adaptation aux variations climatiques) pourrait améliorer la fertilité des faux bourdons et, par extension, la santé des colonies d'abeilles. Des formations techniques et des recherches complémentaires, intégrant des études comparatives sur la qualité spermatique (le volume, la concentration, la viabilité, la mobilité et l'intégrité spermatique) s'avèrent indispensables pour l'optimisation d'une apiculture rentable et durable.

5.7. Perspectives :

L'Algérie, plus vaste pays d'Afrique et dixième mondialement avec plus de 238 millions d'hectares, dont 84 % occupés par le désert saharien et qui renferme de réserves hydriques considérables (estimées entre 30 000 à 100 000 milliards de mètres cubes d'eaux phréatiques et de surface), possède des potentialités qui lui permettent de se hisser parmi les leaders mondiaux dans le domaine agricole. L'essor de cette filière, en particulier l'agriculture biologique, est étroitement dépendant du repeuplement des pollinisateurs, surtout les abeilles domestiques. Or en Algérie, le cheptel apicole autochtone est fortement biaisé en faveur d'*Apis mellifera intermissa* (l'abeille tellienne). Alors que l'abeille saharienne (*Apis mellifera sahariensis*) est enclavée dans une région du sud-ouest, très restreinte. En attente des politiques rationnelles et réfléchies pour le développement d'une agriculture saharienne durable, les perspectives majeures, afin de repeupler les vastes territoires du sud par l'abeille saharienne, sont l'étude de sa reproduction et l'analyse de la fertilité, aussi bien des reines que des faux bourdons. L'analyse spermatique des mâles dans leur biotope naturel et loin des contaminants chimiques constitue une étape primordiale pour la modélisation des paramètres spermatiques (le volume, la concentration, la viabilité, la motilité et le taux de malformation spermatique). Cette approche, encore une fois, est cruciale, car l'analyse spermatique des mâles pourrait être un indicateur des pollutions chimiques, par les pesticides et les produits de lutte acridienne, ou même par la radioactivité, d'autant plus que l'aire de distribution d'*Apis mellifera sahariensis* est proche du site des essais nucléaires, opérés autrefois par la France coloniale.

Références bibliographies:

- [1] D. Chapman, "Numbers of Living Species in Australia and the World," Nov. 2009.
- [2] N. E. Stork, "How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth?," *Annu. Rev. Entomol.*, vol. 63, no. 1, pp. 31–45, Jan. 2018, doi: 10.1146/annurev-ento-020117-043348.
- [3] Y. M. Bar-On, R. Phillips, and R. Milo, "The biomass distribution on Earth," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 115, no. 25, pp. 6506–6511, Jun. 2018, doi: 10.1073/pnas.1711842115.
- [4] F. Fernandes, C. M. Turra, and E. L. G. Rios Neto, "World population aging as a function of period demographic conditions," *Demogr. Res.*, vol. 48, no. March, pp. 353–372, Mar. 2023, doi: 10.4054/DemRes.2023.48.13.
- [5] S. Saha, P. Kalla, and R. Nath, "Weed flora: A blessing in disguise to bees," vol. 4, no. 2, pp. 47–50, 2023.
- [6] K.-L. J. Hung, J. M. Kingston, M. Albrecht, D. A. Holway, and J. R. Kohn, "The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats," *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 285, no. 1870, p. 20172140, Jan. 2018, doi: 10.1098/rspb.2017.2140.
- [7] K. Baylis, E. M. Lichtenberg, and E. Lichtenberg, "Economics of Pollination Kathy," pp. 1–44, 2021.
- [8] J. Ollerton, R. Winfree, and S. Tarrant, "How many flowering plants are pollinated by animals?," *Oikos*, vol. 120, no. 3, pp. 321–326, Mar. 2011, doi: 10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x.
- [9] C. J. Rhodes, "Pollinator decline – An ecological calamity in the making?," *Sci. Prog.*, vol. 101, no. 2, pp. 121–160, 2018, doi: 10.3184/003685018x15202512854527.
- [10] L. A. Garibaldi, I. Steffan-Dewenter, and R. Winfree, "Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance," *Sci. 28 Febr. 2013 / Page 1 / 10.1126/science.1230200*, 2013, [Online]. Available: <http://www.sciencemag.org/content/early/recent>
- [11] A. Feketéné Ferenczi, I. Szűcs, and A. Bauerné Gáthy, "Evaluation of the Pollination Ecosystem Service of the Honey Bee (*Apis mellifera*) Based on a Beekeeping Model in Hungary," *Sustain.*, vol. 15, no. 13, p. 9906, Jun. 2023, doi: 10.3390/su15139906.
- [12] A. Abdullayev, B. Abdullaev, G. Musaeva, H. Raimov, and A. Ravshanov, "Green Technologies in Agriculture: Optimization of Heat Balance and Increasing Energy Efficiency of Greenhouses," *E3S Web Conf.*, vol. 574, p. 02003, Oct. 2024, doi: 10.1051/e3sconf/202457402003.
- [13] S. G. Potts *et al.*, "Safeguarding pollinators and their values to human well-being," *Nature*, vol. 540, no. 7632, pp. 220–229, 2016, doi: 10.1038/nature20588.
- [14] A. M. Klein *et al.*, "Importance of pollinators in changing landscapes for world crops," *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 274, no. 1608, pp. 303–313, 2007, doi: 10.1098/rspb.2006.3721.
- [15] S. Kluser, P. Neumann, M.-P. Chauzat, and J. Pettis, "Disorders and Other Threats To Insect," p. 16, 2010.
- [16] D. C. Copeland, K. E. Anderson, and B. M. Mott, "Early Queen Development in Honey Bees: Social Context and Queen Breeder Source Affect Gut Microbiota and Associated Metabolism," *Microbiol. Spectr.*, vol. 10, no. 4, 2022, doi: 10.1128/spectrum.00383-22.
- [17] N. Gallai, J. M. Salles, J. Settele, and B. E. Vaissière, "Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline," *Ecol. Econ.*, vol. 68, no. 3, pp. 810–821, 2009, doi: 10.1016/j.ecolecon.2008.06.014.

- [18] R. J. Gill *et al.*, "Protecting an Ecosystem Service: Approaches to Understanding and Mitigating Threats to Wild Insect Pollinators," *Adv. Ecol. Res.*, vol. 54, pp. 135–206, 2016, doi: 10.1016/bs.aecr.2015.10.007.
- [19] P. Hristov, B. Neov, R. Shumkova, and N. Palova, "Significance of apoidea as main pollinators. ecological and economic impact and implications for human nutrition," *Diversity*, vol. 12, no. 7, 2020, doi: 10.3390/d12070280.
- [20] D. Goulson, E. Nicholls, C. Botías, and E. L. Rotheray, "Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers," *Science (80-)*., vol. 347, no. 6229, 2015, doi: 10.1126/science.1255957.
- [21] A. Popescu, T. A. Dinu, E. Stoian, and V. Serban, "Beehives and honey production- A brief statistics in the world and European Union 2000-2022 and honey bees between interlinked crisis of biodiversity, pollution and climate change," *Sci. Pap. Ser. Manag. Econ. Eng. Agric. Rural Dev.*, vol. 2424, no. 3, p. 2024, 2024.
- [22] S. A. M. Khalifa *et al.*, "Overview of Bee Pollination and Its Economic Value for Crop Production," *Insects*, vol. 12, no. 8, p. 688, Jul. 2021, doi: 10.3390/insects12080688.
- [23] M. A. Aizen, L. A. Garibaldi, S. A. Cunningham, and A. M. Klein, "Long-Term Global Trends in Crop Yield and Production Reveal No Current Pollination Shortage but Increasing Pollinator Dependency," *Curr. Biol.*, vol. 18, no. 20, pp. 1572–1575, 2008, doi: 10.1016/j.cub.2008.08.066.
- [24] E. M. Venturini, F. A. Drummond, A. K. Hoshide, A. C. Dibble, and L. B. Stack, "Pollination reservoirs for wild bee habitat enhancement in cropping systems: a review," *Agroecol. Sustain. Food Syst.*, vol. 41, no. 2, pp. 101–142, 2017, doi: 10.1080/21683565.2016.1258377.
- [25] B. K. Goodrich, "Do more bees imply higher fees? Honey bee colony strength as a determinant of almond pollination fees," *Food Policy*, vol. 83, no. April 2018, pp. 150–160, 2019, doi: 10.1016/j.foodpol.2018.12.008.
- [26] G. Kleftodimos, N. Gallai, and C. Kephaliacos, "Ecological-economic modeling of pollination complexity and pesticide use in agricultural crops," *J. Bioeconomics*, vol. 23, no. 3, pp. 297–323, 2021, doi: 10.1007/s10818-021-09317-9.
- [27] Y. Le Conte and & M. Navajas, "Changements climatiques : impact sur les populations d'abeilles et leurs maladies," *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, vol. 27, no. 2, pp. 485–497, 2008.
- [28] M. Roffet-Salque, M. Regert, and R. P. Evershed, "Widespread Exploitation of the Honeybee by Early Neolithic Farmers 1 2 Mélanie Roffet-Salque," 2015.
- [29] K. Ohashi, M. Sasaki, H. Sasagawa, J. Nakamura, S. Natori, and T. Kubo, "Functional flexibility of the honey bee hypopharyngeal gland in a dequeened colony," *Zoolog. Sci.*, vol. 17, no. 8, pp. 1089–1094, 2000, doi: 10.2108/zsj.17.1089.
- [30] FAO-UN, "Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Bee Day, 20 May." [Online]. Available: <https://www.fao.org/world-bee-day/en/>
- [31] N. Hanley, T. D. Breeze, C. Ellis, and D. Goulson, "Measuring the economic value of pollination services: Principles, evidence and knowledge gaps," *Ecosyst. Serv.*, vol. 14, pp. 124–132, 2015, doi: 10.1016/j.ecoser.2014.09.013.
- [32] R. Prodanović *et al.*, "Beekeeping as a Tool for Sustainable Rural Development," *J. Agron. Technol. Eng. Manag.*, vol. 7, no. 2, pp. 1054–1066, Apr. 2024, doi: 10.55817/IXVM2800.
- [33] A. Yakupova and A. Svetalakov, "Innovative beekeeping strategies for sustainable rural employment: Addressing socio-ecological contradictions," *E3S Web Conf.*, vol. 614, p. 03015, Feb. 2025, doi: 10.1051/e3sconf/202561403015.
- [34] M. Spivak, E. Mader, M. Vaughan, and N. H. Euliss, "The plight of the bees,"

- Environ. Sci. Technol.*, vol. 45, no. 1, pp. 34–38, 2011, doi: 10.1021/es101468w.
- [35] M. van Dijk, T. Morley, M. L. Rau, and Y. Saghai, “A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050,” *Nat. Food*, vol. 2, no. 7, pp. 494–501, 2021, doi: 10.1038/s43016-021-00322-9.
- [36] N. Garantonakis, K. Varikou, A. Birouraki, M. Edwards, V. Kalliakaki, and F. Andrinopoulos, “Comparing the pollination services of honey bees and wild bees in a watermelon field,” *Sci. Hortic. (Amsterdam)*., vol. 204, pp. 138–144, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.scienta.2016.04.006.
- [37] S. L. Althaus, M. R. Berenbaum, J. Jordan, and D. A. Shalmon, “No buzz for bees: Media coverage of pollinator decline,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 118, no. 2, pp. 1–8, 2021, doi: 10.1073/PNAS.2002552117.
- [38] B. Benghalem, B. Kidoud, and Z. Salah, “Typology and morpho-géométric characterization of local bee populations *Apis mellifera intermissa* in the North-West of Algeria,” 2023, doi: 10.46325/gabj.v7i2.286.
- [39] D. VanEngelsdorp *et al.*, “Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology,” *PLoS One*, vol. 12, no. 7, pp. 1–23, 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0179535.
- [40] Nikita, A. Grover, P. Kalia, R. Sinha, and P. Garg, “Colony collapse disorder: A peril to apiculture,” *J. Appl. Nat. Sci.*, vol. 14, no. 3, pp. 729–739, Sep. 2022, doi: 10.31018/jans.v14i3.3502.
- [41] D. vanEngelsdorp, J. Hayes, R. M. Underwood, and J. S. Pettis, “A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009,” *J. Apic. Res.*, vol. 49, no. 1, pp. 7–14, Jan. 2010, doi: 10.3896/IBRA.1.49.1.03.
- [42] A. Rousseau, V. Fournier, and P. Giovenazzo, “*Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) drone sperm quality in relation to age, genetic line, and time of breeding,” *Can. Entomol.*, vol. 147, no. 6, pp. 702–711, 2015, doi: 10.4039/tce.2015.12.
- [43] D. vanEngelsdorp, D. R. Tarpy, E. J. Lengerich, and J. S. Pettis, “Idiopathic brood disease syndrome and queen events as precursors of colony mortality in migratory beekeeping operations in the eastern United States,” *Prev. Vet. Med.*, vol. 108, no. 2–3, pp. 225–233, Feb. 2013, doi: 10.1016/j.prevetmed.2012.08.004.
- [44] J. Pelletier-Rousseau, “Production et qualité du sperme de faux-bourdon durant la saison de production des reines de l’abeille domestique (*Apis mellifera* L.) au Québec,” p. 58, 2014.
- [45] C. Castellanos-Zacarías *et al.*, “Effect of Flowering Period on Drone Reproductive Parameters (*Apis mellifera* L.),” *Insects* , vol. 15, no. 9, pp. 1–11, 2024, doi: 10.3390/insects15090676.
- [46] J. W. Rhodes, S. Harden, R. Spooner-Hart, D. L. Anderson, and G. Wheen, “Effects of age, season and genetics on semen and sperm production in *Apis mellifera* drones,” *Apidologie*, vol. 42, no. 1, pp. 29–38, Jan. 2011, doi: 10.1051/apido/2010026.
- [47] J. T. Jackson, D. R. Tarpy, and S. E. Fahrbach, “Histological estimates of ovariole number in honey bee queens, *Apis mellifera*, reveal lack of correlation with other queen quality measures,” *J. Insect Sci.*, vol. 11, pp. 1–11, 2011, doi: 10.1673/031.011.8201.
- [48] F. Ben Abdelkader *et al.*, “Toxicity assessment of chronic exposure to common insecticides and bee medications on colony development and drones sperm parameters,” *Ecotoxicology*, vol. 30, no. 5, pp. 806–817, 2021, doi: 10.1007/s10646-021-02416-3.
- [49] A. Z. Brandorf, “Effect of acaricide treatment on body weight and reproductive characteristics of drones of the prioksky breed type of central Russian honeybees (*apis mellifera Linnaeus, 1758*),” *Sel’skokhozyaistvennaya Biol.*, vol. 58, no. 2, pp. 345–354, Apr. 2023, doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.345eng.

- [50] R. M. Johnson, L. Dahlgren, B. D. Siegfried, and M. D. Ellis, "Acaricide, Fungicide and Drug Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*)," *PLoS One*, vol. 8, no. 1, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0054092.
- [51] A. Friedli, G. R. Williams, S. Bruckner, P. Neumann, and L. Straub, "The weakest link: Haploid honey bees are more susceptible to neonicotinoid insecticides," *Chemosphere*, vol. 242, p. 125145, 2020, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125145.
- [52] Y. El-Nahhal, "Pesticide residues in honey and their potential reproductive toxicity," *Sci. Total Environ.*, vol. 741, p. 139953, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139953.
- [53] F. Sanchez-Bayo and K. Goka, "Pesticide residues and bees - A risk assessment," *PLoS One*, vol. 9, no. 4, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0094482.
- [54] K. Czekońska, B. Chuda-Mickiewicz, and J. Samborski, "Quality of honeybee drones reared in colonies with limited and unlimited access to pollen," *Apidologie*, vol. 46, no. 1, pp. 1–9, Jan. 2015, doi: 10.1007/s13592-014-0296-z.
- [55] S. Yadav, Y. Kumar, and B. L. Jat, "Honeybee: Diversity, Castes and Life Cycle," in *Industrial Entomology*, Singapore: Springer Singapore, 2017, pp. 5–34. doi: 10.1007/978-981-10-3304-9_2.
- [56] S. Zaitoun, A. Al-Majeed Al-Ghzawi, and R. Kridli, "Monthly changes in various drone characteristics of *Apis mellifera ligustica* and *Apis mellifera syriaca*," *Entomol. Sci.*, vol. 12, no. 2, pp. 208–214, 2009, doi: 10.1111/j.1479-8298.2009.00324.x.
- [57] M. L. Winston, *The Biology of the Honey Bee*. MA, USA: Harvard., vol. 36, no. 3. 1987.
- [58] G. KAIRO, "Effets des stresseurs environnementaux sur la reproduction de l'abeille domestique *Apis mellifera* L. : action par une exposition des mâles," 2016.
- [59] F. Nazzi, "The hexagonal shape of the honeycomb cells depends on the construction behavior of bees," *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, p. 28341, Jun. 2016, doi: 10.1038/srep28341.
- [60] T. D. Seeley and J. Tautz, "Worker piping in honey bee swarms and its role in preparing for liftoff," *J. Comp. Physiol. - A Sensory, Neural, Behav. Physiol.*, vol. 187, no. 8, pp. 667–676, 2001, doi: 10.1007/s00359-001-0243-0.
- [61] W. Seyfarth, "Faux-bourdons," pp. 1–24, 2012.
- [62] H. F. Abou-Shaara and M. Staron, "Notes on Queen Cells and Abnormal Development of Honey Bee Queens," *Bee World*, vol. 95, no. 4, pp. 128–129, Oct. 2018, doi: 10.1080/0005772X.2018.1522836.
- [63] J. Woyke, "Comparison of the size of eggs from *Apis mellifera* L queens and laying workers," *Apidologie*, vol. 25, no. 2, pp. 179–187, 1994, doi: 10.1051/apido:19940206.
- [64] A. M. Collins, "Variation in time of egg hatch by the honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)," *Ann. Entomol. Soc. Am.*, vol. 97, no. 1, pp. 140–146, 2004.
- [65] M. S. Cervoni and K. Hartfelder, "Caste Differentiation: Honey Bees." Christopher K. Starr, 2021.
- [66] E. C. M. Silva-Zacarin, R. L. M. S. De Moraes, and S. R. Taboga, "Silk formation mechanisms in the larval salivary glands of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)," *J. Biosci.*, vol. 28, no. 6, pp. 753–764, Dec. 2003, doi: 10.1007/BF02708436.
- [67] E. Amiri, M. K. Strand, O. Rueppell, and D. R. Tarpy, "Queen quality and the impact of honey bee diseases on queen health: Potential for interactions between two major threats to colony health," *Insects*, vol. 8, no. 2, pp. 22–26, 2017, doi: 10.3390/insects8020048.
- [68] H. F. Abou-Shaara, N. Adgaba, and A. A. Al-Ghamdi, "Current knowledge about

- behaviors of honey bee queens with highlighting of the importance future studies," *J. Basic Appl. Zool.*, vol. 82, no. 1, 2021, doi: 10.1186/s41936-021-00234-x.
- [69] N. A. Colonello-Frattini and K. Hartfelder, " Differential gene expression profiling in mucus glands of honey bee (*Apis mellifera*) drones during sexual maturation , " *Apidologie*, vol. 40, no. 4, pp. 481–495, 2009, doi: 10.1051/apido/2009009.
- [70] Juliana Rangel, "The Effects of Miticides on the Reproductive Physiology of Honey Bee (*Apis mellifera L.*) Queens," *Apimondia*, no. October, 2013.
- [71] L. S. Haddad, L. Kelbert, and A. J. Hulbert, "Extended longevity of queen honey bees compared to workers is associated with peroxidation-resistant membranes," *Exp. Gerontol.*, vol. 42, no. 7, pp. 601–609, 2007, doi: 10.1016/j.exger.2007.02.008.
- [72] M. A. Döke, M. Frazier, and C. M. Grozinger, "Overwintering honey bees: biology and management," *Curr. Opin. Insect Sci.*, vol. 10, no. December, pp. 185–193, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.cois.2015.05.014.
- [73] M. Gries and N. Koeniger, "Straight forward to the queen : pursuing honeybee drones (*Apis mellifera L.*) adjust their body axis to the direction of the queen," 1996.
- [74] K. Crailsheim, "The protein balance of the honey bee worker," *Apidologie*, vol. 21, no. 5, pp. 417–429, 1990, doi: 10.1051/apido:19900504.
- [75] K. E. Boes, "Honeybee colony drone production and maintenance in accordance with environmental factors: An interplay of queen and worker decisions," *Insectes Soc.*, vol. 57, no. 1, pp. 1–9, 2010, doi: 10.1007/s00040-009-0046-9.
- [76] J. M. Harrison, "Roles of individual honeybee workers and drones in colonial thermogenesis," *J. Exp. Biol.*, vol. 129, no. 1, pp. 53–61, May 1987, doi: 10.1242/jeb.129.1.53.
- [77] K. Power, M. Martano, G. Altamura, and P. Maiolino, "Histopathological findings in testes from apparently healthy drones of *Apis mellifera ligustica*," *Vet. Sci.*, vol. 7, no. 3, 2020, doi: 10.3390/vetsci7030124.
- [78] J. Woyke, "Reproductive Organs of Haploid and Diploid Drone Honeybees," *J. Apic. Res.*, vol. 12, no. 1, pp. 35–51, Jan. 1973, doi: 10.1080/00218839.1973.11099728.
- [79] T. D. Seeley, "Consensus building during nest-site selection in honey bee swarms: The expiration of dissent," *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 53, no. 6, pp. 417–424, 2003, doi: 10.1007/s00265-003-0598-z.
- [80] A. Goins and S. S. Schneider, "Drone 'quality' and caste interactions in the honey bee, *Apis mellifera L.*," *Insectes Soc.*, vol. 60, no. 4, pp. 453–461, 2013, doi: 10.1007/s00040-013-0310-x.
- [81] R. F. Moritz and P. Neumann, "Differences in nestmate recognition for drones and workers in the honeybee, *Apis mellifera* (L.)," *Anim. Behav.*, vol. 67, no. 4, pp. 681–688, Apr. 2004, doi: 10.1016/j.anbehav.2003.08.004.
- [82] F. L. W. Ratnieks and L. Keller, "Queen control of egg fertilization in the honey bee," *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 44, no. 1, pp. 57–61, 1998, doi: 10.1007/s002650050514.
- [83] J. S. Pettis, H. A. Higo, T. Pankiw, and M. L. Winston, "Queen rearing suppression in the honey bee - Evidence for a fecundity signal," *Insectes Soc.*, vol. 44, no. 4, pp. 311–322, 1997, doi: 10.1007/s000400050053.
- [84] P. K. Visscher, "Reproductive conflict in honey bees: A stalemate of worker egg-laying and policing," *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 39, no. 4, pp. 237–244, 1996, doi: 10.1007/s002650050286.
- [85] Z. Y. Huang *et al.*, "Hormonal regulation of behavioural development in the honey bee is based on changes in the rate of juvenile hormone biosynthesis," *J. Insect Physiol.*, vol. 37, no. 10, pp. 733–741, 1991, doi: 10.1016/0022-1910(91)90107-B.

- [86] N. Hrassnigg and K. Crailsheim, "The influence of brood on the pollen consumption of worker bees (*Apis mellifera* L.)," *J. Insect Physiol.*, vol. 44, no. 5–6, pp. 393–404, 1998, doi: 10.1016/S0022-1910(98)00022-5.
- [87] D. Knecht and H. H. Kaatz, "Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bees D," *Apidologie*, no. 21, pp. 457–468, 1990.
- [88] H. Schluens, G. Koeniger, N. Koeniger, and R. F. A. Moritz, "Sperm utilization pattern in the honeybee (*Apis mellifera*)," *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 56, no. 5, pp. 458–463, 2004, doi: 10.1007/s00265-004-0806-5.
- [89] S. Bogdanov, "Beeswax : History, Uses and Trade," *The Beeswax*, no. September 2009, pp. 1–16, 2016.
- [90] T. D. Seeley, "Life history strategy of the honey bee, *Apis mellifera*," *Oecologia*, vol. 32, no. 1, pp. 109–118, 1978, doi: 10.1007/BF00344695.
- [91] A. Prado, F. Requier, D. Crauser, Y. Le Conte, V. Bretagnolle, and C. Alaux, "Honeybee lifespan: the critical role of pre-foraging stage," *R. Soc. Open Sci.*, vol. 7, no. 11, p. 200998, Nov. 2020, doi: 10.1098/rsos.200998.
- [92] B. R. Johnson, "Division of labor in honeybees: Form, function, and proximate mechanisms," *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 64, no. 3, pp. 305–316, 2010, doi: 10.1007/s00265-009-0874-7.
- [93] T. D. Seeley, "Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies," *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 11, no. 4, pp. 287–293, Dec. 1982, doi: 10.1007/BF00299306.
- [94] G. V. Amdam and S. W. Omholt, "The hive bee to forager transition in honeybee colonies: The double repressor hypothesis," *J. Theor. Biol.*, vol. 223, no. 4, pp. 451–464, 2003, doi: 10.1016/S0022-5193(03)00121-8.
- [95] S. E. R. Hoover, C. I. Keeling, M. L. Winston, and K. N. Slessor, "The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development," *Naturwissenschaften*, vol. 90, no. 10, pp. 477–480, Oct. 2003, doi: 10.1007/s00114-003-0462-z.
- [96] I. V. Kozii, S. C. Wood, R. V. Koziy, and E. Simko, "Histomorphological description of the reproductive system in mated honey bee queens," *J. Apic. Res.*, vol. 61, no. 1, pp. 114–126, 2022, doi: 10.1080/00218839.2021.1900636.
- [97] M. Biri, "Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture. 7ème édition. De Vecchi. Paris.," p. 2010, 2010.
- [98] B. Baer, J. L. Heazlewood, N. L. Taylor, H. Eubel, and A. H. Millar, "The seminal fluid proteome of the honeybee *Apis mellifera*," *Proteomics*, vol. 9, no. 8, pp. 2085–2097, 2009, doi: 10.1002/pmic.200800708.
- [99] O. , Zennouche, "Présentée par," 2017.
- [100] M. Phiancharoen, S. Wongsiri, N. Koeniger, and G. Koeniger, "Instrumental insemination of *Apis mellifera* queens with hetero- and conspecific spermatozoa results in different sperm survival," *Apidologie*, vol. 35, no. 5, pp. 503–511, 2004, doi: 10.1051/apido:2004043.
- [101] R. P. Kapil, "Anatomy and histology of the male reproductive system of *Apis indica* Fab. (Apidae, Hymenoptera)," *Insectes Soc.*, vol. 9, no. 1, pp. 73–90, 1962, doi: 10.1007/BF02224581.
- [102] S. P. A. den Boer, J. J. Boomsma, and B. Baer, "Honey bee males and queens use glandular secretions to enhance sperm viability before and after storage," *J. Insect Physiol.*, vol. 55, no. 6, pp. 538–543, 2009, doi: 10.1016/j.jinsphys.2009.01.012.
- [103] R. DALLAI, "FINE STRUCTURE OF THE SPERMATHECA OF *APIS MELLIFERA*," *Insect Physiol.*, vol. 21, pp. 89–109, 1975.
- [104] O. S. Zennouche, M. Igner-Ouada, N. Benmeradi, and A. Mohammedi, "Structure and organization of the spermatozoa within the spermatheca of honey bee

- queens *Apis mellifera intermissa* L.,” *J. Apic. Res.*, vol. 54, no. 5, pp. 577–581, 2016, doi: 10.1080/00218839.2016.1173426.
- [105] A. M. Collins, “Functional longevity of honey bee, *apis mellifera*, queens inseminated with low viability semen,” *J. Apic. Res.*, vol. 43, no. 4, pp. 167–171, 2004, doi: 10.1080/00218839.2004.11101131.
- [106] F. Ruttner and V. Tryasko, “LA REPRODUCTION To cite this version : HAL Id : hal-00890271,” *Anat. Physiol. La Reprod. F.*, vol. 11, no. 4, pp. 1–12, 1968.
- [107] H. H. Laidlaw, “Artificial insemination of the queen bee (*Apis mellifera* L.): Morphological basis and results,” *J. Morphol.*, vol. 74, no. 3, pp. 429–465, 1944, doi: 10.1002/jmor.1050740307.
- [108] M. AMIGOU, “PRODUITS APICOLES ALIMENTAIRES (MIEL , POLLEN , GELÉE ROYALE ET PROPOLIS) Pour le,” 2016.
- [109] H. V. Gençer, Y. Kahya, and J. Woyke, “Why the viability of spermatozoa diminishes in the honeybee (*Apis mellifera*) within short time during natural mating and preparation for instrumental insemination,” *Apidologie*, vol. 45, no. 6, pp. 757–770, 2014, doi: 10.1007/s13592-014-0295-0.
- [110] A. Sawarkar and D. Tembhare, “Testis morphology and spermatogenesis in the Indian honeybee, *Apis cerana indica* F. (Hymenoptera: Apidae),” ~ 489 ~ *J. Entomol. Zool. Stud.*, vol. 3, no. 3, pp. 489–492, 2015, [Online]. Available: <http://www.entomoljournal.com/vol3Issue3/pdf/3-3-95.1.pdf>
- [111] A. Ferreira, F. Abdalla, W. Kerr, and C. Landim, “SYSTEMATICS , MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY Comparative Anatomy of the Male Reproductive Internal Organs of 51 Species of Bees,” *Neotrop. Entomol.*, vol. 33, no. 5, pp. 569–576, 2004.
- [112] D. C. Lago, J. R. Martins, R. P. Dallacqua, D. E. Santos, M. M. G. Bitondi, and K. Hartfelder, “Testis development and spermatogenesis in drones of the honey bee, *Apis mellifera* L.,” *Apidologie*, vol. 51, no. 6, pp. 935–955, 2020, doi: 10.1007/s13592-020-00773-2.
- [113] L. Moors, E. Schoeters, K. Coudron, and J. Billen, “Morphological changes in the male accessory glands and testes in *Vespula vulgaris* (Hymenoptera, Vespidae) during sexual maturation,” *Invertebr. Biol.*, vol. 128, no. 4, pp. 364–371, 2009, doi: 10.1111/j.1744-7410.2009.00178.x.
- [114] C. D. Klein *et al.*, “Testicular Changes of Honey Bee Drones, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), during Sexual Maturation,” *J. Insect Sci.*, vol. 21, no. 6, 2021, doi: 10.1093/jisesa/ieab049.
- [115] A. M. Collins, T. J. Caperna, V. Williams, W. M. Garrett, and J. D. Evans, “Proteomic analyses of male contributions to honey bee sperm storage and mating,” *Insect Mol. Biol.*, vol. 15, no. 5, pp. 541–549, 2006, doi: 10.1111/j.1365-2583.2006.00674.x.
- [116] C. Gillott, T. J. Wist, and J. Wolfe, “Bee flies, blister beetles and the grasshopper connection,” *Blue Jay*, vol. 61, no. 4, pp. 214–216, 2003, doi: 10.29173/bluejay5564.
- [117] J. J. Boomsma, P. Schmid-Hempel, and W. O. H. Hughes, “Life histories and parasite pressure across the major groups of social insects,” *Insect Evol. Ecol. Proc. R. Entomol. Soc. 22nd Symp.*, no. 1995, pp. 139–176, 2005, doi: 10.1079/9780851998121.0139.
- [118] J. J. Boomsma, B. Baer, and J. Heinze, “The evolution of male traits in social insects,” *Annu. Rev. Entomol.*, vol. 50, pp. 395–420, 2005, doi: 10.1146/annurev.ento.50.071803.130416.
- [119] A. Poiani, “Complexity of seminal fluid: A review,” *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 60, no. 3, pp. 289–310, 2006, doi: 10.1007/s00265-006-0178-0.
- [120] S. P. A. Den Boer, B. Baer, and J. J. Boomsma, “Seminal fluid mediates ejaculate

- competition in social insects," *Science* (80-.), vol. 327, no. 5972, pp. 1506–1509, 2010, doi: 10.1126/science.1184709.
- [121] S. Hayashi and T. Satoh, "Sperm maturation process occurs in the seminal vesicle following sperm transition from testis in honey bee males," *Apidologie*, vol. 50, no. 3, pp. 369–378, 2019, doi: 10.1007/s13592-019-00652-5.
- [122] S. P. A. Den Boer, J. J. Boomsma, and B. Baer, "Seminal fluid enhances sperm viability in the leafcutter ant *Atta colombica*," *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 62, no. 12, pp. 1843–1849, 2008, doi: 10.1007/s00265-008-0613-5.
- [123] M. Pearcy, N. Delescaille, P. Lybaert, and S. Aron, "Team swimming in ant spermatozoa," *Biol. Lett.*, vol. 10, no. 6, pp. 10–14, 2014, doi: 10.1098/rsbl.2014.0308.
- [124] B. Baer and P. Schmid-Hempel, "UNEXPECTED CONSEQUENCES OF POLYANDRY FOR PARASITISM AND FITNESS IN THE BUMBLEBEE, *BOMBUS TERRESTRIS*," *Evolution (N. Y.)*, vol. 55, no. 8, pp. 1639–1643, Aug. 2001, doi: 10.1111/j.0014-3820.2001.tb00683.x.
- [125] F. J. Richard, D. R. Tarpy, and C. M. Grozinger, "Effects of insemination quantity on honey bee queen physiology," *PLoS One*, vol. 2, no. 10, 2007, doi: 10.1371/journal.pone.0000980.
- [126] R. P. Dallacqua and C. Da Cruz-Landim, "Ultrastructure of the ducts of the reproductive tract of males of *Melipona bicolor bicolor* lepeletier (Hymenoptera, Apinae, Meliponini)," *J. Vet. Med. Ser. C Anat. Histol. Embryol.*, vol. 32, no. 5, pp. 276–281, 2003, doi: 10.1046/j.1439-0264.2003.00484.x.
- [127] L. MOORS, O. SPAAS, G. KOENIGER, and J. BILLEN, "Field trial of honey bee colonies bred for mechanisms of resistance against *Varroa destructor*," *Apidologie*, vol. 36, pp. 245–254, 2005, doi: 200501610.1051/apido.
- [128] A. B. Sawarkar and D. B. Tembhare, "Synthesis and chemical composition of mucus gland secretions in *Apis cerana indica*," *Apidologie*, vol. 41, no. 4, pp. 488–496, 2010, doi: 10.1051/apido/2009078.
- [129] J. Woyke, "Three substances ejected by *Apis mellifera* drones from everted endophallus and during natural matings with queen bees," *Apidologie*, vol. 41, no. 6, pp. 613–621, 2010, doi: 10.1051/apido/20010007.
- [130] A. Sawarkar and D. Tembhare, "Histomorphological study of the male reproductive system in the Indian drone Honeybee, *Apis cerana indica* (Hymenoptera)," pp. 63–66, 2015.
- [131] R. Dallai, F. Frati, P. Lupetti, and P. P. Facciulli, "Ultrastructure of the male accessory glands of *Allacma fusca* (Insecta, Collembola)," *Tissue Cell*, vol. 31, no. 2, pp. 176–184, May 1999, doi: 10.1054/tice.1999.0026.
- [132] J. Lino-Neto, V. A. Araújo, U. Zama, C. A. Neves, and H. Dolder, "ULTRASTRUCTURAL, HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE EPITHELIAL WALL OF THE SEMINAL VESICLE OF MATURE *Scaptotrigona xanthotricha* MOURE MALES (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)," *Braz. J. morphol. Sci.*, vol. 22, no. 4, pp. 193–201, 2005.
- [133] G. Koeniger and I. Bienenkunde, "article number of spermatozoa , sperm transfer and degree of polyandry in *Apis koschevnikovi* (Buttel-Reepen , 1906) Mating flights , *Most*, 1989.
- [134] G. Koeniger, H. Hänel, M. Wissel, and W. Herth, "Cornual gland of the honeybee drone (*Apis mellifera* L): Structure and secretion," *Apidologie*, vol. 27, no. 3, pp. 145–156, 1996, doi: 10.1051/apido:19960303.
- [135] G. Koeniger, N. Koeniger, M. Mardan, G. Otis, and S. Wongsiri, "Comparative anatomy of male genital organs in the genus *Apis*," *Apidologie*, vol. 22, no. 5, pp. 539–552, 1991, doi: 10.1051/apido:19910507.
- [136] L. Moors, G. Koeniger, and J. Billen, "Ontogeny and morphology of the bulbus,

- part of the male reproductive organ in *Apis mellifera carnica* (Hymenoptera, Apidae)," *Apidologie*, vol. 43, no. 2, pp. 201–211, 2012, doi: 10.1007/s13592-011-0094-9.
- [137] N. A. Colonello and K. Hartfelder, "Protein content and pattern during mucus gland maturation and its ecdysteroid control in honey bee drones," *Apidologie*, vol. 34, no. 3, pp. 257–267, May 2003, doi: 10.1051/apido:2003019.
- [138] G. Koeniger, N. Koeniger, M. Mardan, R. W. K. Punchihewa, and G. W. Otis, "Numbers of spermatozoa in queens and drones indicate multiple mating of queens in *Apis andreniformis* and *Apis dorsata*," *Apidologie*, vol. 21, no. 4, pp. 281–286, 1990, doi: 10.1051/apido:19900402.
- [139] L. M. Brutscher, B. Baer, and E. L. Niño, "Putative drone copulation factors regulating honey bee (*Apis mellifera*) queen reproduction and health: A review," *Insects*, vol. 10, no. 1, 2019, doi: 10.3390/insects10010008.
- [140] F. F. Smith and C. W. Walker, "Biochemical changes in the composition of the testes during spermatogenesis in the sea star *Asterias vulgaris*," *J. Exp. Zool.*, vol. 237, no. 3, pp. 351–364, 1986, doi: 10.1002/jez.1402370308.
- [141] L. do N. A. de A. Rego, R. Silistino-Souza, M. T. V. De Azeredo-oliveira, and L. Madi-ravazzi, "rego, 2013.htm." 2013.
- [142] J. Lino-Neto, S. N. Bao, and H. Dolder, "Sperm ultrastructure of the honey bee (*Apis mellifera*) (L) (Hymenoptera, Apidae) with emphasis on the nucleus-flagellum transition region," *Tissue Cell*, vol. 32, no. 4, pp. 322–327, 2000, doi: 10.1054/tice.2000.0119.
- [143] A. Kaya and O. Uysal, "in Vitro Spermatological Parameters in Drones," *Uludag Aricilik Derg.*, vol. 23, no. 2, pp. 268–279, 2023, doi: 10.31467/uluaricilik.1279779.
- [144] R. M. Johnson, L. Dahlgren, B. D. Siegfried, and M. D. Ellis, "Effect of in-hive miticides on drone honey bee survival and sperm viability," *J. Apic. Res.*, vol. 52, no. 2, pp. 88–95, 2013, doi: 10.3896/IBRA.1.52.2.18.
- [145] A. Gontarz, D. Banaszewska, M. Gryzinska, and K. Andraszek, "Differences in drone sperm morphometry and activity at the beginning and end of the season," *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, vol. 40, no. 5, pp. 598–602, 2016, doi: 10.3906/vet-1511-6.
- [146] D. Banaszewska and K. Andraszek, "Identification of honey bee sperm structures following the use of various staining techniques," *J. Vet. Res.*, vol. 67, no. 1, pp. 131–138, 2023, doi: 10.2478/jvetres-2023-0001.
- [147] W. D. Tarliyah I. Boedino A., "Motility of Honeybee *Apis Mellifera* L . (Hymenoptera : Apidae) Spermatozoa in Various Storage Temperature in Dilution Media Containing Different Glucose Levels," vol. 6, no. January 1999, pp. 15–20, 1999.
- [148] K. Power *et al.*, "Morphological and morphometric analysis of the Italian honeybee (*Apis mellifera ligustica*) spermatozoa: a preliminary study in Campania region," *Vet. Med. Anim. Sci.*, vol. 6, no. 1, p. 1, 2019, doi: 10.7243/2054-3425-6-2.
- [149] I. C. Bratu, V. Igna, E. Simiz, I. B. Dunea, and S. Pătruică, "The Influence of Body Weight on Semen Parameters in *Apis mellifera* Drones," *Insects*, vol. 13, no. 12, 2022, doi: 10.3390/insects13121141.
- [150] U. Zama, J. Lino-Neto, and H. Dolder, "Structure and ultrastructure of spermatozoa in Meliponini (stingless bees) (hymenoptera: Apidae)," *Tissue Cell*, vol. 36, no. 1, pp. 29–41, 2004, doi: 10.1016/j.tice.2003.08.003.
- [151] J. L. Yániz, M. A. Silvestre, and P. Santolaria, "Sperm quality assessment in honey bee drones," *Biology (Basel)*, vol. 9, no. 7, pp. 1–16, 2020, doi: 10.3390/biology9070174.
- [152] J. Rangel and T. D. Seeley, "Colony fissioning in honey bees: Size and significance of the swarm fraction," *Insectes Soc.*, vol. 59, no. 4, pp. 453–462,

- 2012, doi: 10.1007/s00040-012-0239-5.
- [153] C. Uthoff, M. N. Homsi, and M. von Bergen, "Acoustic and vibration monitoring of honeybee colonies for beekeeping-relevant aspects of presence of queen bee and swarming," *Comput. Electron. Agric.*, vol. 205, no. October 2022, p. 107589, 2023, doi: 10.1016/j.compag.2022.107589.
- [154] S. Ferrari, M. Silva, M. Guarino, and D. Berckmans, "Monitoring of swarming sounds in bee hives for early detection of the swarming period," *Comput. Electron. Agric.*, vol. 64, no. 1, pp. 72–77, 2008, doi: 10.1016/j.compag.2008.05.010.
- [155] M. T. Ramsey *et al.*, "The prediction of swarming in honeybee colonies using vibrational spectra," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–17, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-66115-5.
- [156] S. T. Zaitoun, A. M. Al-Ghzawi, and H. K. Shannag, "Population dynamics of the syrian honeybee, *apis mellifera syriaca*, under semi-arid mediterranean conditions," *Zool. Middle East*, vol. 21, no. 1, pp. 129–132, 2000, doi: 10.1080/09397140.2000.10637839.
- [157] A. A. M. Al-Ghzawi and S. Zaitoun, "Origin and rearing season of honeybee queens affect some of their physiological and reproductive characteristics," *Entomol. Res.*, vol. 38, no. 2, pp. 139–148, 2008, doi: 10.1111/j.1748-5967.2008.00151.x.
- [158] C. M. Grozinger, J. Richards, and H. R. Mattila, "From molecules to societies: Mechanisms regulating swarming behavior in honey bees (*Apis* spp.)," *Apidologie*, vol. 45, no. 3, pp. 327–346, 2014, doi: 10.1007/s13592-013-0253-2.
- [159] T. E. Rinderer, K. W. Tucker, and A. M. Collins, "Nest Cavity Selection By Swarms Of European And Africanized Honeybees*," *J. Apic. Res.*, vol. 21, no. 2, pp. 98–103, 1982, doi: 10.1080/00218839.1982.11100522.
- [160] M. L. Winston, "Swarming, afterswarming, and reproductive rate of unmanaged honeybee colonies (*Apis mellifera*)," *Insectes Soc.*, vol. 27, no. 4, pp. 391–398, 1980, doi: 10.1007/BF02223731.
- [161] N. J. Haddad *et al.*, "Draft genome sequence of the Algerian bee *Apis mellifera intermissa*," *Genomics Data*, vol. 4, pp. 24–25, 2015, doi: 10.1016/j.gdata.2015.01.011.
- [162] Y. Lensky and Y. Slabekzi, "The inhibiting effect of the queen bee (*Apis mellifera* L.) foot-print pheromone on the construction of swarming queen cups," *J. Insect Physiol.*, vol. 27, no. 5, pp. 313–323, 1981, doi: 10.1016/0022-1910(81)90077-9.
- [163] M. L. Winston, H. A. Higo, S. J. Colley, T. Pankiw, and K. N. Slessor, "The role of queen mandibular pheromone and colony congestion in honey bee (*Apis mellifera* L.) reproductive swarming (Hymenoptera: Apidae)," *J. Insect Behav.*, vol. 4, no. 5, pp. 649–660, 1991, doi: 10.1007/BF01048076.
- [164] N. H. Fefferman and P. T. Starks, "A modeling approach to swarming in honey bees (*Apis mellifera*)," *Insectes Soc.*, vol. 53, no. 1, pp. 37–45, 2006, doi: 10.1007/s00040-005-0833-x.
- [165] A. Buttstedt *et al.*, "How Honeybees Defy Gravity with Royal Jelly to Raise Queens," *Curr. Biol.*, vol. 28, no. 7, pp. 1095-1100.e3, 2018, doi: 10.1016/j.cub.2018.02.022.
- [166] D. Seeley and D. Fell, "Queen Substance Production in Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies Preparing to Swarm (Hymenoptera : Apidae) Author (s) : Thomas D . Seeley and Richard D . Fell Source : Journal of the Kansas Entomological Society , Vol . 54 , No . 1 (Jan . , 1981)," vol. 54, no. 1, pp. 192–196, 2014.
- [167] G. F. Combs, "The engorgement of swarming worker honeybees," *J. Apic. Res.*, vol. 11, no. 3, pp. 121–128, 1972, doi: 10.1080/00218839.1972.11099711.

- [168] J. Rangel and T. D. Seeley, "The signals initiating the mass exodus of a honeybee swarm from its nest," *Anim. Behav.*, vol. 76, no. 6, pp. 1943–1952, 2008, doi: 10.1016/j.anbehav.2008.09.004.
- [169] B. Y. T. D. Seeley, R. A. Morse, and P. K. Visscher, "THE NATURAL HISTORY OF THE FLIGHT OF," no. August, pp. 103–114, 1979.
- [170] S. S. Schneider, "Swarm movement patterns inferred from waggle dance activity of the neotropical African honey bee in Costa Rica," *Apidologie*, vol. 26, no. 5, pp. 395–406, 1995, doi: 10.1051/apido:19950505.
- [171] B. Locke, "Natural Varroa mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations," *Apidologie*, vol. 47, no. 3, pp. 467–482, 2016, doi: 10.1007/s13592-015-0412-8.
- [172] A. Zacepins, A. Kviesis, V. Komasilovs, and R. Brodschneider, "When it pays to catch a swarm—evaluation of the economic importance of remote honey bee (*Apis mellifera*) colony swarming detection," *Agric.*, vol. 11, no. 10, 2021, doi: 10.3390/agriculture11100967.
- [173] G. Voudiotis, S. Kontogiannis, and C. Pikridas, "Proposed smart monitoring system for the detection of bee swarming," *Inventions*, vol. 6, no. 4, pp. 1–20, 2021, doi: 10.3390/inventions6040087.
- [174] A. M. MAZEED and K. M. MOHANNY, "Some reproductive characteristics of honeybee drones in relation to their ages," *Entomol. Res.*, vol. 40, no. 5, pp. 245–250, 2010, doi: 10.1111/j.1748-5967.2010.00297.x.
- [175] J. WOYKE and Z. JASINSKI, "Influence of Age of Drones on the Results of Instrumental Insemination of Honeybee Queens," *Apidologie*, vol. 9, no. 3, pp. 203–212, 1978, doi: 10.1051/apido:19780304.
- [176] J. Woyke, "Not the honey bee (*Apis mellifera* L.) queen, but the drone determines the termination of the nuptial flight and the onset of oviposition - the polemics, abnegations, corrections and supplements," *J. Apic. Sci.*, vol. 60, no. 2, pp. 25–40, 2016, doi: 10.1515/JAS-2016-0032.
- [177] S. De Oliveira Tozetto, A. Rachinsky, and W. Engels, "Juvenile hormone promotes flight activity in drones (*Apis mellifera carnica*)," *Apidologie*, vol. 28, no. 2, pp. 77–84, 1997, doi: 10.1051/apido:19970204.
- [178] A. Galindo-Cardona, A. C. Monmany, G. Diaz, and T. Giray, "A landscape analysis to understand orientation of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) drones in Puerto Rico," *Environ. Entomol.*, vol. 44, no. 4, pp. 1139–1148, 2015, doi: 10.1093/ee/nvv099.
- [179] M. Reyes, D. Crauser, A. Prado, and Y. Le Conte, "Flight activity of honey bee (*Apis mellifera*) drones," *Apidologie*, vol. 50, no. 5, pp. 669–680, 2019, doi: 10.1007/s13592-019-00677-w.
- [180] S. Hayashi1, S. I. Farkhary, M. Takata, T. Satoh, and S. Koyama, "Journal of Insect Behavior," vol. 30, pp. 237–246, 2017.
- [181] H. Schlüns, R. F. A. Moritz, P. Neumann, P. Kryger, and G. Koeniger, "Multiple nuptial flights, sperm transfer and the evolution of extreme polyandry in honeybee queens," *Anim. Behav.*, vol. 70, no. 1, pp. 125–131, 2005, doi: 10.1016/j.anbehav.2004.11.005.
- [182] P. Utaipanon, M. J. Holmes, and B. P. Oldroyd, "Queenless colonies contribute to the male breeding population at honey bee drone congregation areas," *Insectes Soc.*, vol. 66, no. 4, pp. 593–599, Nov. 2019, doi: 10.1007/s00040-019-00720-0.
- [183] R. Jaffé and R. F. A. Moritz, "Mating flights select for symmetry in honeybee drones (*Apis mellifera*)," *Naturwissenschaften*, vol. 97, no. 3, pp. 337–343, Mar. 2010, doi: 10.1007/s00114-009-0638-2.
- [184] J. Rhodes, "Semen production in drone honeybees. Rural Industries Research and Development Corporation.," *Calala, Aust. Rural Ind. Res. Dev. Corp.*, p. 2008, 2008.

- [185] M. Stürup, B. Baer-Imhoof, D. R. Nash, J. J. Boomsma, and B. Baer, "When every sperm counts: Factors affecting male fertility in the honeybee *Apis mellifera*," *Behav. Ecol.*, vol. 24, no. 5, pp. 1192–1198, 2013, doi: 10.1093/beheco/art049.
- [186] H. Li-Byarlay, M. H. Huang, M. Simone-Finstrom, M. K. Stran, D. R. Tarpy, and O. Rueppel, "Version of Record:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531556516301814>
 Manuscript_2a80012245efacf30e0abbfa7a9a1d43 1," 2016.
- [187] S. J. LOCKE and Y. -S PENG, "The effects of drone age, semen storage and contamination on semen quality in the honey bee (*Apis mellifera*)," *Physiol. Entomol.*, vol. 18, no. 2, pp. 144–148, 1993, doi: 10.1111/j.1365-3032.1993.tb00461.x.
- [188] H. Schlüns, E. A. Schlüns, J. van Praagh, and R. F. A. Moritz, "Sperm numbers in drone honeybees (*Apis mellifera*) depend on body size," *Apidologie*, vol. 34, no. 6, pp. 577–584, Nov. 2003, doi: 10.1051/apido:2003051.
- [189] E. Baudry, M. Solignac, L. Garnery, M. Gries, J. Cornuet, and N. Koeniger, "Relatedness among honeybees (*Apis mellifera*) of a drone congregation," *Proc. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci.*, vol. 265, no. 1409, pp. 2009–2014, Oct. 1998, doi: 10.1098/rspb.1998.0533.
- [190] Cramp, "Drone congregation areas. One aspect of honey bee mating," no. 21, 2004.
- [191] G. M. LOPER, W. W. WOLF, and O. R. TAYLOR Jr., "Detection and Monitoring of Honeybee Drone Congregation Areas By Radar," *Apidologie*, vol. 18, no. 2, pp. 163–172, 1987, doi: 10.1051/apido:19870206.
- [192] N. Koeniger and G. Koeniger, "Mating behavior in honey bees (Genus *Apis*)," no. Tribe 1982, 2004.
- [193] G. . Tribe, "Drone mating assemblies," *South African Bee J.*, vol. 99–100, no. 54, pp. 103–117, 1982.
- [194] J. L. Woodgate *et al.*, "Harmonic radar tracking reveals that honeybee drones navigate between multiple aerial leks," *iScience*, vol. 24, no. 6, p. 102499, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.isci.2021.102499.
- [195] J. W. van Veen, M. J. Sommeijer, and F. Meeuwsen, "Behaviour of drones in *Melipona* (Apidae, Meliponinae)," *Insectes Soc.*, vol. 44, no. 4, pp. 435–447, Nov. 1997, doi: 10.1007/s000400050063.
- [196] A. Galindo-Cardona *et al.*, "Landscape Analysis of Drone Congregation Areas of the Honey Bee, *Apis mellifera*," *J. Insect Sci.*, vol. 12, no. 122, pp. 1–15, Oct. 2012, doi: 10.1673/031.012.12201.
- [197] C. G. Butler and E. M. Fairey, "Pheromones of the Honeybee: Biological Studies of the Mandibular Gland Secretion of the Queen," *J. Apic. Res.*, vol. 3, no. 2, pp. 65–76, Jan. 2015, doi: 10.1080/00218839.1964.11100085.
- [198] A. Galindo-cardonaa, A. C. Monmany, R. Moreno-jackson, C. Huertas-dones, L. Caicedo-quirola, and T. Girayb, "Landscape analysis of drone congregation areas of the honey bee , *Apis mellifera*," *J. Insect Sci.*, vol. 12, pp. 1–15, 2025.
- [199] R. W. K. Punchihewa, N. Koeniger, and G. Koeniger, "Congregation of *Apis cerana indica* Fabricius 1798 drones in the canopy of trees in Sri Lanka," *Apidologie*, vol. 21, no. 3, pp. 201–208, 1990, doi: 10.1051/apido:19900305.
- [200] S. Fujiwara *et al.*, "Drone congregation of *Apis cerana japonica* (Radoszkowski, 1877) above large trees," *Apidologie*, vol. 25, no. 3, pp. 331–337, 1994, doi: 10.1051/apido:19940309.
- [201] G. Koeniger, N. Koeniger, and S. Tingek, "Crossfostered drones of *Apis cerana* (Fabricius, 1793) and *Apis koschevnikovi* (Buttel-Reepen, 1906) fly at their species specific mating times," *Insectes Soc.*, vol. 41, no. 1, pp. 73–78, Mar. 1994, doi: 10.1007/BF01240574.

- [202] Koeniger N and Koeniger G, "Reproductive isolation among species of the genus *Apis*," *Apidologie* , vol. 31, pp. 313–339, 2000.
- [203] G. M. Loper, W. W. Wolf, and J. Orley R. Taylor, "Honey Bee Drone Flyways and Congregation Areas : Radar Observations Author (s): Gerald M . Loper , Wayne W . Wolf and Orley R . Taylor , Jr . Source : Journal of the Kansas Entomological Society , Vol . 65 , No . 3 (Jul ., 1992), pp . 223-230 Publishe," 1992.
- [204] S. W. Cobey, "Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance," *Apidologie*, vol. 38, no. 4, pp. 390–410, 2007, doi: 10.1051/apido:2007029.
- [205] J. Rangel and A. Fisher, "Factors affecting the reproductive health of honey bee (*Apis mellifera*) drones—a review," *Apidologie*, vol. 50, no. 6, pp. 759–778, 2019, doi: 10.1007/s13592-019-00684-x.
- [206] G. Koeniger, N. Koeniger, and M. Phiancharoen, *Honeybees of Asia*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. doi: 10.1007/978-3-642-16422-4.
- [207] I. Monika, M. Heidinger, M. D. Meixner, and S. Berg, "and Frequency of Nuptial Flights," pp. 513–527, 2014, doi: 10.3390/insects5030513.
- [208] J. Ellis, J. C. Lawrence, N. Koeniger, and G. Koeniger, *Mating biology of honey bees (Apis mellifera)*. 2015.
- [209] E. A. Capaldi and F. C. Dyer, "THE ROLE OF ORIENTATION FLIGHTS ON HOMING PERFORMANCE IN HONEYBEES," vol. 1666, pp. 1655–1666, 1999.
- [210] N. Koeniger and G. Koeniger, "Mating flight duration of *Apis mellifera* queens: As short as possible, as long as necessary," *Apidologie*, vol. 38, no. 6, pp. 606–611, Nov. 2007, doi: 10.1051/apido:2007060.
- [211] M. K. Hayworth, N. G. Johnson, M. E. Wilhelm, R. P. Gove, J. D. Metheny, and O. Rueppell, "Added Weights Lead to Reduced Flight Behavior and Mating Success in Polyandrous Honey Bee Queens (*Apis mellifera*)," *Ethology*, vol. 115, no. 7, pp. 698–706, Jul. 2009, doi: 10.1111/j.1439-0310.2009.01655.x.
- [212] R. Orley and J. Taylor, "A Mating Tube for Studying Attractiveness of Queen Honeybees and Mating Behaviour of Drones," *J. Apic. Res.*, vol. 23, no. 1, pp. 21–24, Jan. 2016, doi: 10.1080/00218839.1984.11100604.
- [213] I. Floris, M. Pusceddu, P. Niolu, and A. Satta, "Where Is the Honey Bee Queen Flying ? The Original Case of a Foraging Queen," pp. 10–16, 2021.
- [214] S. W. Cobey, "An Introduction to Instrumental Insemination of An Introduction to Instrumental Insemination of Honey Bee Queens," *Bee World*, vol. 7618, no. November, pp. 1–4, 2016, doi: 10.1080/0005772X.2016.1222790.
- [215] E. A. Capaldi *et al.*, "Ontogeny of orientation—ight in the honeybee revealed by harmonic radar," vol. 403, no. February, pp. 537–540, 2000.
- [216] J. D. Slone, T. L. Stout, Z. Y. Huang, and S. S. Schneider, "The influence of drone physical condition on the likelihood of receiving vibration signals from worker honey bees , *Apis mellifera*," pp. 101–107, 2012, doi: 10.1007/s00040-011-0195-5.
- [217] D. R. Tarpy and J. Page, "No behavioral control over mating frequency in queen honey bees (*Apis mellifera* L.): Implications for the evolution of extreme polyandry," *Am. Nat.*, vol. 155, no. 6, pp. 820–827, 2000, doi: 10.1086/303358.
- [218] J. Woyke, "The mating sign of queen bees originates from two drones and the process of multiple mating in honey bees," *J. Apic. Res.*, vol. 50, no. 4, pp. 272–283, 2011, doi: 10.3896/IBRA.1.50.4.04.
- [219] J. A. Perez-Sato, W. O. H. Hughes, M. J. Couvillon, and F. L. W. Ratnieks, "Effects of hive spacing, entrance orientation, and worker activity on nest relocation by honey bee queens," *Apidologie*, vol. 39, no. 6, pp. 708–713, Nov. 2008, doi: 10.1051/apido:2008056.
- [220] J. Gąbka, "Drifting of honey bee queens returning from flights," *J. Apic. Res.*, vol.

- 0, no. 0, pp. 1–6, 2018, doi: 10.1080/00218839.2018.1492502.
- [221] L. MEDINA and L. segui GONCALVES, “medina, 2001.pdf.” 2001.
- [222] J. Woyke, “Natural and Artificial Insemination of Queen Honeybees,” *Bee World*, vol. 43, no. 1, pp. 21–25, 1962, doi: 10.1080/0005772x.1962.11096922.
- [223] N. Q. Tan, M. Mardan, P. H. Thai, and P. H. Chinh, “Observations on multiple mating flights of *Apis dorsata* queens,” *Apidologie*, vol. 30, no. 4, pp. 339–346, 1999, doi: 10.1051/apido:19990410.
- [224] A. S. Brandstaetter, F. Bastin, and J. C. Sandoz, “Honeybee drones are attracted by groups of consexuals in a walking simulator,” *J. Exp. Biol.*, vol. 217, no. 8, pp. 1278–1285, 2014, doi: 10.1242/jeb.094292.
- [225] F. Bastin, H. Cholé, G. Lafon, and J. Sandoz, “Virgin queen attraction toward males in honey bees,” no. June, pp. 1–11, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-06241-9.
- [226] G. Villar, M. D. Wolfson, A. Hefetz, and C. M. Grozinger, “Evaluating the Role of Drone-Produced Chemical Signals in Mediating Social Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*),” *J. Chem. Ecol.*, vol. 44, no. 1, pp. 1–8, 2018, doi: 10.1007/s10886-017-0912-2.
- [227] M. Ayasse, R. J. Paxton, and J. Teng, “COMMUNICATION IN THE ORDER HYMENOPTERA,” pp. 31–78, 2001.
- [228] N. E. Gary, “Observations of Mating Behaviour in the Honeybee,” *J. Apic. Res.*, vol. 2, no. 1, pp. 3–13, Jan. 1963, doi: 10.1080/00218839.1963.11100050.
- [229] K. A. Palmer and B. P. Oldroyd, “Evolution of multiple mating in the genus *Apis*,” *Apidologie*, vol. 31, no. 2, pp. 235–248, Mar. 2000, doi: 10.1051/apido:2000119.
- [230] J. M. Withrow and D. R. Tarpy, “Cryptic ‘royal’ subfamilies in honey bee (*Apis mellifera*) colonies,” *PLoS One*, vol. 13, no. 7, p. e0199124, Jul. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0199124.
- [231] B. Baer and P. Schmid-hempel, “Sperm influences female hibernation success, survival and fitness in the bumble-bee *Bombus terrestris*,” no. September 2004, pp. 319–323, 2005, doi: 10.1098/rspb.2004.2958.
- [232] G. Koeniger, “Mating Sign and Multiple Mating in the Honeybee,” *Bee World*, vol. 67, no. 4, pp. 141–150, Jan. 1986, doi: 10.1080/0005772X.1986.11098892.
- [233] J. Woyke, “Why the eversion of the endophallus of honey bee drone stops at the partly everted stage and significance of this,” *Apidologie*, vol. 39, no. 6, pp. 627–636, 2008, doi: 10.1051/apido:2008046.
- [234] M. Woyciechowski and E. Król, “On Intraoviductal Sperm Competition in the Honeybee (*Apis mellifera*),” *Folia Biol. (Praha)*, vol. 44, no. 1–2, pp. 51–53, 1996.
- [235] J. Woyke and F. Ruttner, “An Anatomical Study of the Mating Process in the Honeybee,” *Bee World*, vol. 39, no. 1, pp. 3–18, Jan. 1958, doi: 10.1080/0005772X.1958.11095028.
- [236] A. M. Vallet and J. A. Coles, “The perception of small objects by the drone honeybee,” *J. Comp. Physiol. A Sensory, Neural Behav. Physiol.*, vol. 172, no. 2, pp. 183–188, 1993, doi: 10.1007/BF00189395.
- [237] K. Czekońska, B. Chuda-Mickiewicz, and P. Chorbiński, “The influence of honey bee (*Apis Mellifera*) drone age on volume of semen and viability of spermatozoa,” *J. Apic. Sci.*, vol. 57, no. 1, pp. 61–66, 2013, doi: 10.2478/jas-2013-0007.
- [238] D. R. Tarpy, J. J. Keller, J. R. Caren, and D. A. Delaney, “Assessing the mating ‘health’ of commercial honey bee queens,” *J. Econ. Entomol.*, vol. 105, no. 1, pp. 20–25, 2012, doi: 10.1603/EC11276.
- [239] S. D. Kocher, F. J. Richard, D. R. Tarpy, and C. M. Grozinger, “Genomic analysis of post-mating changes in the honey bee queen (*Apis mellifera*),” *BMC Genomics*, vol. 9, pp. 1–15, 2008, doi: 10.1186/1471-2164-9-232.
- [240] E. D. Tanaka and K. Hartfelder, “The initial stages of oogenesis and their relation

- to differential fertility in the honey bee (*Apis mellifera*) castes,” vol. 33, pp. 431–442, 2004, doi: 10.1016/j.asd.2004.06.006.
- [241] A. Uzunov *et al.*, “Standard methods for direct observation of honey bee (*Apis mellifera* L.) nuptial flights,” *Journal of Apicultural Research*, vol. 63, no. 1, pp. 65–75, Jan. 18, 2024. doi: 10.1080/00218839.2023.2251201.
- [242] J. Liberti *et al.*, “Seminal fluid compromises visual perception in honeybee queens reducing their survival during additional mating flights,” *eLife*, vol. 8, pp. 1–27, 2019, doi: 10.7554/eLife.45009.
- [243] K. E. Wharton, F. C. Dyer, and T. Getty, “Male elimination in the honeybee,” *Behav. Ecol.*, vol. 19, no. 6, pp. 1075–1079, 2008, doi: 10.1093/beheco/arn108.
- [244] R. E. Page and C. Y.-S. Peng, “Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L.,” *Exp. Gerontol.*, vol. 36, no. 4–6, pp. 695–711, Apr. 2001, doi: 10.1016/S0531-5565(00)00236-9.
- [245] O. Kaftanoglu and Y. S. Peng, “Preservation of honeybee spermatozoa in Liquid Nitrogen,” *J. Apic. Res.*, vol. 23, no. 3, pp. 157–163, 1984, doi: 10.1080/00218839.1984.11100625.
- [246] S. W. Cobey, D. R. Tarpy, and J. Woyke, “Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens,” *J. Apic. Res.*, vol. 52, no. 4, 2013, doi: 10.3896/IBRA.1.52.4.09.
- [247] A. M. Collins, “Survival of honey bee (Hymenoptera: Apidae) spermatozoa stored at above-freezing temperatures,” *J. Econ. Entomol.*, vol. 93, no. 3, pp. 568–571, 2000, doi: 10.1603/0022-0493-93.3.568.
- [248] A. Ciereszko *et al.*, “Sperm parameters of honeybee drones exposed to imidacloprid,” *Apidologie*, vol. 48, no. 2, pp. 211–222, 2017, doi: 10.1007/s13592-016-0466-2.
- [249] A. Inouri-Iskounen, O. Sadeddine-Zennouche, M. Nait Mouloud, M. Kebieche, and M. Iguer-Ouada, “In vitro effects of imidacloprid on honey bee sperm: evaluation using computer-aided sperm analysis (CASA),” *J. Apic. Res.*, vol. 59, no. 4, pp. 343–349, 2020, doi: 10.1080/00218839.2020.1775017.
- [250] F. Ben Abdelkader *et al.*, “Semen quality of honey bee drones maintained from emergence to sexual maturity under laboratory, semi-field and field conditions,” *Apidologie*, vol. 45, no. 2, pp. 215–223, 2014, doi: 10.1007/s13592-013-0240-7.
- [251] J. Wegener, T. May, G. Kamp, and K. Bienefeld, “New methods and media for the centrifugation of honey bee (Hymenoptera: Apidae) drone semen,” *J. Econ. Entomol.*, vol. 107, no. 1, pp. 47–53, 2014, doi: 10.1603/EC13159.
- [252] S. Egyptien, J. Ponthier, F. Ectors, B. Thibaut, and S. Deleuze, “Evaluation of a Simple Antibiotic-Free Cryopreservation Protocol for Drone Semen,” *Insects*, vol. 16, no. 1, pp. 1–10, 2025, doi: 10.3390/insects16010050.
- [253] P. Rzymski, A. Langowska, M. Fliszkiewicz, B. Poniedziałek, J. Karczewski, and K. Wiktorowicz, “Flow cytometry as an estimation tool for honey bee sperm viability,” *Theriogenology*, vol. 77, no. 8, pp. 1642–1647, 2012, doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.12.009.
- [254] A. Tofilski, B. Chuda-Mickiewicz, K. Czekońska, and P. Chorbiński, “Flow cytometry evidence about sperm competition in honey bee (*Apis mellifera*),” *Apidologie*, vol. 43, no. 1, pp. 63–70, 2012, doi: 10.1007/s13592-011-0089-6.
- [255] M. Lodesani, D. Balduzzi, and A. Galli, “Functional characterisation of semen in honeybee queen (*A.m.ligustica* S.) spermatheca and efficiency of the diluted semen technique in instrumental insemination ,” *Ital. J. Anim. Sci.*, vol. 3, no. 4, pp. 385–392, 2004, doi: 10.4081/ijas.2004.385.
- [256] A. Kania, Z. Jasiński, and B. Madras-Majewska, “The influence of conditions of keeping the drones *A. mellifera* on quality of their semen,” *Anim. Sci.*, no. 46, pp. 71–79, 2009, [Online]. Available: 20103063886, English, Journal article, Poland,

0208-5739

- [257] H. Vasfi Gençer and Y. Kahya, "Are sperm traits of drones (*Apis mellifera* L.) from laying worker colonies noteworthy?," *J. Apic. Res.*, vol. 50, no. 2, pp. 130–137, 2011, doi: 10.3896/IBRA.1.50.2.04.
- [258] P. Duay, D. De Jong, and W. Engels, "Decreased flight performance and sperm production in drones of the honeybee (*Apis mellifera*) slightly infested by Varroa destructor mites during pupaldevelopment," *Genet. Mol. Res.*, vol. 1, no. 3, pp. 227–232, 2002.
- [259] T. E. RINDERER, A. M. COLLINS, D. PESANTE, R. DANIEL, V. LANCASTER, and J. BAXTER, "a Comparison of Africanized and European Drones : Weights, Mucus Gland and Seminal Vesicle Weights, and Counts of Spermatozoa," *Apidologie*, vol. 16, no. 4, pp. 407–412, 1985, doi: 10.1051/apido:19850405.
- [260] H. V. Gençer and Ç. Firatlı, "Reproductive and morphological comparisons of drones reared in queenright and laying worker colonies," *J. Apic. Res.*, vol. 44, no. 4, pp. 163–167, 2005, doi: 10.1080/00218839.2005.11101172.
- [261] Z. Nur *et al.*, "The use of the hypo-osmotic swelling test, water test, and supravital staining in the evaluation of drone sperm," *Apidologie*, vol. 43, no. 1, pp. 31–38, 2012, doi: 10.1007/s13592-011-0073-1.
- [262] B. N. Metz and D. R. Tarpy, "Reproductive senescence in drones of the honey bee (*Apis mellifera*)," *Insects*, vol. 10, no. 1, 2019, doi: 10.3390/insects10010011.
- [263] A. M. Collins and A. M. Donoghue, "Viability assessment of honey bee, *Apis mellifera*, sperm using dual fluorescent staining," *Theriogenology*, vol. 51, no. 8, pp. 1513–1523, Jun. 1999, doi: 10.1016/S0093-691X(99)00094-1.
- [264] D. R. Tarpy and R. Olivarez, "Measuring sperm viability over time in honey bee queens to determine patterns in stored-sperm and queen longevity," *J. Apic. Res.*, vol. 53, no. 4, pp. 493–495, 2014, doi: 10.3896/IBRA.1.53.4.02.
- [265] H. Kovac, A. Stabentheiner, and R. Brodschneider, "Contribution of honeybee drones of different age to colonial thermoregulation," *Apidologie*, vol. 40, no. 1, pp. 82–95, Jan. 2009, doi: 10.1051/apido/2008069.
- [266] J. C. Jones, P. Helliwell, M. Beekman, R. Maleszka, and B. P. Oldroyd, "The effects of rearing temperature on developmental stability and learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*.,," *J. Comp. Physiol. A. Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.*, vol. 191, no. 12, pp. 1121–1129, 2005, doi: 10.1007/s00359-005-0035-z.
- [267] K. Czekońska, B. Chuda-Mickiewicz, and P. Chorbiński, "The effect of brood incubation temperature on the reproductive value of honey bee (*Apis mellifera*) drones," *J. Apic. Res.*, vol. 52, no. 2, pp. 96–105, Jan. 2013, doi: 10.3896/IBRA.1.52.2.19.
- [268] G. Koeniger, S. Ziegler-Himmelreich, and N. Koeniger, "Spermatozoa number of drones (*Apis mellifera*) depends on temperature during metamorphosis and sexual maturation.,," *Apidologie*, vol. 37, pp. 620–621, 2006.
- [269] E.-K. Abdou Taha and A. Saad Alqarni, "Morphometric and Reproductive Organs Characters of *Apis mellifera jemenitica* Drones in Comparison to *Apis mellifera carnica*," *Int. J. Sci. Eng. Res.*, vol. 4, no. 10, pp. 411–415, 2013, [Online]. Available: <http://www.ijser.org>
- [270] H. Szentgyörgyi, K. Czekońska, and A. Tofilski, "The effects of starvation of honey bee larvae on reproductive quality and wing asymmetry of honey bee drones," *J. Apic. Sci.*, vol. 61, no. 2, pp. 233–243, 2017, doi: 10.1515/JAS-2017-0018.
- [271] V. N. Nguyen, "Effects of protein nutrition and pollen supplementation of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies on characteristics of drones with particular reference to sexual maturity.,," University of Western Sydney, Hawkesbury, NSW, Australia., 1995.

- [272] A. Rousseau and P. Giovenazzo, "Optimizing Drone Fertility With Spring Nutritional Supplements to Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies," *J. Econ. Entomol.*, vol. 109, no. 3, pp. 1009–1014, 2016, doi: 10.1093/jee/tow056.
- [273] O. Etxegarai-Legarreta and V. Sanchez-Famoso, "The Role of Beekeeping in the Generation of Goods and Services: The Interrelation between Environmental, Socioeconomic, and Sociocultural Utilities," *Agric.*, vol. 12, no. 4, 2022, doi: 10.3390/agriculture12040551.
- [274] F. Han, A. Wallberg, and M. T. Webster, "From where did the *Apis mellifera* (*A. mellifera*) originate?," *Ecol. Evol.*, vol. 2, no. 8, pp. 1949–1957, Aug. 2012, doi: 10.1002/ece3.312.
- [275] R. Winfree, B. J. Gross, and C. Kremen, "Valuing pollination services to agriculture," *Ecol. Econ.*, vol. 71, no. 1, pp. 80–88, 2011, doi: 10.1016/j.ecolecon.2011.08.001.
- [276] K. Hagan, J. Lim, and G. Buchmann, "Mechanisms for polyandry evolution in a complex social bee," *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 78, no. 3, p. 39, Mar. 2024, doi: 10.1007/s00265-024-03450-x.
- [277] P. Franck *et al.*, "Genetic diversity of the honeybee in Africa: Microsatellite and mitochondrial data," *Heredity (Edinb.)*, vol. 86, no. 4, pp. 420–430, 2001, doi: 10.1046/j.1365-2540.2001.00842.x.
- [278] P. De la Rúa, S. Radloff, R. Hepburn, and J. Serrano, "Do molecular markers support morphometric and pheromone analyses?," *Arch. Zootec.*, vol. 56, no. 213, pp. 33–42, 2007.
- [279] D. Kianpour and K. Souvannavong, "l'abeille Africaine, le trésor méconnu du continent." 2018.
- [280] M. Achou, W. Loucif-Ayad, and H. Legout, "An Insightful Molecular Analysis Reveals Foreign Honeybees Among Algerian Honeybee Populations (*Apis mellifera* L.)," *J. Data Mining Genomics Proteomics*, vol. 06, no. 01, pp. 6–11, 2015, doi: 10.4172/2153-0602.1000166.
- [281] A. Rousseau, É. Houle, and P. Giovenazzo, "Effect of shipping boxes, attendant bees, and temperature on honey bee queen sperm quality (*Apis mellifera*)," *Apidologie*, vol. 51, no. 5, pp. 724–735, Oct. 2020, doi: 10.1007/s13592-020-00756-3.
- [282] K. Koppeler, "Comparison of pollen spectra collected by four different subspecies of the honey bee *Apis mellifera*," *Apidologie*, vol. 38, no. 4, pp. 341–353, Jul. 2007, doi: 10.1051/apido:2007020.
- [283] J. F. Odoux, D. Feuillet, P. Aupinel, Y. Loublier, J. N. Tasei, and C. Mateescu, "Territorial biodiversity and consequences on physico-chemical characteristics of pollen collected by honey bee colonies," *Apidologie*, vol. 43, no. 5, pp. 561–575, 2012, doi: 10.1007/s13592-012-0125-1.
- [284] R. P. F. Guiné *et al.*, "Characterization of Beekeepers and Their Activities in Seven European Countries," *Agronomy*, vol. 11, no. 12, p. 2398, Nov. 2021, doi: 10.3390/agronomy11122398.
- [285] Y. Le Conte *et al.*, "Geographical distribution and selection of european honey bees resistant to varroa destructor," *Insects*, vol. 11, no. 12. pp. 1–34, 2020. doi: 10.3390/insects11120873.
- [286] Seeley and T. D., *The Lives of Bees*. Princeton University Press, 2019. doi: 10.1515/9780691189383.
- [287] F. Hatjina *et al.*, "Population dynamics of European honey bee genotypes under different environmental conditions," *J. Apic. Res.*, vol. 53, no. 2, pp. 233–247, 2014, doi: 10.3896/IBRA.1.53.2.05.
- [288] B. Baer, "Sexual selection in *Apis* bees," *Apidologie*, vol. 36, no. 2, pp. 187–200, Apr. 2005, doi: 10.1051/apido:2005013.

- [289] A. Stabentheiner, H. Kovac, M. Mandl, and H. Käfer, "Coping with the cold and fighting the heat: thermal homeostasis of a superorganism, the honeybee colony," *J. Comp. Physiol. A*, vol. 207, no. 3, pp. 337–351, May 2021, doi: 10.1007/s00359-021-01464-8.
- [290] J. Rhodes, "Cotton pollination by honey bees," *Aust. J. Exp. Agric.*, vol. 42, no. 4, pp. 513–518, 2002, doi: 10.1071/EA01063.
- [291] E. Nicholls, M. Rossi, and J. E. Niven, "Larval nutrition impacts survival to adulthood, body size and the allometric scaling of metabolic rate in adult honeybees," *J. Exp. Biol.*, vol. 224, no. 14, pp. 1–27, 2021, doi: 10.1242/jeb.242393.
- [292] J. D. Thomson, "Flowering phenology, fruiting success and progressive deterioration of pollination in an early-flowering geophyte," *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 365, no. 1555, pp. 3187–3199, 2010, doi: 10.1098/rstb.2010.0115.
- [293] L. S. Morais *et al.*, "Sperm characteristics of Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) drones during dry and wet seasons in the Caatinga biome," *J. Apic. Res.*, vol. 63, no. 5, pp. 1106–1113, Oct. 2022, doi: 10.1080/00218839.2022.2113328.
- [294] A. D. Vaudo *et al.*, "Pollen protein: Lipid macronutrient ratios may guide broad patterns of bee species floral preferences," *Insects*, vol. 11, no. 2, 2020, doi: 10.3390/insects11020132.
- [295] G. Di Pasquale *et al.*, "Influence of Pollen Nutrition on Honey Bee Health: Do Pollen Quality and Diversity Matter?," *PLoS One*, vol. 8, no. 8, p. e72016, Aug. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0072016.
- [296] S. F. Pernal and R. W. Currie, "Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.)," *Apidologie*, vol. 31, no. 3, pp. 387–409, May 2000, doi: 10.1051/apido:2000130.
- [297] V. A. Ricigliano *et al.*, "The impact of pollen consumption on honey bee (*Apis mellifera*) digestive physiology and carbohydrate metabolism," *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, vol. 96, no. 2, Oct. 2017, doi: 10.1002/arch.21406.
- [298] S. E. R. Hoover, H. A. Higo, and M. L. Winston, "Worker honey bee ovary development: Seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition," *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.*, vol. 176, no. 1, pp. 55–63, 2006, doi: 10.1007/s00360-005-0032-0.
- [299] Veto-Pharma, "FICHE DE BONNES PRATIQUES Points clés pour un traitement efficace," 2022.
- [300] M. Belaid and S. Doumandji, "EFFET DU VARROA DESTRUCTEUR SUR LA MORPHOMETRIE A LAIRE ET SUR LES COMPOSANTS DU SYSTEME IMMUNITAIRE DE L'ABEILLE OUVRIERE *APIS MELLIFERA INTERMISSA*," *Leban. Sci. Journal*, vol. 11, no. 1, pp. 83–90, 2010.
- [301] C. E. Henderson, "Reproductive investment in drones in honey bee (*Apis mellifera*) colonies," 1991.
- [302] M. Kleinhenz, B. Bujok, S. Fuchs, and J. Tautz, "Hot bees in empty broodnest cells: Heating from within," *J. Exp. Biol.*, vol. 206, no. 23, pp. 4217–4231, 2003, doi: 10.1242/jeb.00680.
- [303] A. Fisher, K. Harrison, C. Love, D. Varner, and J. Rangel, "Spatio-temporal variation in viability of spermatozoa of Honey Bee, *Apis mellifera*1, drones in central Texas apiaries," *Southwest. Entomol.*, vol. 43, no. 2, pp. 343–356, 2018, doi: 10.3958/059.043.0206.
- [304] G. Kairo *et al.*, "Drone exposure to the systemic insecticide Fipronil indirectly impairs queen reproductive potential," *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, p. 31904, Aug. 2016, doi: 10.1038/srep31904.

- [305] S. den Boer, B. Baer, and J. Boomsma, "Seminal Fluid Mediates Ejaculate," *Science* (80-), vol. 327, no. March, pp. 1506–1510, 2010.

Annexe 1

Questionnaire sur l'élevage des faux bourdons

Une colonie d'abeilles est constituée de trois castes : une reine, des milliers d'ouvrières et les **faux bordons (mâles)**. Ces derniers apparaissent principalement au printemps (saison de reproduction) pour vivre au maximum une cinquantaine de jour. Selon vous :

1- Quel est le mois de première apparition des faux bordons (FB)?.....

2- Quel est le mois de forte densité de ces faux bordons (FB)?.....

3- Quel est le mois qui correspond à l'activité intense (sortie et entrée au trou de vol) de ces FB?

.....

4- A quel moment de la journée que l'activité des FB est intense (au niveau de trou de vol)?

Matin Midi Soir

5- Quel est le mois de disparition totale des FB dans vos ruchers?

6- Selon vous, quels sont les rôles des FB dans la colonie ou à l'extérieur ?

.....

.....

7- Combien de sites de congrégation des FB estimez-vous existent-ils autour de vos ruchers?

.....

..

8- Y a t-il de changement d'emplacement de ces sites d'une année à une autre?

Oui Non

9- Si Oui, pourquoi d'après vous ?

.....

10- Les tailles des FB sont différentes, selon vous cela est dû à:

1. l'âge de FB 2. Nourriture (qualité et l'abondance) 3. Mois de

naissance 4. l'origine de l'œuf (reine fécondée, reine non fécondée, reine épuisée, reine bourdonneuse, fausse reine) 5. Race d'abeille 6. Nid de naissance (alvéole de FB ou alvéole des ouvrières) 7. Âge de la reine 8. L'état de la cire 9. Autres:

11- Avant de procéder à l'essaimage artificiel ou à l'élevage des reines, prenez-vous en considération la présence ou l'absence des FB ou du couvain de FB? Oui Non

12- Si Non, pourquoi ?

13- Comment estimez-vous de l'âge des FB?

1. taille	2. L'état et la couleur des poils
3. La couleur des yeux	4. Autres:

14- Comment vérifiez-vous la puberté des FB?

1. le son de bourdonnement 2. L'intensité des vibrations une fois pincé par les doigts 3. Apparition au niveau de trou de vol 4. visite des sites de congrégation 5. Vérification de la présence de sperme par méthode d'éversion manuelle d'endophalpu. 6. Autre:.....

15- Pratiquez-vous l'élevage de faux bourdons?

Oui Non

16- Pratiquez-vous l'élevage de reines?

Oui Non

17- Avez-vous déjà recours à l'insémination artificielle des reines d'abeilles?

Oui Non

18- Avez-vous déjà recours à l'analyse de la qualité spermatique des FB?

Oui Non

19- Avez-vous déjà pensé de déplacer vos nouveaux essaims dans des régions éloignées de votre rucher pour la fécondation des futures reines?

Oui Non

20- Si Oui, pourquoi ?

.....
.....
.....
.....
.....

Merci pour votre contribution

Production Scientifique



Reproductive Dynamics of *Apis mellifera intermissa* Drones in Northern Algeria: Seasonal Patterns in Sperm Production and Mucus Gland Activity

Krimou Yahi ^{1*}, Abdelkrim Yahimi ¹, Madjid Sadi ¹, Rachid Kaidi ¹,
Nassim Moula ², Mokrane Iguer-Ouada³

¹ Laboratory of Biotechnology Related to Animals Reproduction, Saad DAHLAB University Blida1, 09000 Blida, Algeria

² Department of Veterinary Management of Animal Resources, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, 4000 Liège, Belgium

³ Associated Laboratory in Marine Ecosystems and Aquaculture, Department of Biological Sciences of the Environment, Faculty of Nature and Life Sciences, University of Béjaïa, 06000 Béjaïa, Algeria

Correspondence: Krimou Yahi (yahikrimou2017@gmail.com)

Volume 6, Issue 16, Dec 2024

Received: 15 Oct 2024

Accepted: 25 Nov 2024

Published: 09 Dec 2024

[doi:10.48047/AFJBS.6.16.2024.3555-3573](https://doi.org/10.48047/AFJBS.6.16.2024.3555-3573)

Abstract

This study examines the reproductive biology of drones in *Apis mellifera* colonies, focusing on spermatozoa presence and mucus gland activity during breeding and non-breeding seasons. Drones, essential for fertilizing virgin queens, have a reproductive system including testes, seminal vesicles, mucus glands, and an endophallus, which are affected by environmental factors, age, diet, and diseases. The current research was conducted in Azeffoun, Algeria, from March to June and in October 2018. The investigation consisted to analyze the presence of spermatozoa in seminal vesicles and the secretory activity in mucus glands according to breeding and non-breeding seasons.

The results showed the presence of spermatozoa in 62.78% of the seminal vesicles, with higher rates during the breeding season. Drones from hives with two-year-old queens and larger colonies exhibited greater sperm production. Mucus gland activity was observed in 96.51% of drones, with secretion rates between 92.86% and 100% according to the seasons. Sperm production peaked between March and June and declined significantly in October.

Despite reduced sperm production in the non-breeding season, the presence of drones allows beekeepers to initiate queen rearing, ensuring colony survival through winter. This study highlights the critical role of drone reproduction in maintaining honeybee colony health and sustainability.

Keywords: Bee Colonies; Drones; Sperm Production; Mucus Glands; *Apis mellifera intermissa*; Histological Analysis.

Introduction

The social structure of bee colonies includes three castes: the queen, the workers, and the drones. Females populate the hive year-round, but males appear only during the reproductive period, which corresponds to the spring season. During their short lifespan, drones are responsible for fertilizing virgin queens. In fact, the primary role of a honeybee drone is to produce and transmit semen to the queen during the mating flight (Czekońska et al., 2015). The reproductive system of drones includes a pair of testes, a pair of vasa deferentia, paired glands (seminal vesicle and mucus gland) associated with the reproductive tract, and a long ejaculatory duct (Sawarkar and Tembhare, 2015a,b). The copulatory apparatus, known as the endophallus, is a large and complex tube located within the abdomen. Additionally, two male accessory glands have been described in the copulatory apparatus of *Apis mellifera* drones: the bulbus gland (Koeniger et al., 1996; Woyke, 2008; Woyke, 2010; Moors, Koeniger, and Billen, 2012) and the cornua glands (Koeniger et al., 1996; Moors et al., 2009). Honeybee semen consists of spermatozoa diluted in seminal fluid. Various studies have revealed the effect of several factors on semen quality, including drone age (Locke and Peng, 1993; Sturup et al., 2013; Rousseau et al., 2015b), food quality (Sturup et al., 2013; Czekońska et al., 2015; Rousseau and Giovenazzo, 2016), genetic lineage (Rinderer et al., 1985; Rousseau et al., 2015b), storage (Locke and Peng, 1993; Alçay et al., 2019), body size (Schlüns et al., 2003; Gençer and Kahya, 2011; Goins and Schneider, 2013), thermal conditions (Bieńkowska et al., 2011; Sturup et al., 2013), and various contaminants such as Varroa destructor (Gençer and Kahya, 2011) and Nosema (Peng et al., 2015; Ben Abdelkader et al., 2015; Ciereszko et al., 2017).

Research on honeybee drones has primarily focused on spermatozoa and the factors affecting their fertility, while less attention has been given to the accessory sex glands, despite their significant role in reproductive success. These glands produce crucial molecules for sperm viability. Some sex accessory glands also serve as sperm storage sites until mating (Sawarkar and Tembhare, 2015b). Their secretions are essential for reproductive success (Billen and Morgan, 1998; Klein et al., 2021). In particular, mucus gland secretions may contribute to sperm longevity and storage (Sawarkar and Tembhare, 2015a,b), as well as sperm activation and capacitation (Chen, 1984). Furthermore, gland secretions are involved in spermatozoon nutrition and facilitate sperm movement through the reproductive tract (Colonello and Hartfelder, 2003; Gillott, 1996). Additionally, mucus gland secretions may influence the

queen's post-copulatory behavior and support spermatozoa after their transfer into the female reproductive tract (Wolfner, 1997; Gillott, 1996).

The mucus glands are notably large, occupying a significant portion of the drone's abdomen (Moors et al., 2005), underscoring their crucial role in reproduction. The size of the mucus glands gradually increases during the pupal-to-adult development of drones (Sawarkar and Tembhare, 2010). Secretory material starts accumulating in the lumen of the mucus glands shortly after emergence, with a peak activity within the first five days of adult life in Africanized honeybees (Colonello and Hartfelder, 2003) or between 6 and 12 days in *Apis cerana indica* drones (Sawarkar and Tembhare, 2010).

Apis mellifera intermissa is a subspecies found in North Africa, particularly in Tunisia, Algeria, and Morocco (Cornuet et al., 1988; Grissa et al., 1990). In addition to its role in enhancing apiculture production, this subspecies is of particular interest for its role in pollinating native vegetation. In Algeria, it is the dominant hive bee in the apiculture industry. This ecotype is highly adaptable to varying climatic conditions (Adjlane and Haddad, 2014; Barour et al., 2011). It is a small bee with dark pigmentation (Shaibi et al., 2009) and is known for its aggressive and nervous temperament. According to Gadbin et al. (1979), this subspecies exhibits a strong tendency to swarm, particularly in the spring when workers construct numerous royal cells (Clément et al., 2002). This characteristic makes *Apis mellifera intermissa* an excellent producer of royal jelly. Le Conte et al. (2007) demonstrated that this subspecies is highly tolerant to *Varroa* infestations. Furthermore, it exhibits superior hygienic behavior and cleaning abilities compared to other subspecies (Adjlane and Haddad, 2014). It has shown remarkable resistance to various infectious agents, including the *Nosema* fungus, *Paenibacillus larvae* (the causative agent of American foulbrood), and the Deformed Wing Virus (DWV). These adaptive traits make *Apis mellifera intermissa* an excellent candidate for selective breeding programs (Haddad et al., 2015), particularly given its ability to produce propolis.

Numerous studies have investigated drone fertility in honeybee species, focusing on whole semen or individual sperm cells to better understand the negative impacts of beekeeping diseases and pesticides on drone fertility. However, the influence of extrinsic factors such as rearing season, colony size, queen age, and the dynamics of mucus gland secretion has not been thoroughly explored.

Given the economic and ecological importance of *Apis mellifera intermissa*, it is essential to prioritize research on drone reproduction. Thus, the aim of the present study is to investigate the percentage of males showing the presence of spermatozoa in the seminal vesicles and the accumulation of secretory material in the mucus glands according to breeding and non-breeding seasons.

Material and methods

Preparation and Observation of Histological Slides

Sampling

Animals

The sampling was conducted in two apiaries located in Azeffoun, Tizi-Ouzou province, Algeria, at altitudes of 150 meters and 450 meters above sea level. Two categories (immature and mature drones) of males were collected from twelve beehives between March and June 2018, a period coinciding with the queen's egg-laying phase. It is important to note that samples could not be collected during the remainder of the year, as the queen ceased egg-laying and no drones were present. Samples were also collected in October, known in Algeria as favorable climatic conditions corresponding to the flowering eucalyptus and viscous inula.

The immature males were aged less than two weeks, and they were harvested inside the hive. They presented less developed bodies, purple eyes, white fuzz, low activity levels, and lacked the typical vibration response. The mature drones (more than two weeks old) were collected from the flight area near the congregation sites. These drones were characterized by large, dark, and hairy bodies, black eyes, and high activity levels, with a vigorous response to pinching. A total of 86 samples were selected for histological examination.

1.2. Reproductive system collection

The sampling technique consisted of removing the entire reproductive system using a pinching method. Each drone was grasped between the thumb and forefinger, with its head drawn toward the palm and the abdomen facing outward. Using blunt tweezers, the last two tergites were grasped and gently pulled, causing a tear between the 5th and 6th abdominal segments. This allowed the reproductive system, attached by the ejaculatory duct to the bulb in the last pinched segments, to be extracted. The samples were then immediately placed into labeled Eppendorf tubes containing 10% formalin for preservation.

2. Histological Sections

The preparation and observation of histological slides were conducted at Bejaia University, Medical Laboratory.

Upon arrival at the laboratory, the samples were individually placed into histocassettes, each labeled with its respective reference. The samples were then subjected to a dehydration process using an automatic tissue processor. This process involved eight ethanol baths of progressively increasing concentrations (70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, and 100%), with each bath lasting 45 minutes. Following dehydration, the samples underwent two xylene baths, each lasting 1 hour and 30 minutes (for clearing), and then two paraffin baths, each lasting 30 minutes (for impregnation).

The samples were subsequently placed in metal molds and embedded in paraffin to create paraffin blocks. These blocks were solidified on a refrigerated plate. Once hardened, they were sectioned using a microtome. Initial rough sections were cut at 10 μm , followed by refined histological sections of 2 μm thickness after removing the histocassettes from the mold.

The fine histological sections were carefully transferred onto slides pre-soaked in water. They were spread using a water bath, placed on a hot plate at 69°C to dry, and then transferred to an oven set at 75°C overnight for dewaxing.

For each sample, four slides were prepared, with serial sections generated to yield a total of 28 slides from a single specimen.

3. Staining

Before staining, the slides were subjected to a series of preparatory baths: xylene for 30 minutes, 10% ethanol for 10 minutes, followed water bath for 3 minutes. The staining process involved immersing the slides in hematoxylin for 7 minutes, a quick rinse with water, and then dipping the slides in eosin for 3 minutes.

4. Slide Assembly

The slides underwent a series of baths to improve fixation: an ethanol bath, followed by a mixture of ethanol and xylene, then two consecutive baths in pure xylene. Finally, a drop of EUKITT® adhesive was applied to permanently fix the coverslip. The slides were allowed to air-dry for 24 hours.

5. Observation of Histological Slides

The histological slides were observed under a microscope to examine the spermatozoa packed in the seminal vesicle or duct, along with the secretory material in the mucus glands. The analysis of histological slides is based on an objective assessment by considering both the presence or total absence of spermatozoa and secretions of the mucus glands.

6. Data analysis

The data were entered into Microsoft Excel (2007; Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) and imported into SAS software (Statistical Analysis Systems Software, 2001) for statistical analysis. The Chi-square test of independence and Fisher's exact test were used to determine the association between the presence of spermatozoa and secretory mucus glands, and the rearing period, queen age, hive population and drone age. A p-value of 0.05 was used to determine the level of significance.

Results

A. Presence of Spermatozoa

In this study, 86 samples were collected from twelve bee hives during the breeding season (March: 29.07%, April: 36.05%, May: 10.47%, June: 8.14%) and in October (16.28%). The age of the queens from the sampled hives ranged from 1 to 5 years. Regarding the hive population, 32.56% were considered heavily populated, 47.67% moderately populated, and 19.77% sparsely populated. Among the studied drones, 41.86% were immature and 58.14% were mature ($P = 0.13$).

The majority of the samples showed the presence of spermatozoa in the seminal vesicles (62.78% vs. 37.22%, $P = 0.02$). During the breeding season (March to June), the percentage of drones with spermatozoa in the seminal vesicles were 60%, 80.65%, 66.67%, and 100%, respectively. In contrast, in the non-reproduction season (October), only 7.14% of the males showed spermatozoa in the seminal vesicles (Figure 1). The presence of spermatozoa was recorded in 65.38%, 85.71%, 68.75%, and 86.67% of drones from hives with queens aged 1, 2, 3, and 5 years, respectively (Figure 2). Hives with queens aged 4 years showed lower spermatozoa presence, particularly outside the breeding season (October).

Hives with a heavily population showed the highest spermatozoa presence rate (89.29%), compared to 70.59% of weak hives and 41.46% of moderate population (Figure 3). Spermatozoa presence was observed in 76% of mature drones, compared to 24% in immature drones ($P = 0.002$) (Figure 4).

B. Mucus Gland Activity

The majority of drone exhibited a secretory activity in the mucus glands (96.51% vs. 3.49%, $P < 0.0001$). The frequency of mucus gland secretions varied from 92.86% to 100% depending on the reproduction season (Figure 5).

The presence of mucus gland secretions was recorded in 96.15%, 85.71%, 100%, 92.89%, and 100% in drones from hives with queens aged 1, 2, 3, 4, and 5 years, respectively (Figure 6). Similarly, the age of drones appears to affect the secretion activity of the mucus glands, with 91.67% and 100% in immature and mature drones. Additionally, mucus secretion was observed in 96.43%, 95.12%, and 100% of drones from strong, moderate, and weak hives, respectively.

Discussion

Evaluation of bee male reproduction through a histological approach

In this study, the reproduction activity of male honey bees was investigation through the presence of spermatozoa in seminal vesicles and the secretory material in mucus glands during the breeding and non-breeding seasons.

1. Sperm Production

The results showed that during the breeding season, the percentage of drones containing spermatozoa in the seminal vesicles increased from the beginning of the reproduction season (March: 60%) to reach 100% in June. During the non-reproduction season (October), this rate dropped significantly ($P=0.0001$), with only 7.14% of drones showing sperm in the seminal vesicles. The abundant production of drones during the breeding season is positively correlated with sperm production. This is probably related to the abundance of pollen (a source of protein) and nectar (a source of energy).

In spring, the study region is teeming with nectar-producing plants such as oxalis, heather, rockrose, thistle, borage, thyme, lavender, clover, alfalfa, as well as various fruit trees (cherry,

plum, apple, pear, apricot and citrus). The abundance of nectar and pollen is known to stimulate queens laying rate, which leads to the exponential colony growth, particularly thanks to nurse worker bees responsible for raising drones. This reproduction period marked by the abundance of resources, lasts from February to late June, corresponding to the onset of summer heat. However, the months of July and August are characterized as warm and dry periods, which reduce significantly bee activity resulting in a temporary cessation of queen egg-laying. Nevertheless, it is observed that by September, a modest flowering reappears with a few rare nectar-producing plants, such as eucalyptus and inula viscosa. The variable density of these plants and the moderate temperatures allow the queens to resume laying eggs with a sporadic appearance of drones. The current study showed that only 7.14% of drones presented sperm in the seminal vesicles revealing that both the number of drones and their spermatogenesis are strongly affected by the season and, most likely, by the richness of nectar resources and the available food supply.

This has been previously reported where the season appeared as a potent factor with males appearing progressively from spring to early summer. However, according to Boes (2010), bee colonies may adjust drone production based on a combination of environmental factors, such as food availability, worker population, external temperatures, day length, and carbon dioxide concentration in the hive. Rhodes et al. (2011) also reported that the quality of drones varies throughout the bee keeping season, and the rearing of drones depends heavily on the available food resources. Access to pollen during larval development directly impacts the quality of drone reproduction. In fact, Czekońska, Chuda-Mickiewicz, and Samborski (2015) demonstrated that protein deprivation, due to the permanent installation of pollen traps during larval development, leads to the emergence of small-sized drones with low ejaculation capacity compared to drones from hives without pollen traps. However, sperm quality in both groups remains similar in terms of concentration and sperm viability.

Rousseau and Giovenazzo (2016) found that supplementation with pollen (15% protein *ad libitum*) and feeding syrup (1.2 liters of sucrose per week) affected positively the size, weight, sperm production, and sperm viability. On the other hand, Sturup et al. (2013) observed that pollen deprivation after drone emergence does not affect their fertility, and sperm viability remains preserved.

The development of honeybee colonies during the beekeeping season, including drone rearing, is affected by various other factors such as colony size, queen age, availability of stores, nectar

and pollen abundance, and climatic conditions. Particularly, the rising of external temperatures trigger the activity of the colony after its winter dormancy. The plentiful nectar resources, combined with the gradual warming of spring temperatures, boost bee activity and prompt queens to increase their egg-laying.

Sturup et al. (2013) when testing the fertility of drone bees exposed experimentally to extreme temperatures (39°C) for 24 hours, reported a significantly reduced sperm viability. Higher than 40°C, the viability of the males is compromised.

In the semi-arid conditions of the Mediterranean Basin, the emergence of drone bees extends from February to July, with a peak occurring in April and May (Zaitoun et al., 2009). In contrast, in the northern hemisphere, in eastern Canada, bee keeping season runs from May to August. In this region Rousseau et al. (2015a) reported that the sperm volume varies through to the breeding season. In Australia, Rhodes et al. (2011) showed that the reproduction season is occurs in spring, summer, and autumn, corresponding to the period from October to April. They showed that the ejaculation capacity was not affected by the season. However, sperm concentration was significantly influenced by the season of drone rearing. Specifically, sperm volume was significantly higher in drones raised in the spring (October and November). Morais et al. (2022) reported in Brazil that sperm count, viability, and motility were significantly higher during the wet season compared to the dry season. Power et al. (2020), using histological analysis, revealed the lack of seminiferous tubule maturation or even their degeneration in spring (from March to June) in the Campania region in Italy.

2. Mucus Gland Secretions

During drones sexual maturation period, spermatozoa gradually migrate from the gonads to the seminal vesicles, where they are stored in anticipation of mating (Sawarkar and Tembhare, 2015a,b). Concerning the accessory glands, their primary role is the exocrine function related to the secretion of the mucus glands, affecting consequently sperm volume. In this study, histological analysis allowed the evaluation of secretory activity both during the reproduction and the non-reproduction seasons. More than 90% of the samples showed mucus glands secretions both in the reproduction and non-reproduction seasons, with a maximum percentage (100%) in May and June, corresponding to the peak of the breeding season in North Africa.

In domestic honey bees, the drone brood corresponds to the peak availability of nectar-producing resources. This food abundance, affects positively drone reproductive function by stimulating their metabolism. Soon after the emergence of drones, the mucus glands produce a viscous liquid containing proteins (Sawarkar and Tembhare, 2010). The intensity of the secretory activity in the mucus glands is directly dependent on the nutritional status during the larval stage. Rousseau, et al. (2015) reported that at the beginning of the beekeeping season in May, when nectar and pollen resources are still limited, the first cohorts of drones exhibit very small sperm volumes. (Czekońska et al. (2015) also showed that protein deprivation during larval development results in the emergence of small drones with low ejaculation capacity and restricted sperm volumes, due to insufficient secretory activity. However, according to Rousseau and Giovenazzo (2016), supplementation with syrup and pollen during the early stages of drone rearing improves their quality and fertility, with substantial sperm volumes.

3. Queen Age and Drone Reproduction

The current study revealed a marked difference in sperm production when comparing the breeding and the non-breeding season. However, the secretory activity of the mucus glands, showed less differences between these two seasons. These findings are even more striking when drones come from queens of different ages. For instance, the drones collected in the non-reproduction season were produced by a four-year-old queen. These drones exhibited very low values, both in terms of sperm presence and mucus secretion, compared to those sampled during the peak of the breeding season.

In contrast, drones collected during the breeding season were produced by queens from one to five years old. Throughout this period, the drones exhibited high sperm presence and mucus gland activity, peaking in June. This suggests that the queens' age does not significantly influence the drones' reproduction.

Conclusion

This study underscores the significant relationship between the breeding season and sperm production in drones in northern Algeria. Sperm production peaked during the bee reproductive season, remained stable throughout late spring, and then declined sharply outside this period.

The temporary presence of males during the non-reproductive season, albeit with reduced sperm production, provides beekeepers with a valuable opportunity to initiate queen rearing

and restore orphaned colonies. This practice is particularly crucial during periods of intense summer heat and resource scarcity, which often jeopardize colony stability. By enabling colony renewal and bolstering queen production, even during suboptimal reproductive periods, could enhance colony survival through the winter and into the following spring.

The presence of drones and the production of queens during the non-reproductive season, despite their reduced fertility, may contribute to greater colony resilience. This adaptation could play a key role in mitigating the effects of seasonal stressors, ensuring a robust population capable of thriving during the active spring season.

References

- Adjlane, N, & Haddad, N. (2014). The first data on hygienic behavior of *Apis mellifera intermissa* In Algeria. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 4(1), B1–B5. <http://www.journals.tmkarpinski.com/index.php/jbes>
- Alçay, S., Çakma, S., Çakma, İ., Mulkpinar, E., Toker, M. B., Üstüner, B., Şen, H., & Nur, Z. (2019). Arı Spermاسının Protein Eklenmiş TL-Hepes Bazlı Sulandırıcı İle Dondurulması. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 25(4), 553–557. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.21311>
- Barour, C., Tahar, A., & Baylac, M. (2011). Forewing Shape Variation in Algerian Honey Bee Populations of *Apis mellifera intermissa* (Buttel-Reepen, 1906) (Hymenoptera: Apidae): A Landmark-Based Geometric Morphometrics Analysis. *African Entomology*, 19(1), 11–22. <https://doi.org/10.4001/003.019.0101>
- Ben Abdelkader, F., Barbouche, N., Belzunces, L., & Luc Brunet, J. (2015). Effects of Some Insecticides on the Viability and the ATP Synthesis of Honeybee Drone's Spermatozoid in vitro Exposed. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 79(1).
- Bieńkowska, M., Panasiuk, B., Wegrzynowicz, P., & Gerula, D. (2011). The effect of different thermal conditions on drone semen quality and number of spermatozoa entering the spermatheca of queen bee. *Journal of Apicultural Science*, 55(2), 161–168.
- 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. <https://doi.org/10.1007/s00040-009-0046-9>
- Chen, P. S. (1984). The Functional Morphology and Biochemistry of Insect Male Accessory Glands and their Secretions. *Annual Review of Entomology*, 29(1), 233–255. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.29.010184.001313>
- Ciereszko, A., Wilde, J., Dietrich, G. J., Siuda, M., Bąk, B., Judycka, S., & Karol, H. (2017). Sperm parameters of honeybee drones exposed to imidacloprid. *Apidologie*, 48(2), 211–222. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0466-2>
- Colonello, N. A., & Hartfelder, K. (2003). Protein content and pattern during mucus gland maturation and its ecdysteroid control in honey bee drones. *Apidologie*, 34(3), 257–267.

<https://doi.org/10.1051/apido:2003019>

Cornuet, J., Daoudi, A., Mohssine, E. H., Cornuet, J., Daoudi, A., Mohssine, E. H., Etude, J. F., Abeilles, D. E. P. D., & Apidologie, M. (1988). *DE POPULATIONS D'ABEILLES MAROCAINES* To cite this version :

Czekońska, K., Chuda-Mickiewicz, B., & Samborski, J. (2015). Quality of honeybee drones reared in colonies with limited and unlimited access to pollen. *Apidologie*, 46(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0296-z>

Gadbin, C., Crnuel, J.-M., & Fresnaye, J. (1979). APPROCHE BIOMÉTRIQUE DE LA VARIÉTÉ LOCALE D'APIS MELLIFICA L. DANS LE SUD TCHADIEN. *Apidologie*, 10(2), 137–148. <https://doi.org/10.1051/apido:19790204>

Gençer, H. V., & Kahya, Y. (2011). Are sperm traits of drones (Apis mellifera L.) from laying worker colonies noteworthy? *Journal of Apicultural Research*, 50(2), 130–137. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.50.2.04>

Gillott, C. (1996). Male insect accessory glands: Functions and control of secretory activity. *Invertebrate Reproduction & Development*, 30(1–3), 199–205. <https://doi.org/10.1080/07924259.1996.9672546>

Goins, A., & Schneider, S. S. (2013). Drone “quality” and caste interactions in the honey bee, Apis mellifera L. *Insectes Sociaux*, 60(4), 453–461. <https://doi.org/10.1007/s00040-013-0310-x>

Grissa, K., Cornuet, J., Msadda, K., & Fresnaye, J. (1990). *'Etude biom'etrique de populations d'abeilles tunisiennes.*

Haddad, N. J., Loucif-Ayad, W., Adjlane, N., Saini, D., Manchiganti, R., Krishnamurthy, V., AlShagoor, B., Batainh, A. M., & Mugasimangalam, R. (2015). Draft genome sequence of the Algerian bee Apis mellifera intermissa. *Genomics Data*, 4, 24–25. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2015.01.011>

Klein, C. D., Kozii, I. V, Wood, S. C., Koziy, R. V, Zabrodski, M. W., Dvylyuk, I., de Mattos, I. M., Moshynskyy, I., Honaramooz, A., & Simko, E. (2021). Testicular Changes of Honey Bee Drones, Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae), During Sexual Maturation. *Journal of Insect Science*, 21(6). <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab049>

- Le Conte, Y., de Vaublanc, G., Crauser, D., Jeanne, F., Rousselle, J.-C., & Bécard, J.-M. (2007). Honey bee colonies that have survived Varroa destructor. *Apidologie*, 38(6), 566–572. <https://doi.org/10.1051/apido:2007040>
- Locke, S. J., & Peng, Yi. (1993). The effects of drone age, semen storage and contamination on semen quality in the honey bee (Apis mellifera). *Physiological Entomology*, 18(2), 144–148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1993.tb00461.x>
- Moors, L., Koeniger, G., & Billen, J. (2012). Ontogeny and morphology of the bulbus, part of the male reproductive organ in Apis mellifera carnica (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*, 43(2), 201–211. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0094-9>
- Moors, L., Schoeters, E., Coudron, K., & Billen, J. (2009). Morphological changes in the male accessory glands and testes in Vespula vulgaris (Hymenoptera, Vespidae) during sexual maturation. *Invertebrate Biology*, 128(4), 364–371. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2009.00178.x>
- Moors, L., Spaas, O., Koeniger, G., & Billen, J. (2005). Morphological and ultrastructural changes in the mucus glands of Apis mellifera drones during pupal development and sexual maturation. *Apidologie*, 36(2), 245–254. <https://doi.org/10.1051/apido:2005016>
- Morais, L. S., Araujo Neto, E. R., Silva, A. M., Marinho, D. E. L., Bezerra, L. G. P., Velarde, J. M. D. S., Silva, A. R., Gramacho, K. P., & Message, D. (2022). Sperm characteristics of Africanized honey bee (Apis mellifera L.) drones during dry and wet seasons in the Caatinga biome. *Journal of Apicultural Research*, 63(5), 1106–1113. <https://doi.org/10.1080/00218839.2022.2113328>
- Peng, Y., Baer-Imhoof, B., Harvey Millar, A., & Baer, B. (2015). Consequences of Nosema apis infection for male honey bees and their fertility. *Scientific Reports*, 5(1), 10565. <https://doi.org/10.1038/srep10565>
- Power, K., Martano, M., Altamura, G., & Maiolino, P. (2020). Histopathological Findings in Testes from Apparently Healthy Drones of Apis mellifera ligustica. *Veterinary Sciences*, 7(3), 124. <https://doi.org/10.3390/vetsci7030124>
- Rhodes, J. W., Harden, S., Spooner-Hart, R., Anderson, D. L., & Wheen, G. (2011). Effects of age, season and genetics on semen and sperm production in Apis mellifera drones. *Apidologie*, 42(1), 29–38. <https://doi.org/10.1051/apido/2010026>

- Rinderer, T. E., Collins, A. M., Pesante, D., Daniel, R., Lancaster, V., & Baxter, J. (1985). A COMPARISON OF AFRICANIZED AND EUROPEAN DRONES: WEIGHTS, MUCUS GLAND AND SEMINAL VESICLE WEIGHTS, AND COUNTS OF SPERMATOZOA. *Apidologie*, 16(4), 407–412. <https://doi.org/10.1051/apido:19850405>
- Rousseau, A., Fournier, V., & Giovenazzo, P. (2015a). *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) drone sperm quality in relation to age, genetic line, and time of breeding. 10, 1–10. <https://doi.org/10.4039/tce.2015.12>
- Rousseau, A., Fournier, V., & Giovenazzo, P. (2015b). *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) drone sperm quality in relation to age, genetic line, and time of breeding. *Canadian Entomologist*, 147(6), 702–711. <https://doi.org/10.4039/tce.2015.12>
- Rousseau, A., & Giovenazzo, P. (2016). Optimizing Drone Fertility With Spring Nutritional Supplements to Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Journal of Economic Entomology*, 109(3), 1009–1014. <https://doi.org/10.1093/jee/tow056>
- Sawarkar, A. B., & Tembhare, D. B. (2010). Synthesis and chemical composition of mucus gland secretions in *Apis cerana indica*. *Apidologie*, 41(4), 488–496. <https://doi.org/10.1051/apido/2009078>
- Sawarkar, Ab, & Tembhare, D. (2015a). Histomorphological study of the male reproductive system in the Indian drone Honeybee, *Apis cerana indica* (Hymenoptera). *Int. J. of Life Sciences*, A3, 63–66.
- Sawarkar, AB, & Tembhare, D. (2015b). Testis morphology and spermatogenesis in the Indian honeybee, *Apis cerana indica* F. (Hymenoptera: Apidae). ~ 489 ~ *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(3), 489–492. <http://www.entomoljournal.com/vol3Issue3/pdf/3-3-95.1.pdf>
- Schlüns, H., Schlüns, E. A., van Praagh, J., & Moritz, R. F. A. (2003). Sperm numbers in drone honeybees (Apis mellifera) depend on body size. *Apidologie*, 34(6), 577–584. <https://doi.org/10.1051/apido:2003051>
- Shaibi, T., Fuchs, S., & Moritz, R. F. A. (2009). Morphological study of honeybees (apis mellifera) from libya. *Apidologie*, 40(2), 97–105. <https://doi.org/10.1051/apido/2008068>
- Sturup, M., Baer-Imhoof, B., Nash, D. R., Boomsma, J. J., & Baer, B. (2013). When every

sperm counts: factors affecting male fertility in the honeybee *Apis mellifera*. *Behavioral Ecology*, 24(5), 1192–1198. <https://doi.org/10.1093/beheco/art049>

Wolfner, M. F. (1997). Tokens of love: Functions and regulation of drosophila male accessory gland products. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 27(3), 179–192. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(96\)00084-7](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(96)00084-7)

Woyke, J. (2008). Why the eversion of the endophallus of honey bee drone stops at the partly everted stage and significance of this. *Apidologie*, 39(6), 627–636. <https://doi.org/10.1051/apido:2008046>

Zaitoun, S., Al-Mdjeed Al-Gazawi, A., & Kridli, R. (2009). Monthly changes in various drone characteristics of *Apis mellifera ligustica* and *Apis mellifera syriaca*. *Entomological Science*, 12(2), 208–214. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8298.2009.00324.x>

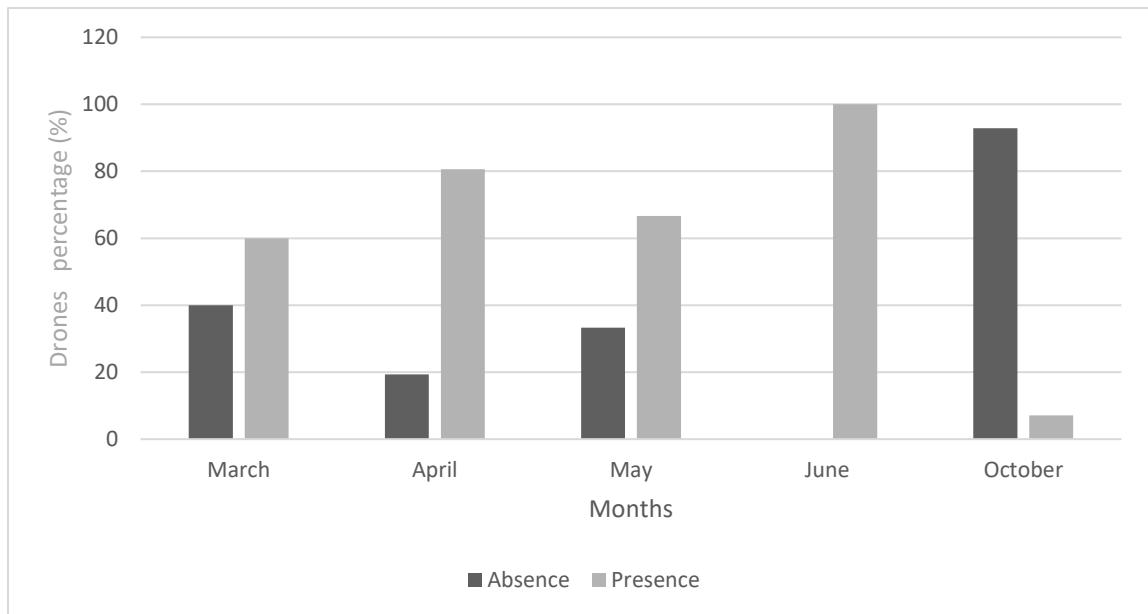


Figure 1. Percentage of drones with the presence or the absence of spermatozoa during the breeding (March; April, May, June) and the non-breeding seasons (October).

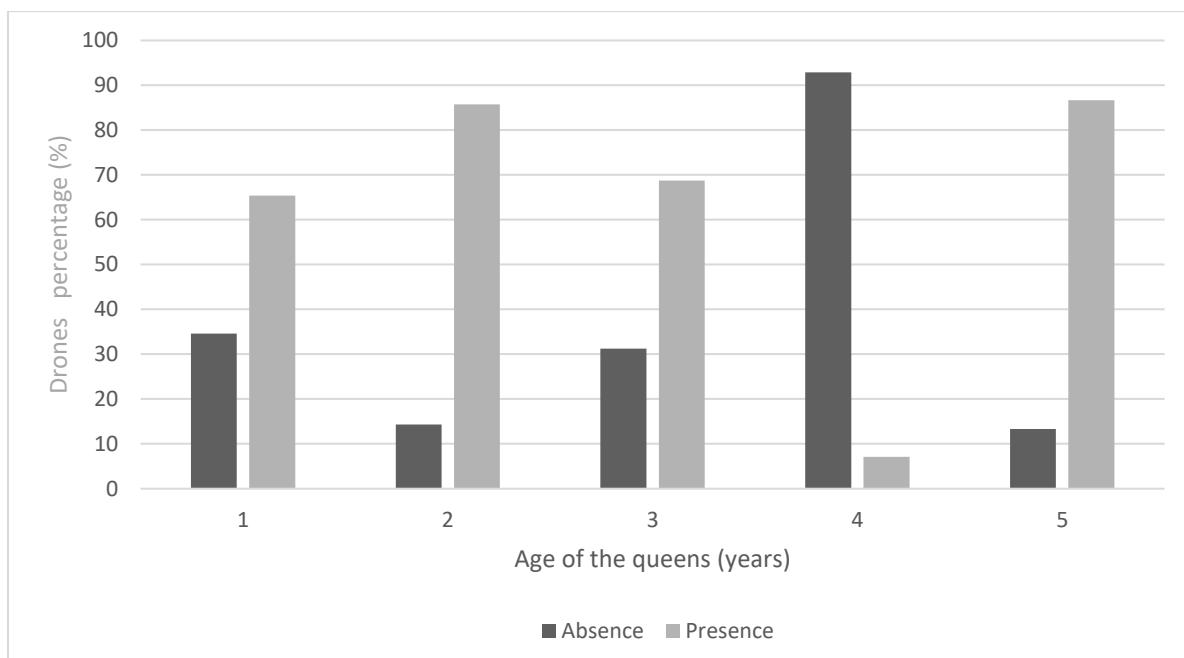


Figure 2. Percentage of drones with the presence or the absence of spermatozoa during the study period according to queens age (from 1 to 5 years).

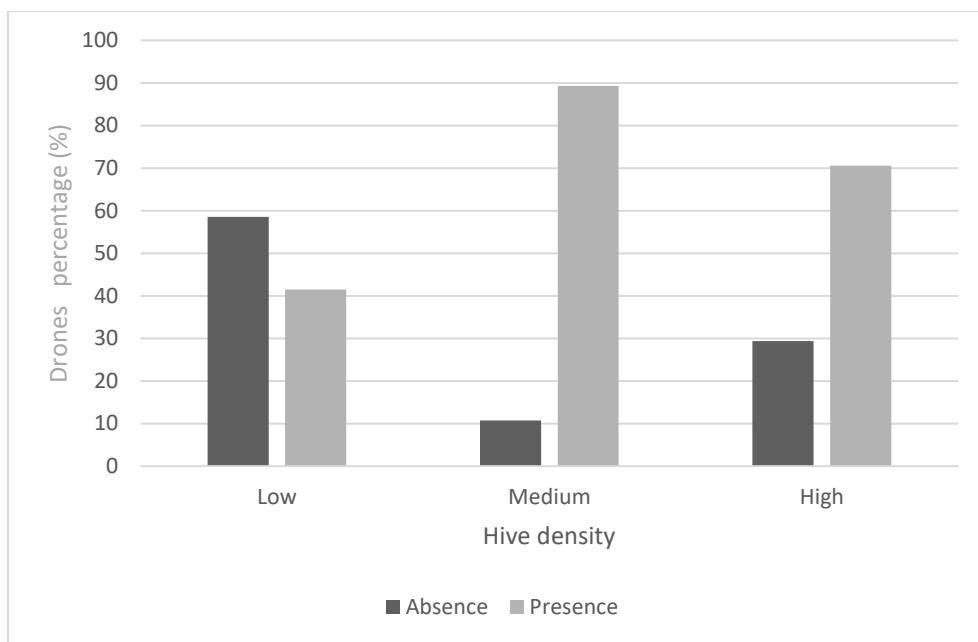


Figure 3. Percentage of drones with the presence or the absence of spermatozoa according to hive density (Low, Medium; High) during the study period.

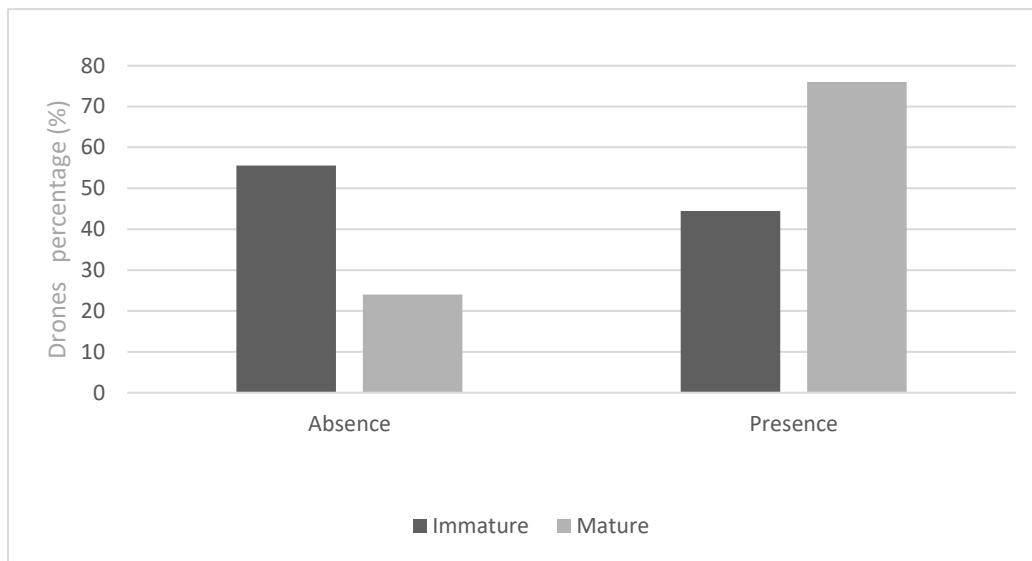


Figure 4. Percentage of drones with the presence or the absence of spermatozoa according to drones status (Immature, Mature).

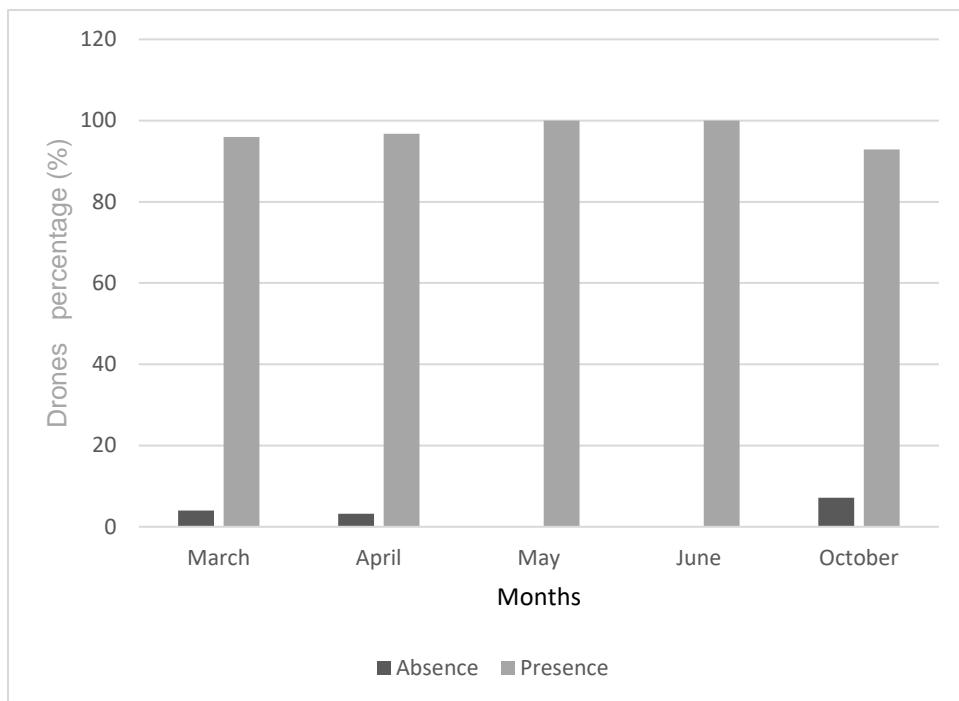


Figure 5. Percentage of drones with the presence or the absence of mucous gland secretions during the breeding (March; April, May, June) and the non-breeding seasons (October).

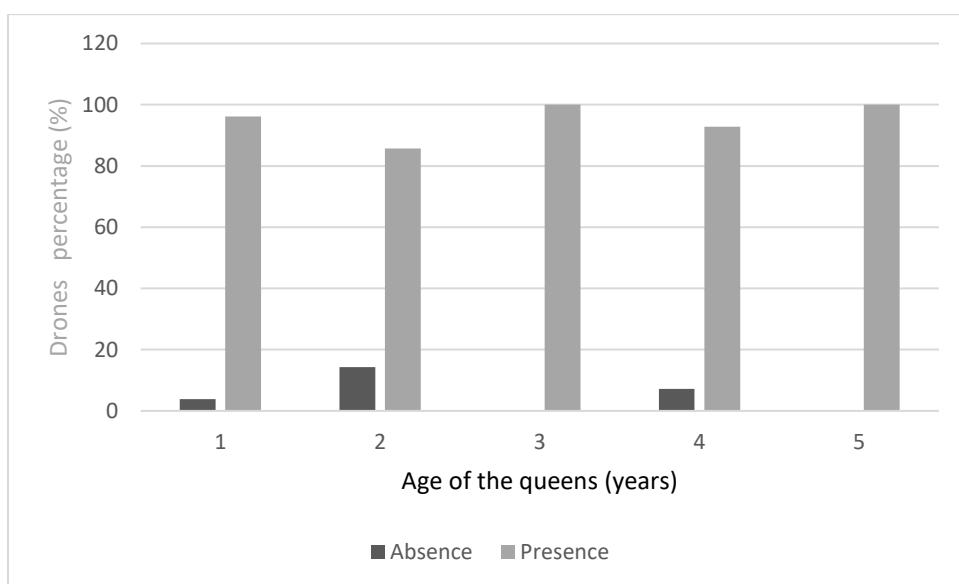


Fig 6. Percentage of drones with the presence or the absence of mucous gland secretions according to queens age (from 1 to 5 years).