République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A.MIRA-Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Sciences Biologiques de l'Environnement

Spécialité : Biologie Animale

Réf:…….

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Étude de quelques paramètres spermatiques de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa*

Présentée par :

Ahouari Selma.

Amiar Samira.

Soutenu le : 01 juillet 2019

Devant le jury composé de :

Mr BOUGAHAM.A.F.	**Président**
Mme. TALBI A.	**Examinatrice**
Mme. SAD-EDDINE O.	**Promotrice**
Mr Bourkeb F.	**Invité**

Année universitaire : 2018 / 2019

REMERCIEMENTS :

Nous remerciement tout d'abord le bon dieu, de nous avoir donné le courage et la patience tout au long de notre formation.

Nous tenons à remercier & exprimer notre profonde gratitude & respect à notre promotrice Mme ***SAD-EDDINE****, et pour sa disponibilité, ses conseils et ses orientations et sa gentillesse et surtout son soutien.*

Nous tenant à exprimer nos sincères considérations et remerciements Mme ***Inouri Ahlem****, pour ses précieux conseils, son aide, son orientation, sa gentillesse et sa générosité. Qu'il veille bien agréer notre profonde et éternelle gratitude .*

Nous remercions Mr ***Bourkeb fares****, Vétérinaire- Apiculteur pour sa générosité, son aide précieuse, sa disponibilité et ces orientations dans notre travail pratique.*

Nos sincère remerciements s'adressent aussi au membre de Jury d'avoir accepté de juger notre travail et de contribuer à son enrichissement par leur valeureuses remarques.

Mr .Brougham A F*, pour avoir accepté de présider le jury et dévaluer notre travail.*

Mme Talbi A*. d'avoir accepté d'examiner ce travail, d'avoir bien voulu prendre le temps d'évaluer et de juger notre travail.*

Nous remerciements s'adressent aussi à l'ensemble du personnel du laboratoire de biologie animale du bloc 12.

***Dédicace** :*

A nos parents ;

A nos frères et sœurs ;

A nos familles respectives

A tous nos amis (es).

Sommaire

Introduction : …… ***1***

Chapitre I : Généralités et classification de l'abeille domestique Apis mellifera

I. *Généralités et classification de l'abeille domestique Apis mellifera :…… ..* ***3***
II. *Répartition géographique :…… ……..* ***4***
III. *La morphologie générale de l'abeille domestique :… ……* ***5***
III. *1- La tête : ……..* ***5***
III. *2- Le thorax :…… ……* ***5***
III. *3- L'abdomen :…… ……..* ***6***
IV. *Cycle de vie de l'abeille Apis mellifera :……* ***6***
V. *Les différentes castes d'une colonie d'abeille domestique Apis mellifera :… ……* ***7***
V. *1- La reine : ……* ***7***
V. *2- Les ouvrières : ……* ***8***
V. *3- Les faux bourdons : ……* ***9***
VI. *L'appareil reproducteur du faux bourdon : ……* ***10***
VI. *1- Les testicules : ……* ***10***
VI. *2- Les vésicules séminales : ……* ***10***
VI. *3- Les glandes à mucus : ……* ***11***
VI. *4- L'endophallus : ……* ***11***
VI. *5- Le sperme : ……* ***12***
VII. *Les congrégations: une rencontre faux bourdons et reines : ……* ***12***
VIII. *Evaluation du sperme : ……* ***13***
VIII. *1-Eversion manuelle de l'endophallus : ……* ***13***
VIII. *2-Lavage de l'endophallus : ……* ***13***

Chapitre II: matériel et méthodes

I. *. Approche de travail : ……* ***14***
II. *Matériel biologique : ……* ***14***
III. *Matériel utilisé sur terrain : ……* ***14***
IV. *Matériel de laboratoire : ……* ***15***
IV. *1-Le spectrophotomètre : ……* ***15***
IV. *2-Le système CASA : ……* ***16***
V. *Opérations effectuées: ……* ***17***
V. *1-Sur le terrain: ……* ***17***
V. *2-Au laboratoire : ……* ***18***
V. *2-1-Préparation de la solution tampon (solution de Kiev) : ……* ***18***
V. *2-2-Collecte de la semence : ……* ***18***
V. *2-3-La dilution de la semence: ……* ***19***
V. *3-L'analyse de la semence : ……* ***20***
V. *3-1-Le volume: ……* ***20***
VI. *Concentration par hématimètre de Malassez: ……* ***20***
VII. *Détermination de la concentration par spectrophotométrie: ……* ***20***
VIII. *La motilité: ……* ***21***

Chapitre III : Résultats et discussions

I.	*Résultats et discussions : ……*	***22***
II.	*L'établissement de la courbe d'étalonnage : ……*	***22***
III.	*Détermination des concentrations des 30 échantillons de sperme étudiés : ……*	***23***
IV.	*Le volume du sperme : ……*	***24***
V.	*Les concentrations moyennes par jour de récolte de sperme : ……*	***24***
VI.	*La mobilité spermatique……*	***26***
VII.	*Relation concentration mobilité : ……*	***27***
	Conclusion ……	***28***

Liste des figures :

Figure 01 : Répartition géographique de *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis* en Algérie.Le Conte et Navajas, 2008)…….....4

Figure 02 : morphologie générale de l'abeille domestique (modifié)……..5

https://www.maxisciences.com/abeille/un-virus responsable de-la-mort-de-millions-d-abeilles_art25021.html

Figure03 : Schéma récapitulatif du cycle de vie d'*Apis mellifera(*Google)…….. *7*

https://www.reseau-canope.fr/tdc/tous-les-numeros/le-monde-des-abeilles/sequences-pedagogiques/creer-une-classe-abeille.html

Figure 04 : la reine d'abeilles locale Bejaia (originale, 2019)…… 8

Figure 05 :ouvrières butineuses (bejaia , 2019) …… 8

Figure 06 :faux bourdon(bejaia,2019)…… 9

Figure 07 : photo modifiée depuis Harano (2008) mettant en évidence l'évolution des testicules (t) entre le 1er et le 8ème jour…… 10

Figure 08 : une paire de glandes à mucus d'un faux bourdon de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa*(Zennouche, 2017)…… 11

Figure 09: Éversion partielle (à gauche) et complète (à droite) de l'endophalus avec présence de la goute du sperme au bout de l'organe génital (photo originale)……12

Figure 10 : la reproduction sexuée (seyfarth, 2010)……13

Figure 11 : chambre d'envol artisanale……15

Figure 12 : un spectrophotomètre visible de marque (VIS 7220 G) de biotech Engineering Management ……..16

Figure13: Le système CASA……16

Figure 14: photos d'une ruche d'abeilles utilisée pour le prélèvement université de Béjaia (originale 2019)…… 17

Figure 15: photos de cages à reine (à gauche) et de la chambre d'envol artisanale (à droite) (Bejaia 2019) originale…… 18

Figure 16: les deux étapes de prélèvement du sperme avec technique d'insémination artificielle (à gauche) (Boumerdes, 2019) et lavage de l'endophalus (à droite)…… 19

Figure 17: l'évolution de la concentration spermatique en fonction de l'absorbance mesurée par spectrophotométrie à (600nm)……22

Figure 18 : Courbe des concentrations spermatiques en fonction des absorbances…….23

Figure 19 : Histogramme représente la concentration moyenne de spermatozoïde par jour.....24

Figure 20: Exemple d'histogramme représentant la concentration en spermatozoïdes par la journée (14/05/2019)……24

Figure 21 : Histogramme représentant l'indice de mobilité par 30 échantillons…….26

Figure 22: Histogramme représentant la relation entre la concentration et indice de mobilité par 30echantillons……..... 27

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur l'abeille domestique.

« Si les abeilles était amenées à disparaitre, l'humanité n'aurait plus que quatre ans à vivre ». Cette fameuse phrase d'Albert Einstein, nous fait réfléchir à tous ce que l'abeille, peut nous apporter.

L'abeille domestique *Apis mellifera* est devenue un animal modèle pour l'éthologie, la neurobiologie (**Menzel, 1999; Menzel, 2012**). L'importance de l'abeille domestique pour l'environnement et l'humanité est indiscutable notamment par le service de pollinisation des plantes. L'abeille procure à l'être humain des produits nobles tel que le miel, le pollen, la propolis et la gelée royale, qui présentent des valeurs nutritives importantes **(Brodschneider et Crailsheim, 2010).**

Dans la colonie d'abeille on distingue 3 castes : la reine, l'ouvrière et le faux-bourdon. En effet, une colonie d'abeilles domestiques est habituellement constituée d'une seule reine (mère de toute la colonie), de 10 000 à 60 000 ouvrières qui assurent toutes les tâches et quelques milliers de faux-bourdons d'un rôle unique de reproduction. (**Le conte, 2002)** et dont la présence est en fonction de la saison **(Winston, 1987)**. La reine et les ouvrières sont des femelles issues d'œufs fertilisés et donc diploïdes alors que les mâles, appelés faux-bourdons, proviennent d'œufs non fertilisés et sont donc haploïdes **(Boes, 2010).**

L'évaluation de la qualité du sperme est d'une importance majeure dans l'exploration de l'infertilité et surtout pour l'exploitation des pères génétiquement supérieurs dans les programmes d'insémination artificielle (**Anzar et *al*, 2009**).

La récolte du sperme des faux bourdons se fait par les techniques d'éversion manuelle et de dissection des vésicules séminales. Ces deux techniques sont les plus fréquemment employées afin d'obtenir des indices de qualité et de quantité du sperme **(Cobey, 2007)**.

Des connaissances plus approfondies sur la production et la qualité du sperme des faux-bourdons sont nécessaires afin d'approfondir les connaissances sur la biologie de l'abeille mais aussi un outil important dans les programmes de sélection naturelle des races.

A notre connaissance, aucune étude n'a encore été menée sur la production et la qualité du sperme des faux-bourdons en Algérie et c'est pour combler cette lacune que nous avons pris l'initiative de réaliser le présent travail qui est basé sur l'étude de quelques paramètres spermatiques de l'abeille local *Apis mellifera intermissa tels que (*la concentration et la mobilité).

Ce manuscrit s'articule sur 3 parties, La première partie est une synthèse bibliographique sur l'abeille domestique en général, avec un intérêt particulier aux faux bourdons notamment sa reproduction et son appareil génital. Dans la deuxième partie nous exposons les différentes techniques et méthodes de travail que nous avons adopté sur le terrain et au laboratoire. La troisième partie regroupe l'ensemble des résultats avec leurs discussions respectives et pour finir une conclusion.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique sur l'abeilledomestique

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur l'abeille domestique.

I. Généralités et classification de l'abeille domestique *Apis mellifera :*

D'après **Arias (1996)** *Apis mellifera* est apparue au moyen orient, un sujet qui reste encore à débattre. Depuis le moyen orient *Apis mellifera* a connu une longue migration, selon deux routes différentes, au cours de laquelle elle a formé de nombreuses sous espèces. L'une de ces routes a permis de coloniser l'ensemble de l'Europe ; et l'autre semble être l'origine des espèces qui occupe le nord de l'Afrique.

Les abeilles sont des insectes sociaux qui forment un clade hyménoptères de la superfamille des apoïdes. Cette appellation vient du fait qu'elle lui a été attribuée pour la première fois par Carl Von Linné, un naturaliste suédois, en 1758**.**

Les abeilles domestiques caractérisent par leur capacité à produire du miel en quantité importante, d'où leur autre appellation d'abeilles « à miel ».

Comme tous les autres organismes vivants, les abeilles sont classées selon un système taxonomique à plusieurs niveaux hiérarchiques. Cette classification est basée en grande partie sur la phylogénie **(Michener, 2007).**

Règne : Animal
Embranchement : Arthropodes
Classe : Insectes
Ordre: Hyménoptères
Sous-ordre: Apocrites
Infra ordre: Aculéates
Superfamille: Apoidae
Famille: Apidae supérieurs
Sous famille: Apinae
Tribu: Apini
Genre: Apis
Espèce: *Apis mellifera.*

II. Les sous espèces d'abeilles algériennes :

Apis mellifera intermissa appelée aussi l'abeille tellienne. C'est une petite abeille comparant à l'abeille européenne *Apis mellifera mellifera,* L'abeille *Apis mellifera intermissa* à une couleur uniformément foncée mais quelque fois avec de nombreux éclaircissement **(Ruttner, 1968).**

(Ruttner ; 1980), qualifie l'abeille tellienne comme intéressante du point de vue biologique car elle semble être la seule abeille avec *Apis mellifera sahariensis* capable de résister aux conditions de contrastes extrêmes de l'Afrique du nord.

L'abeille tellienne est très agressive, nerveuse, très essaimeuse. En effet, plusieurs reines vierges peuvent coexister jusqu'à la fécondation de l'une d'elles **(Berkanni et *al,*2005).**

III. Répartition géographique :

Apis mellifera intermissa habite le nord de l'Algérie depuis la côte, en passant par l'atlas tellien jusqu'à l'atlas saharien **(Figure 01).**Elle est rencontrée sur les plaines, les plateaux de haute altitude et les montagnes .et dans les oasis au sud de l'Atlas saharien **(Béchar, Ain Sefra)** abritent aussi *Apis mellifera sahariensis* **(Adjlane et *al*, 2016).**

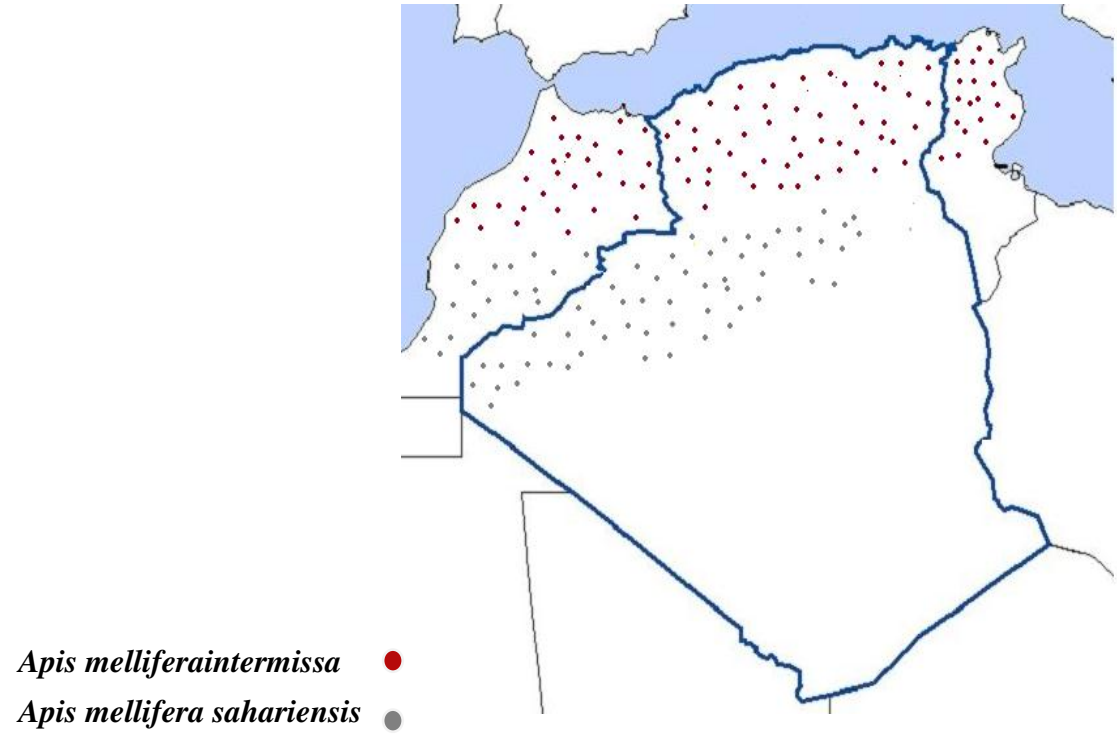


Figure 01 : Répartition géographique de l'*Apis mellifera intermissa* et l'*Apis mellifera sahariensis* en Algérie, modifiée (Le Conte, 2002).

IV. La morphologie générale de l'abeille domestique :

Les abeilles sont des insectes qui ont six pattes (Hexapoda) et deux paires d'ailes. Leur corps est divisé en trois parties distinctes (Figure 02) : tête, thorax et abdomen qui est protégé par une peau protectrice appelé l'exosquelette qui comporte trois couches : l'épiderme, la membrane basale et la cuticule qui donne la souplesse et la rigidité**(Biri, 2002).**

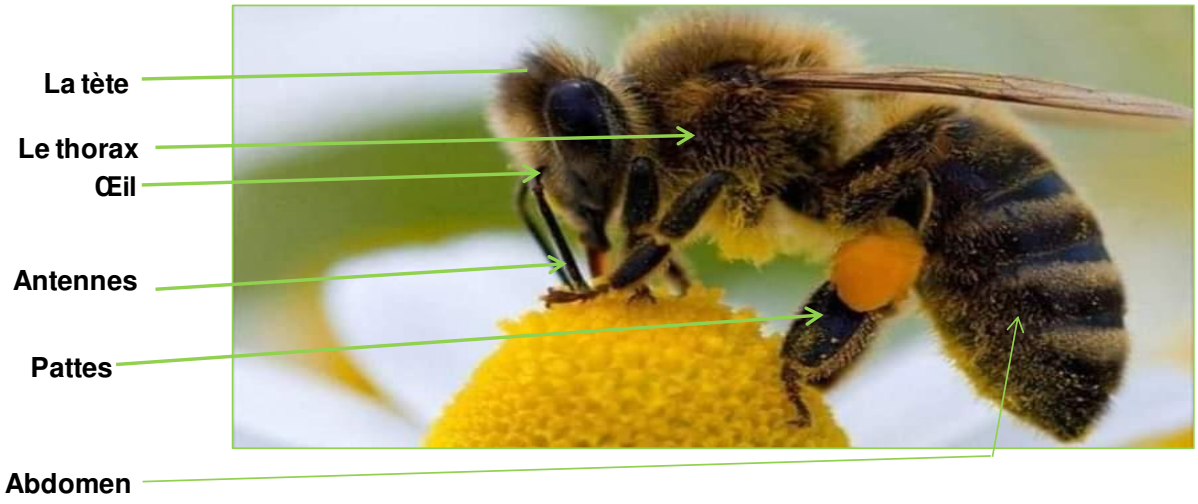


Figure 02 : morphologie générale de l'abeilledomestiquehttps://www.maxisciences.com/abeille/un-virus responsable de-la-mort-de-millions-d-abeilles_art25021.html

IV. 1- La tête :

Elle est de forme ovoïde chez la reine, plus ou moins triangulaire chez l'ouvrière et trapu chez le mâle, elle porte la majorité des organes sensoriels et renferme un cerveau.La tête est composée de :

1. deux yeux,
2. des pièces buccales,
3. deux antennes leurs permettant de repérer les odeurs, de se déplacer dans l'obscurité de la ruche et de communiquer avec les autres congénères.

IV. 2- Le thorax :

Porte les pattes et les ailes, il est constitué par trois segments embryonnaires :

- Prothorax : porte la première paire de pattes antérieures.
- Mésothorax : porte la deuxième paire patte et la première paire d'ailes médiane les ailes des ouvrières atteignent extrémité de l'abdomen ; la reine possèdent des ailes aussi longues que celles des ouvrières, les ailes des faux bourdons sont larges et dépassent l'abdomen.

- Métathorax : porte la troisième paire de pattes postérieures et la seconde paire d'ailes postérieures**(Adam, 2010 ; Biri, 2010).**

IV. 3- L'abdomen :

C'est la partie la plus importante qui assure une fonction reproductrice, et renferme les organes digestifs. Le propodeum est le premier segment de l'abdomen qui le relie au thorax. L'abdomen est divisé en sept segments chez l'ouvrière et huit segments chez le faux bourdon **(Biri, 2010).**

V. Cycle de vie de l'abeille *Apis mellifera :*

Comme chez tous les insectes soumis à une métamorphose complète (Figure 03), chaque abeille passe à travers le stade œuf, le stade larvaire, le stade nymphal et le stade adulte.

Comme dans la plupart des hyménoptères, les œufs d'abeilles fertilisés se développement en femelles; ceux qui ne sont pas fertilisés se développent en mâle c'est la parthénogenèse arrhénotoque **(Winston ,1987).**

Quand la reine s'accouple durant le vol nuptial, elle stocke des spermatozoïdes dans sa spermathèque, elle reçoit habituellement une réserve pour la vie. Elle peut alors contrôler la fécondation de l'œuf en libérant ou non les spermatozoïdes de la spermathèque **(Le conte ,2002).**

Au bout de trois jours, l'œuf éclot et il en sort une larve, semblable à un ver. Elle va croître en formant un croissant de l'une au fond de l'alvéole. Lors des trois premiers jours, les ouvrières nourrissent toutes les larves de gelée royale, puis elles passent à un mélange de miel et de pollen. Les futures reines feront cependant exception à cette règle, leur régime de gelée royale restera inchangé **(Jean-Prost et Le conte 2005).**

Le stade larvaire dure 10jours, à ce stade l'alvéole ce ferme par un bouchon de cire et l'approvisionnement s'arrête **(Michener, 2007).**

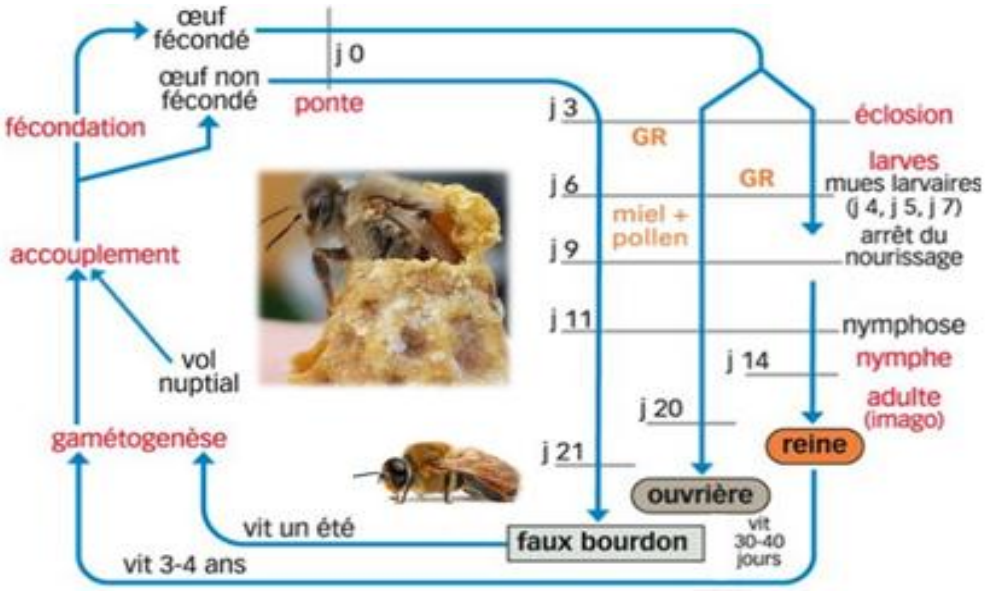
Le stade nymphale, pendant cette période la larve va se métamorphoser (prendre l'apparence d'une abeille adulte). L'intérieur de la nymphe va complètement se réorganiser pour "construire" un insecte parfait. Ses pattes, ses yeux et ses ailes se développent.

Une reine ne restera à l'état de nymphe que 5 jours, alors que l'ouvrière y restera pendant 10 jours et le mâle 11 jours **(Figure 03)(Peng ,2001).**

Figure03 : Schéma récapitulatif du cycle de vie d'*Apis mellifera.*

https://www.reseau-canope.fr/tdc/tous-les-numeros/le-monde-des-abeilles/sequences-pedagogiques/creer-une-classe-abeille.html).

VI. **Les**



différentes castes d'une colonie d'abeille domestique *Apis mellifera* :

VI. 1- La reine :

Elle est l'âme et la mère de la colonie, l'individu le plus grand de la colonie, l'unique femelle fertile. La reine provient d'un œuf fécondé pondu dans une cellule dite (royale) ayant la forme d'un gland (fruit de chêne). Elle vit jusqu'à 05 ans, mais elle n'est prolifique que durant les deux premières années de sa vie **(Winston, 1987)** Elle est différente des autres individus par son abdomen plus long. Huit à neuf jours après sa naissance la reine effectue son vol nuptial, durant lequel, elle s'accouple en moyenne avec 10à 15mâles.

Le rôle de la reine est la ponte et la sécrétion des phéromones qui règlent et équilibrent la vie sociale de la colonie, elle commence à pondre 3 à 4 jours après sa fécondation, elle pond entre 1000 et 3000 œufs/jours.**(Delaney et *al.*, 2011; Tarpy et *al.*, 2011)**

Son appareil reproducteur occupe presque toute la cavité abdominale, il est formé de deux gros ovaire qui vont lui fournir les œufs nécessaires tout au long de sa vie **.** Les oviductes liés aux ovaires, acheminent les œufs jusqu'à la cavité vaginale qui débouche dans la chambre de l'aiguillon de la reine **(Figure 04)(Le Conte et Hefetz, 2008).**

Figure 04 : photo originale de la reine d'abeilles locale.

VI. 2- Les ouvrières :

Elles constituent la caste la plus importante de la colonie, ce sont des femelles issues d'œufs fertilisés et donc diploïdes **(Boes, 2010)**. Leur durée de vie est de 30 à 45 jours en période active et 30 à 60 jours pour celles qui naissent en automne ou en hiver. Leur taille est beaucoup plus petite que celle de la reine et du faux-bourdon. Les ouvrières accomplissent différentes tâches au sein de la colonie et ceci en fonction de leur âge et leur développement physiologique. Elles sont nettoyeuses (1-2 jours) puis nourrices (3^{éme} au 5^{éme} jour) ensuite magasinières (13 au 16 jour), elles sécrètent de la cire et construisent des rayons entre le 6ème et le 12ème jour, elles sont gardiennes et ventileuses du 17èmeau 19ème jour et enfin butineuse de 20èmeau 35èmejour **(Figure 05) (Winston, 1987).**

Figure 05 :ouvrières butineuses (bejaia , 2019)

VI. 3- Les faux bourdons :

Chez les abeilles, les mâles sont beaucoup moins nombreux que les ouvrières. Ils sont moins présents dans une ruche et à des périodes de l'année courtes et précises. Le seul rôle connu des faux bourdons est la reproduction**(Le conte, 2002),**Ils sont issus d'un gamète femelle non fécondé leurs œufs sont pondus généralement à la fin du printemps et en été dans des cellules plus grandes que celles des ouvrières. Ils peuvent être issus de la reine ou des ouvrières lorsqu'il y a absence de cette première. Les mâles ont se retrouver sur les mêmes cadres, sur les rayons contenant du couvain, là où la température est la plus chaude et où les nourrices sont disponibles pour les nourrir **(Rossant, 2011).**Une fois sexuellement mâtures, les mâles sortent des ruches et rejoignent les congrégations pour se reproduire, durant l'accouplement, les mâles meurent **(Ruttner, 1954),** car l'éversion de l'endophallus est irréversible et entraîne la paralysie du mâle **(Koeniger, 1990).** Après l'éjaculation le mâle se sépare de la reine mais en laissant ses organes génitaux **(Koeniger et *al.*1989).** À la fin de l'été ou lors de journées de pluie, les ouvrières chassent les mâles des ruches et ceux-ci meurent alors de froid ou de faim**.**

Figure06: faux bourdon (Bejaia, 2019).

VII. L'appareil reproducteur du faux bourdon :

L'appareil reproducteur mâle est composé de trois organes: une paire de testicules, deux vésicules séminales et une paire de glandes accessoires (les glandes à mucus) :

VII. 1- Les testicules :

Ce sont deux petites masses blanchâtres placées en position dorsale dans l'abdomen comportant environ 200 tubes séminifères **(Le Conte 2002)**. Selon **Harano et *al*. (2008),** ces testicules ont une apparence semi-transparente à jaune pâle à l'émergence puis perdent cette transparence et deviennent verdâtres avec l'âge et leurs masse diminue.

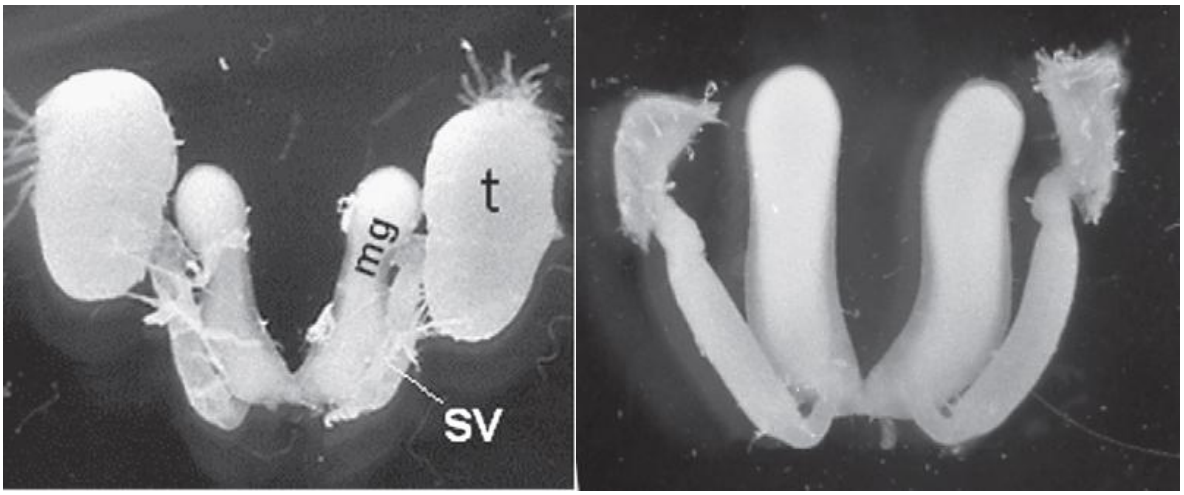


Figure07 : photo modifiée depuis Harano (2008) mettant en évidence l'évolution des testicules (t) entre le 1er et le 8ème jour.(mg=glandes à mucus**).(sv=**vésicules séminale**).(t=**testicules).

VII. 2- Les vésicules séminales :

Ce sont des structures paires dont le rôle principal c'est le stockage des spermatozoïdes dans l'attente de l'accouplement (**Mackensen et Tucker, 1970**). La taille des vésicules séminale évolue inversement à celui des testicules. En effet, les testicules régressent tandis que les vésicules séminales prennent de la taille et du volume **(Harano et *al*, 2008) .**

VII. 3- Les glandes à mucus :

Les glandes à mucus sont les plus importantes dans le système reproducteur. Elles sont de structure paire et sont situées dans la région postéro-ventrale de l'abdomen. Ces glandes produisent un mucus destiné à protéger le sperme lors de la copulation. D'après **(Koeniger et *al,* 2014 ; Harano, 2013 ; Metz et Tarpy, 2019),** La taille des glandes à mucus augmente progressivement et leurs couleur passe d'une couleur transparente à une couleur blanc laiteux dans leur région distale avec la sécrétion de mucus.

Figure 08 : une paire de glandes à mucus d'un faux bourdon de l'abeille locale *Apis melliferaintermissa*(Zennouche, 2017)

VII. 4- L'endophallus :

Consiste en un long tube à l'intérieur de l'abdomen composé principalement du bulbe, des coronules, du canal éjaculateur et des plaques chitineuses, les glandes à mucus, les vésicules séminales et les testicules sont rattachés à l'endophallus par le canal éjaculateur(**Woyke, 2008**).

Figure09 : Éversion partielle (à gauche) et complète (à droite) de l'endophallus avec présence de goute du sperme au bout de l'organe génital (photo originale)

VII. 5- Le sperme :

Le sperme des faux bourdons est un liquide visqueux, de couleur marron crémeux, formé par deux composants de sources différentes; les spermatozoïdes, et le liquide des vésicules séminales **(Moritz, 1986)**.Comme chez d'autres espèces d'hyménoptères, la spermatogenèse chez les mâles d'abeilles se produit au stade nymphal. Les jeunes faux bourdons émergent tous avec des spermatozoïdes dont ils disposeront toute leur vie

(Baer -2005).

VIII. Les congrégations: une rencontre faux bourdons et reines :

Les abeilles présentent un comportement d'accouplement particulier **(Baer, 2005)**. En effet, durant la période de reproduction, les faux bourdons matures volent à l'extérieur de la colonie durant les après-midi ensoleillés et se regroupent en congrégations compactes, généralement à une altitude comprise entre 10 et 40 m au-dessus du sol, Une congrégation peut regrouper jusqu'à 11000 mâles issus de près de 240 colonies différentes **(Koeniger et *al*, 2005).** Les mâles évoluent au sein de cette congrégation, dessinant de larges boucles dans le ciel et ne retournent à la colonie que pour se nourrir. Ensuite seulement, les reines vierges viennent retrouver les mâles dans ces congrégations.

Quand une reine vierge entre dans la congrégation, elle attire à elle de nombreux mâles, dans un premier temps par des signaux olfactifs (phéromone de reine vierge) et à plus courte distance par des indices visuels**.** Les mâles suivent les reines vierges en formant un essaim en forme de comète, et luttent pour s'accoupler avec la reine **(Gries et Koeniger, 1996).**La reine

s'accouple avec 10 à 20 mâles sur une période allant de 15 à 30 minutes Ces mâles meurent directement après l'accouplement **(Free, 1987**)

Figure 10: la reproduction sexuée (seyfarth, 2010).

IX. Evaluation du sperme :

IX. 1- Éversion manuelle de l'endophallus :

Le sperme de plusieurs mâles peut être collecté par une seringue de l'insémination, Généralement la quantité du sperme varie d'un mâle à l'autre entre 1 et 1.5 µl **(Kairo, 2016)**,il se reproduit de façon manuelle, puisque l'endophallus en soi ne possède pas de muscle, L'éversion résulte de la contraction musculaire abdominale lorsque le faux-bourdon est excité ou par l'application d'une pression sur le thorax causant l'augmentation de la pression de l'hémolymphe à l'intérieur de l'abdomen **(Bishop, 1920).**

IX. 2- Lavage de l'endophallus :

Il existe une autre technique, qui permet une récolte d'un mélange homogène de sperme, laver l'éjaculat complet (sperme et mucus) de l'endophallus éversé, avec le diluant Kiev **(Kaftanoglu et Penge,1980)**

Chapitre 02 :

Matériel et méthodes

I. Approche de travail :

A notre connaissance, le présent travail est le premier dans son genre en Algérie et qui consiste à étudier quelques paramètres spermatiques de l'abeille domestique locale *Apis mellifera intermissa*. La partie pratique de ce travail s'est déroulée au niveau du laboratoire d'apidologie de l'université de Boumerdes où nous avons appris les techniques de récolte de sperme des faux bourdons et le reste des manipulations, elles ont été faites au laboratoire de biologie animale au sein de l'université A. MIRA / Bejaïa.

Les expérimentations ont été réalisées durant la période allant de la mi-avril jusqu'au début juin.

Notre travail s'est axé sur 3 aspects essentiels, le premier étant de récolter le sperme des faux bourdons mature. Le second est de calculer la concentration des différents échantillons à partir des absorbances obtenues par spectrophotométrie et enfin l'évaluation de la mobilité spermatique en utilisant le système CASA.

II. Matériel biologique :

Pour effectuer les différentes manipulations nous avons travaillé sur les faux bourdons de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa.* Ce sont les individus mâles de la colonie d'abeilles et ce sont les plus gros insectes de la colonie. Ils sont trapu et leurs thorax est couvert de poils. Ils sont reconnaissables par leur tête surmontées de deux gros yeux globuleux et équipée d'une paire d'antennes, leurs abdomen est arrondi, leurs vol est assez bruyant et disgracieux.

III. Matériel utilisé sur terrain :

Afin de mener nos expérimentations dans de bonnes conditions, nous avons eu recourt au matériel utilisé en apiculture à savoir :

- **La Ruche :** de type Dadant contient des abeilles de tout âge, le toit, cadres, corps de ruche, plateau, trou de vol, auvent, couvre cadres, hausse, trou d'aération.
- **La Combinaison apicole :** pour une meilleure sécurité, nous avons utilisé des combinaisons apicoles ainsi que des gants.
- **L'enfumoir :** utilisé pour la maitriser les abeilles et atténuer leur agressivité.

- **Les cages à reines:** pour le stockage et le transporte des abeilles prélevées. Et pour garder les faux bourdons vivant et leurs permettre de déféquer avant le prélèvement du sperme, nous avons conçues un dispositif spécial équivalent d'une chambre de vol **(Figure 11).**

Figure 11: chambre d'envol artisanale.

IV. Matériel de laboratoire :

Au laboratoire nous avons utilisé :

Trois types de micropipettes 10 et 1000µl avec des embouts jetables. La cellule de Malassez pour estimer les concentrations en spermatozoïdes, la cellule de Makler utilisé avec le système CASA. Des verres de montre, des épingles, des tubes à essai (eppendorfs), des étiquètes, des lames et des lamelles ainsi qu'une cuve en verre pour le spectrophotomètre.

IV. 1- Le spectrophotomètre :

La spectrophotométrie consiste à apprécier la concentration en spermatozoïdes en évaluant l'opacité de la suspension au moyen d'un spectrophotomètre. Dans le présent travail, nous avons eu recourt à un spectrophotomètre visible de marque (VIS 7220 G) de biotech Engineering Management, La longueur d'onde utilisée est de 600nm. (Figure 12)

Figure 12 : un spectrophotomètre visible de marque (VIS 7220 G) de biotech Engineering Management .

IV. 2- Le système CASA :

Le sigle CASA signifie en anglais **C**omputer-**A**ssisted **S**emen **A**nalysis, nous l'appelons communément l'analyseur de sperme (figure :13).

C'est un outil introduit en médecine il y a une quarantaine d'années environs **(Amann et Waberski, 2014)** afin de faciliter la réalisation des spermiogrammes et en centres de fertilisation pour les grandes quantités de sperme. Ce dispositif permet de capturer l'image à partir d'un microscope, il est en effet constitué d'un microscope optique, d'une caméra, le tout relié à un ordinateur.

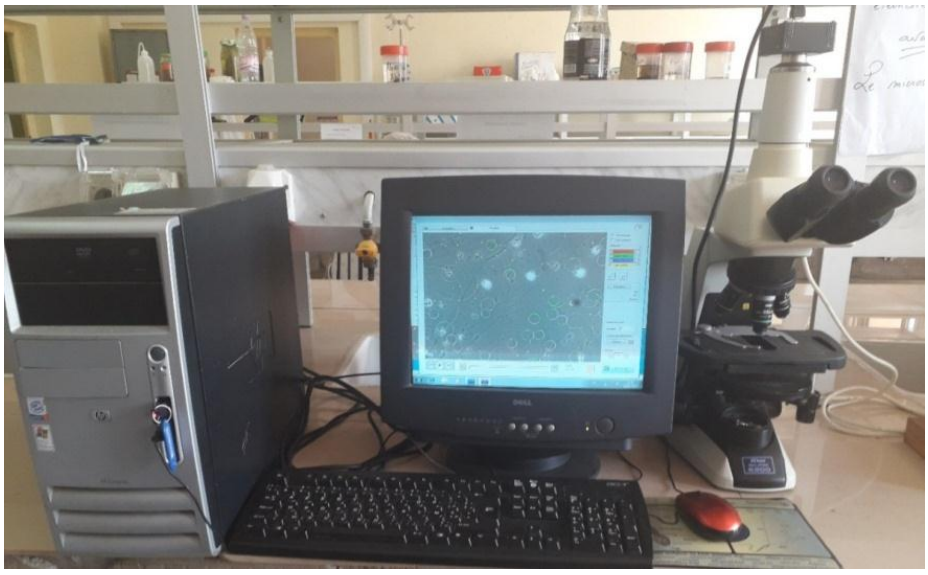


Figure13 :Le système CASA.

V. Opérations effectuées:

Il est à signaler que l'ensemble des manipulations ont été faites sur les faux bourdons de l'abeille locale dans les conditions d'élevage dont l'âge et l'état corporel sont indéterminés.

V. 1- Sur le terrain:

Le prélèvement des faux bourdons dans les ruches a été fait en fonction des conditions météorologiques à raison d'un prélèvement par jour. L'ouverture des ruches s'est effectué au matin au environ de 9h30 mn. Nous avons utilisé l'enfumoir avec un combustible fait de sueur de bois additionnée de l'inule visqueuse (*Inulaviscosa*). L'enfumage s'est fait au voisinage du trou d'envol. Ensuite le couvre cadre est soulevé délicatement et un autre enfumage est fait aussitôt pour calmer les abeilles, les faux bourdons ont été prélevés sur les différents cadres.

Figure 14: photos d'une ruche d'abeilles utilisée pour le prélèvement université de Béjaia (originale 2019).

Les faux bourdons sont facilement reconnaissables grâce à leur taille et leur pilosité. L'ensemble des échantillons prélevés ont été mis dans des cages à reine puis transféré dans notre chambre d'envol **(Figure15)** puis transportés au laboratoire afin de récolter la semence et réaliser les différentes analyses.

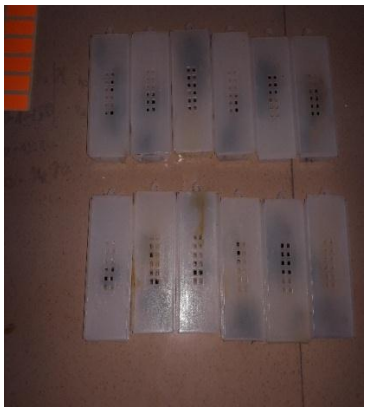


Figure 15: photos de cages à reine (à gauche) et de la chambre d'envol artisanale (à droite) (Bejaia 2019) originale

V. 2- Au laboratoire:

V. 2-1 - Préparation de la solution tampon (solution de Kiev) :

Pour la solution de Kiev nous avons adopté le protocole de Ben Abdelkader et *al*, (2015)nous avons utilisé pour sa préparation 36 g/l de citrate du trisodium, 3.6g/ l de bicarbonate de sodium , 0.6 g/l, chlorure du potassium, 5 g/L de glucose, et le sulfanilamide à raison de 1 g/l.

V. 2-2 - Collecte de la semence :

Le prélèvement du sperme a été réalisé selon deux méthodes:

La première méthode en utilisant la seringue d'insémination artificielle et la deuxième c'est un lavage de l'endophallus et c'est cette deuxième technique que nous avons utilisé pour la majorité des échantillons.

Le principe consiste à saisir les mâles un par un pour récolter le sperme en effectuant une éversion d'abord partielle puis complète. Le faux bourdon est saisi vivant par la main gauche entre le pouce et l'index après avoir débarrassé des pattes et de la tête et des ailes puis une légère pression est faite sur la partie abdominale juste en bas du thorax, l'éversion

partielle se caractérise par l'apparition des deux crochets copulateurs d'une couleur jaune orangée. En poursuivant la pression sur l'abdomen l'endophallus entier ressort et une goutte de sperme d'une couleur crème apparait à l'extrémité **(Figure16)** Pour la première méthode le sperme a été récupéré à l'aide d'un appareil d'insémination mené d'un capillaire. Pour la deuxième méthode, l'extrémité de l'endophallus est plongée dans la solution de conservation (Kiev) rincé jusqu'à récupération de tout le sperme.

Figure 16: les deux étapes de prélèvement du sperme avec technique d'insémination artificielle (à gauche) (Boumerdes, 2019) et lavage de l'endophallus (à droite)

V. 2-3- La dilution de la semence:

Etant donné que le sperme des faux bourdons est d'une petite quantité et sa densité est très élevée, nous avons préparé une première dilution où nous avons utilisé le sperme récolté sur 10 faux bourdons (pool de sperme) dans 500µl du diluant (solution de Kiev). La quantité de sperme récolté sur chaque faux bourdon est estimée à 0,5µl.

À partir de cette première dilution nous avons préparé d'autres solutions avec des taux dilution de 1/170,1/200,1/250,1/300,1/350,1/400,1/500.

L'échantillon de la 3ème dilution à savoir les 10ul de sperme dilué (dans la solution de Kiev) +240ul de solution de Kiev est utilisée comme suit : 15µl pour la concentration sur la cellule de Malassez, 70µl pour spectrophotométrie et nous avons prévu 15 µl pour la viabilité.

V. 3-L'analyse de la semence:

V. 3-1-Le volume:

Le volume de sperme est estimé à partir des pools préparés à partir du sperme récolté sur 10 faux bourdons la moyenne 5ul pour 10 faux bourdon.

VI. Concentration par hématimètre de Malassez:

L'évaluation de la concentration a été faite par un comptage des spermatozoïdes en utilisant un hématimètre (cellule de Malassez). Cette méthode est considérée comme méthode de référence par l'OMS, pour le sperme humain. Pour réaliser cette méthode nous avons nettoyé et séché soigneusement les parties de la cellule de Malassez puis nous avons exercé une pression sur les côtés de la lamelle afin qu'elle adhère à l'hématimètre. Avec une micropipette nous avons déposé15 µl de sperme dilué d'une façon inclinée sur les bordures de la lame, par capillarité, le sperme dilué se répartit entre l'hématimètre et lamelle. Une fois les spermatozoïdes déposés au fond de l'hématimètre, cette dernière est déposée sur la platine du microscope. Des photos ont été prises sur 3 rectangles pour un comptage ultérieur.

Pour calculer le nombre de spermatozoïdes de l'échantillon initial:

On a Calculé le nombre moyen de spermatozoïdes comptés dans les 3 rectangles, multiplier la Moyenne obtenue par 100 puis par 10^3 pour obtenir le nombre de cellules par µl d'échantillon dilué. Multiplier le nombre obtenu par le facteur de dilution.

Soit l'équation suivante:

[Spermatozoïde]=nombre de spermatozoïde /nombre de rectangle×100×10^3×taux dilution.

VII. Détermination de la concentration par spectrophotométrie:

Allie rapidité et précision, la spectrophotométrie s'avère la technique la plus efficace pour la détermination de la concentration.

A partir de la solution-mère (initiale) 1 :100, nous avons préparé 7 solutions qui ont été réalisées en effectuant des dilutions avec le milieu de Kiev. Les taux de dilutions sont les suivants : 1 /170, 1/200, 1/250, 1/300, 1/350, 1/400, 1/500.

Ces différentes dilutions nous ont permis d'établir une courbe d'étalonnage.

La concentration des différents échantillons a été mesurée par la méthode de référence (par hématimètre de Malassez) comme elle a été décrite ci-dessus. A partir de la 3ème dilution, soit 1 :250 nous avons calculé la concentration pour l'ensemble des échantillons. Pour l'échantillon de référence puis par les absorbances enregistrées par le spectrophotomètre à 600nm.Une courbe d'étalonnage (A= f (C)) a été réalisée à l'aide du logiciel Excel de Microsoft et la formule de la courbe de tendance.

VIII. La motilité:

Elle a été déterminé en utilisant le système CASA, la mobilité dépend essentiellement de trois facteurs : la concentration, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et de la vitesse de déplacement des spermatozoïdes.

Les suspensions de sperme initial ont été diluées à 1 :100 avec la solution tampon de Kiev. La motilité des spermatozoïdes a été estimée subjectivement au microscope.

Après agitation, 10 µl de sperme incubé à 37°c ont été placés au centre de la cellule de Makler et après avoir mis la lamelle, la cellule de Makler a été placée sur la platine du microscope. Une fois la mise au point faite au grandissement 100X, la caméra du CASA enregistre tous les mouvements en séquences vidéo, qui sont interprétées ultérieurement.

L'estimation a été faite par un seul observateur, Les spermatozoïdes étaient considérés comme mobiles s'ils étaient actifs.

La motilité a été notée selon l'échelle suivante: une note de 4 a été attribuée lorsque> 50% des spermatozoïdes présentaient des mouvements circulaires et progressifs; 3 lorsque <20% présentaient un mouvement circulaire et progressif mais plus de 50% vibraient; 2 lorsqu'il n'y avait pas de mouvement circulaire ou progressif mais que> 5 0% vibraient; 1 lorsque <50% du sperme vibrait; et 0 quand il n'y avait pas de mouvement. Toutes les mesures de motilité ont été prises 1 min après avoir placé la chambre remplie sur une plaque chauffée à 37 ° C et laissées reposer 1 min, car la motilité augmente 2 min après**(LOCKE, S. J., & PENG, Y. S.1993)**

ChapitreIII :
Résultats et discussions

I. Résultats et discussions :

Dans cette partie nous allons exposer l'ensemble des résultats obtenus. Dans un premier temps nous expliquerons la méthode d'analyse de la concentration des spermatozoïdes dans 30 échantillons du sperme d'abeille étudiés.Dans la seconde partie, nous exposerons l'ensemble des résultats relatifs à la mobilité spermatique de ces mêmes 30 échantillons.

II. L'établissement de la courbe d'étalonnage :

La courbe d'étalonnage est obtenue à partir d'un échantillon de référence, sur un pool de sperme obtenu à partir de 10 faux bourdons. Ce dernier a été dilué en premier 50 fois pour obtenir une solution mère. A partir de la solution mère des dilutions de 17, 20, 25, 30, 35, 40, 100 fois ont été faites. Les suspensions du sperme ont été mesurées à l'aide de spectrophotométrie (600nm).

La courbe d'étalonnage obtenue (figure17) a pour équation : y = 17,62x - 0,89 (y représentant la concentration en spermatozoïdes / million et x représentant l'absorbance mesurée par spectrophotométrie). Cette équation a été utilisée pour calculer les concentrations des échantillons à partir de leurs absorbances mesurées par spectrophotométrie.

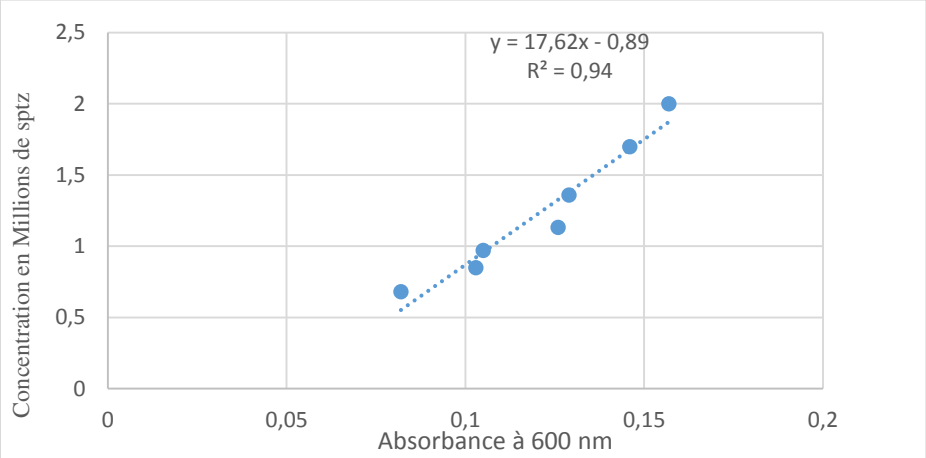


Figure 17: l'évolution de la concentration spermatique en fonction de l'absorbance mesurée par spectrophotométrie à (600nm).

D'après la courbe d'étalonnage**(Figure17),**On peut constater que l'absorbance augmente proportionnellement à l'augmentation de la concentration . D'après le coefficient de détermination obtenu (R^2 = 0.94) et le coefficient de corrélation correspondant (R=0.97) la courbe d'étalonnage est suffisamment précise pour déterminer les concentrations des échantillons par spectrophotométrie, Ce qui signifie que la méthode spectrophotométrie est suffisamment fiable pour l'estimation de la concentration du sperme des faux bourdons.

III. Détermination des concentrations des 30 échantillons de sperme étudiés :

A partir de la courbe d'étalonnage de référence nous avons effectué la courbe qui relie les absorbances des spermatozoïdes par spectrophotomètre et les concentrations spermatique des 30 échantillons de sperme **(Figure18)**après les avoir calculé à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage. À partir des points tracées nous avons obtenu une courbe linéaire dont l'équation Y=ax+b (17,62x - 0,89) qui permet de trouver les concentrations (y) à partir des absorbances (x, la valeur du coefficient de détermination (R^2=1).

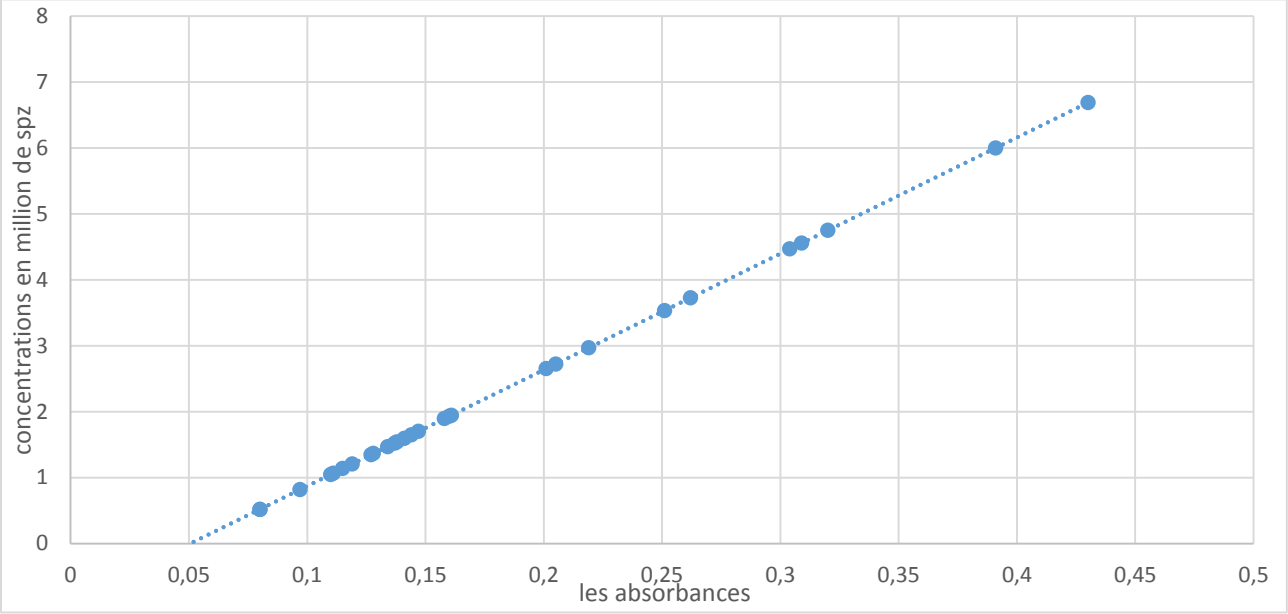


Figure18 : Courbe des concentrations spermatiques en fonction des absorbances.

Les résultats de **(Figure18)** montrent que la méthode de détermination des concentrations des spermatozoïdes pour le sperme des faux bourdons par spectrométrie est

tout à fait valide et confirme une fois de de plus la fiabilité de cette méthode déjà adopté par **Harbo, (1976). Ciereszko et *al.* (2016)** pour le sperme d'abeilles.

IX. Le volume du sperme :

Les résultats obtenus lors de cette investigation montrent que les faux bourdons de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* produisent une quantité réduite de sperme, difficile à déterminer mais qui avoisine les 0,5µl.La quantité de sperme d'un mâle s'élève en moyenne à 1,7 µ1, mais on ne parvient généralement pas à aspirer plus de 1µL et un maximum 1 ,5 µ.1 de sperme dans la seringue d'insémination **(Woyke , 1960).**

Une étude faite sur l'abeille mellifère canadienne par **Rousseau (2014)** montre que ses faux bourdons produisent 1.01µl. cette différence peut s'expliquer par l'appartenance de ces deux espèces à des lignées génétiques différentes. Il est en effet, connu que l'abeille tellienne soit une abeille de petite taille et la quantité de sperme ne peut être que relative à sa taille. La petite quantité de sperme produite par les faux bourdons de l'abeille locale peut également être liée à la présence du varroa sur le corps des mâles utilisée, d'après **Duay et *al*, (2002)**, les mâles infectés par *Varroa destructor* pendant leurs stades de développement montrent une diminution de la production de sperme et de la durée des vols de fécondation.

X. Les concentrations moyennes par jour de récolte de sperme :

Dans l'histogramme de la figue19 nous avons regroupé les résultats relatifs aux concentrations par jour de collecte. Il ressort que la concentration la plus élevée est enregistrée à la mi-mai avec 4,5 millions de spermatozoïdes /µl ceci est en relation directe avec les conditions climatiques les plus favorables à la reproduction pour les abeilles durant cette période. La concentration en spermatozoïdes la plus faible est rapportée au début du mois de mai avec seulement 0,65 millions de spermatozoïdes /µl, à la 3ème semaine du mois de mai avec 1,19 millions de spermatozoïdes /µl. Il est à signaler qu'avant ces deux prélèvements la région de Béjaia a observé des périodes de fortes pluies ce qui ralentis la production des faux bourdons et leurs maturité.

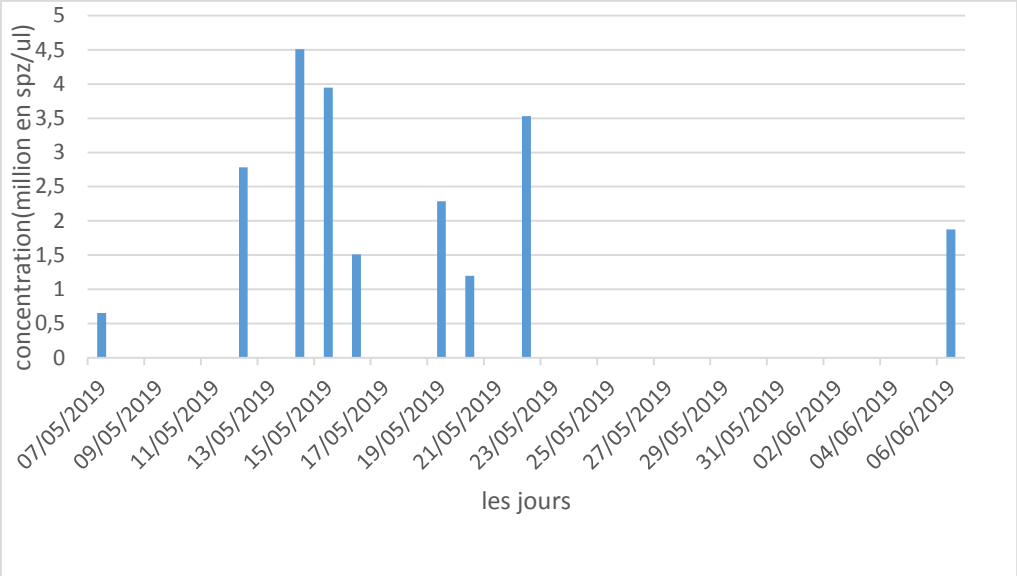


Figure 19: Histogramme représente la concentration moyenne de spermatozoïde par jour.

Néanmoins, durant le même jour de prélèvement, des fluctuations ont été enregistré entre les différents pools exemple de l'échantillon représentant la plus élevée**. (Figure 19)**

Cette fluctuation est probablement due à l'âge des faux bourdons qui peut être différent d'un pool à un autre **(Figure20) .**

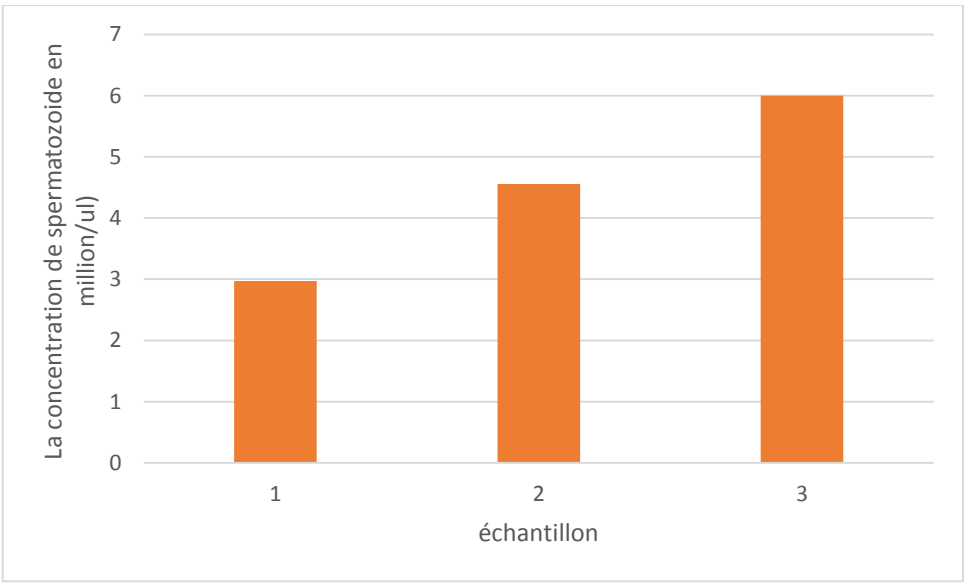


Figure20 : Exemple d'histogramme représentant la concentration en spermatozoïdes par la journée exemple : (14/05/2019).

XI. La mobilité spermatique

Les résultats de la mobilité montrent que l'indice de mobilité le plus élevé (4) a été enregistré pours 8 pools avec des spermatozoïdes se déplaçant en mouvements circulaires et progressifs. 3 pools seulement ont un indice de mobilité de(3) ce qui signifie que ces spermatozoïdes exposent des mouvements circulaires sur place, les spermatozoïdes de 5 autres pools ont un indice de (2) c'est-à-dire que les spermatozoïdes vibrent seulement et aucun mouvement circulaire n'est enregistré. Un indice de mobilité (1) est enregistré pour les spermatozoïdes de 6 pools ce qui signifie que < 50% sont vibrant. Pour le reste des échantillons le sperme est statique.

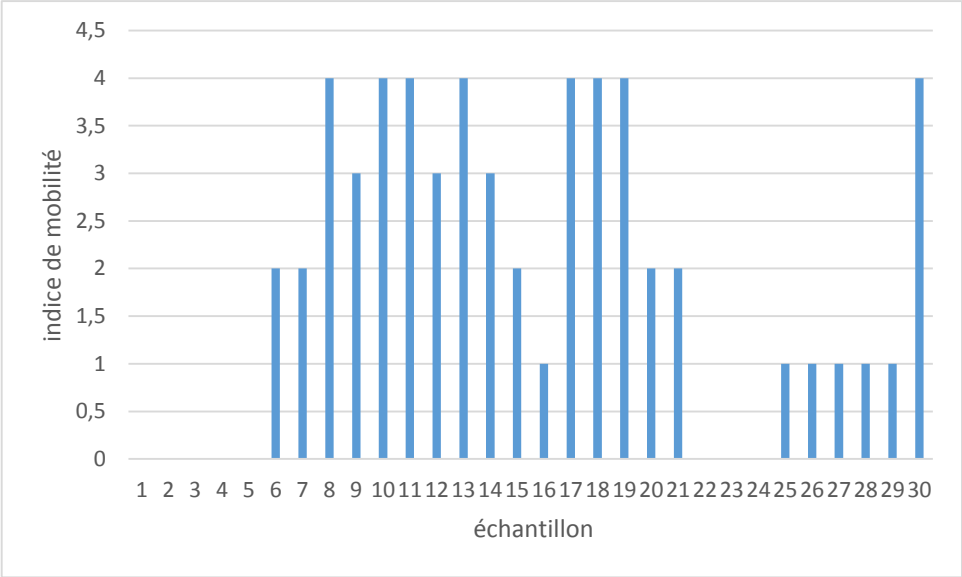


Figure 20 : Histogramme représentant l'indice de mobilité par 30 échantillons.

Ces observations de la mobilité spermatique ne montrent pas le même statut dans tous les échantillons (figure20). En effet la durée de collecte du sperme varie d'un échantillon à un autre et la mobilité n'est estimée qu'après la collecte. D'après(1960) Lensky et Schindler (1967), le sperme d'abeille montre une diminution de sa mobilité juste après l'éjaculation. Selon Lensky et Schindler (1967), La mobilité est également affecté par la température or, durant le début du mois de mai les températures étaient basses ce qui explique l'indice de mobilité de (1) enregistré durant cette période pour l'ensemble des échantillons.

Il est utile de signaler que l'eau distillée que nous avons utilisée pour la préparation des tampons (solution de Kiev) est d'un PH inconnu et ceci peut probablement influencer la mobilité spermatique. Il est connu que le sperme des faux bourdons exprime une réaction neutre à un PH de 6,8 à 7,1 **(Tirnov, 1951).**

XII. Relation concentration mobilité :

Les résultats de la concentration combinés à ceux de la mobilité sont illustré dans l'histogramme**(Figure21).**

Il ressort que, la concentration et la mobilité sont maximales pour les échantillons de la mi-mai ce qui coïncident avec la période de reproduction où les faux bourdons sont probablement mature et les températures sont optimales. Cependant, cette corrélation n'est pas observée pour certains autres échantillons où la concentration est élevée mais l'indice de mobilité est réduit et le contraire est également observé où certains échantillons montrent un indice de mobilité élevé mais une concentration plus basse. Ce qui nous amène à dire qu' une bonne concentration ne signifie pas forcément une bonne mobilité car plusieurs facteurs peuvent s'ingérer pour la mobilité.

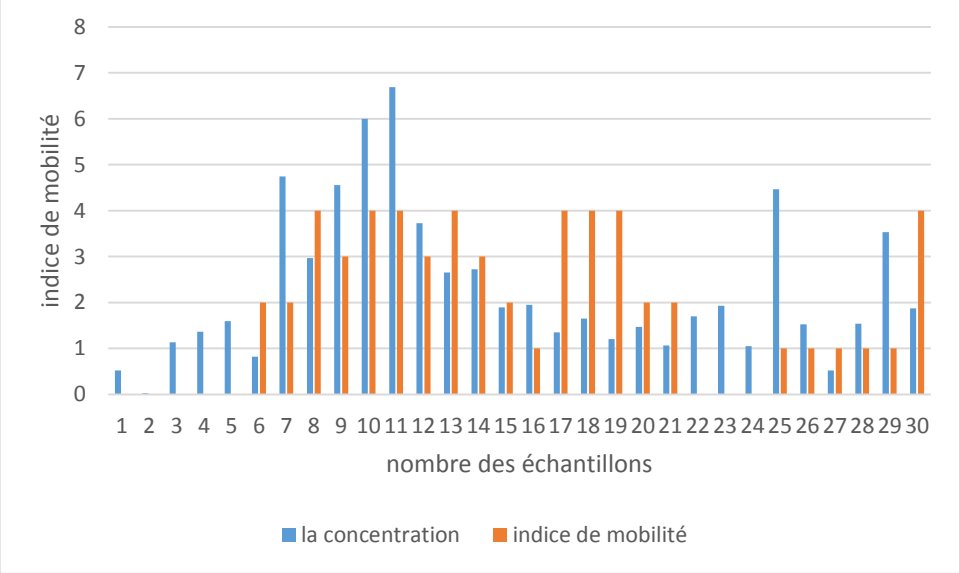


Figure 21 : Histogramme représentant la relation entre la concentration et indice de mobilité par 30 échantillons.

Conclusion

Conclusion.

L'objectif principal du présent travail était de connaitre les paramètres spermatiques de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* ainsi que la maitrise de la technique de prélèvement de la semence et l'optimisation du protocole pour un usage pratique local.

Il ressort de ce travail que la technique de prélèvement du sperme par le lavage de l'endophallus est une technique pratique et la qualité du sperme est relativement bonne du moment que les spermatozoïdes sont trouvés vivant et mobiles dans la majorité des échantillons.

Nous avons estimé le volume du sperme, sa concentration spermatique par la méthode hématimétrique ainsi que la mobilité spermatique par la méthode traditionnelle en utilisant le CASA.

Il ressort que le volume du sperme du faux bourdon local est faible est avoisine les 0,5 µl, ce qui est lié principalement à la taille de l'abeille locale.

D'après la courbe d'étalonnage tracée avec l'échantillon de référence, On peut constater que la concentration la plus élevée est enregistrée à la mi-mai avec 4,5 millions de spermatozoïdes /µl ceci est en relation directe avec les conditions climatiques les plus favorables à la reproduction durant cette période ainsi qu'à la bonne santé des abeilles.

Pour la mobilité spermatique, nous avons constaté que la concentration élevé des spermatozoïdes ne signifie pas forcément que le sperme est de qualité, il existe plusieurs facteurs qui peuvent agir sur la qualité de sperme telle que la température, le PH, le nourissement...Etc.

Au final, on peut conclure qu'il existe plusieurs facteurs qui peuvent influencer la qualité spermatique et des études approfondies doivent être menées en prenant en considération l'âge des faux bourdons, la température et une amélioration des milieux tampons.

Les references:

Abdelkader, A. M., Cooper, A. J., Dryfe, R. A. W., & Kinloch, I. A. (2015). How to get between the sheets: a review of recent works on the electrochemical exfoliation of graphene materials from bulk graphite. *Nanoscale*, *7*(16), 6944-6956.

Adam, G. (2010). La biologie de l'abeille. *COURS École d'apiculture Sud-Luxembourg*.

Adjlane, N., Dainat, B., Gauthier, L., &Dietemann, V. (2016). Atypical viral and parasitic pattern in Algerian honey bee subspecies Apis mellifera intermissa and A. m. sahariensis. *Apidologie*, *47*(5), 631-641.

Amann, R. P., &Waberski, D. (2014). Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. *Theriogenology*, *81*(1), 5-17.

Anzar M, Kroetsch T, Buhr M (2009). Comparison of Different Methods for Assessment of Sperm Concentration and Membrane Integrity with Bull Semen. J Androl [Internet]. 30:661– 668. Available from: http://doi.wiley.com/10.2164/jandrol.108.007500

B

Baer, B.(2005). Sexual selection in Apis bees. *Apidologie*, *36*(2), 187-200.

BERKANI, M. L., GHALEM, Z., & BENYOUCEF, M. T. (2005). Contribution à l'étude de l'homogénéité de la race locale «apis mellifera intermissa» dans les différentes régions du nord de l'Algérie.

Biri M. **(2002)**. Le grand livre des abeilles. Cours d'apiculture moderne. De Vecchi. Paris.

Biri, M. (2010). *Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture*. De Vecchi.

Bishop, G. H. (1920). Fertilization in the honey-bee I the male sexual organs their histological structure and physiological functioning. Journal of Experimental Zoology 31(2): 225-265.

Boes, K. E.(2010). Honeybee colony drone production and maintenance in accordance with environmental factors: an interplay of queen and worker decisions. *InsectesSociaux*, *57*(1),19.

Brodschneider, R., &Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, *41*(3), 278-294.

C

CHAHBAR, N. **(2013**). *Evaluation de la toxicité d'un produit phytopharmaceutique sur les abeilles domestiques locales (Apis mellifera intermissa et Apis mellifera sahariensis) et diversité génétique* (Doctoral dissertation).

Ciereszko, A. (2016). Motility of carp spermatozoa is associated with profound changes in the sperm proteome. *Journal of proteomics*, *138*, 124-135.

Cobey, S. W. (2007). Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance. *Apidologie*, *38*(4), 390-410.

Cobey, S. W., Tarpy, D. R., &Woyke, J. (2013). Standard methods for instrumental insemination of Apis mellifera queens. *Journal of Apicultural Research*, *52*(4), 1-18.

D

Delaney, D. A., Keller, J. J., Caren, J. R., &Tarpy, D. R. (2011). The physical, insemination, and reproductive quality of honey bee queens (Apis mellifera L.). *Apidologie*, *42*(1), 1-13.

Dietz, A. (1992). Honey bees of the world. *The hive and the honey bee*, *10*.

Duay, P., De Jong, D., & Engels, W. (2002). Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (Apis mellifera) slightly infested by Varroa destructor mites during pupal development. *Genet. Mol. Res*, *1*(3), 227-232.

F

Free, J. B. (1987). *Pheromones of social bees*. Ithaca, New York: Comstock.
Free, J. B., & Williams, I. H. (1975). Factors determining the rearing and rejection of drones by the honeybee colony. *Animal Behaviour*, *23*, 650-675.

G

Gąbka, J., &Cobey, S. W. (2018). Factors, based on common practices, affecting the results of instrumental insemination of honey bee queens. *Apidologie*, *49*(6), 773-780.
Gould James L., **Gould Carol Grant**. **(1993)** La vie des Abeilles In : Les abeilles,comportement, communication et capacites sensorielles Paris : Pour la science, diffusion Belin,.- p. 27-54.

Gries, M. and Koeniger, N. (1996). Straight forward to the queen: pursuing honeybee drones (Apis mellifera L.) adjust their body axis to the direction of the queen. *J. Comp. Physiol. A* **179**, 539-544.

H

Harano, K. I. **(2013).** Effects of juvenile hormone analog on physiological and behavioral maturation in honeybee drones. *Apidologie*, *44*(5), 586-599.

Harano, K. I., Sasaki, M., Nagao, T., & Sasaki, K. (2008). Dopamine influences locomotor activity in honeybee queens: implications for a behavioural change after mating. *Physiological Entomology*, *33*(4), 395-399.

Harbo, J. R. (1976). The effect of insemination on the egg-laying behavior of honey bees. *Annals of the Entomological Society of America*, *69*(6), 1036-1038.

Holldobler, B., and S. Bartz. 1985. Sociobiology of reproduction in ants. Progress in Zoology 31: 237-257.

Jean-Prost P et le conte Y. (2005). Apiculture Connaitre l'abeille conduire le rucher. lavoisiertec&doc Paris. Pp 698.

K

Kaftanoglu, O. et Y. S. Peng (1984). Preservation of honey bee spermatozoa in liquid nitrogen.
Journal of Apicultural Research **23**: 157-163.

Kairo, (2016). Drone exposure to the systemic insecticide Fipronil indirectly impairs queen reproductive potential. *Scientific reports*, *6*, 31904.

Koeniger, G. (1990). The role of the mating sign in honey bees, Apis mellifera L.: does it hinder or promote multiple mating?. *Animal Behaviour*, *39*(3), 444-449.

Koeniger, G., Koeniger, N., Ellis, J., &Connor, L. J.(2014). *Mating biology of honey bees (Apis mellifera)*. Wicwas Press LLC.

Koeniger, N., Koeniger, G., &Wongsiri, S. (1989). Mating and sperm transfer in Apisflorea. *Apidologie*, *20*(5), 413-418.

Koeniger, N., Koeniger, G., Gries, M. and Tingek, S. (2005). Drone competition at drone congregation areas in four *Apis* species. *Apidologie* **36**, 211–221.

L

Le Conte, Y. (2002). Mieux connaître l'abeille. *Le traité Rustica de l'apiculture*, 12-51.

Le Conte, Y., &Hefetz A. (2008). Primer pheromones in social hymenoptera. *AnnualReview of Entomology*, 53, 523–542.

Lensky, Y., & Schindler, H. (1967). Motility and reversible inactivation of honeybee spermatozoa in vivo and in vitro. *Les Annales de l'Abeille*, *10*(1), 5-16.

LOCKE, S. J., & PENG, Y. S. (1993). The effects of drone age, semen storage and contamination on semen quality in the honey bee (Apis mellifera). *Physiologicalentomology*, *18*(2), 144-148.

M

Mackensen, O., & Tucker, K. W. (1970). *Instrumental insemination of queen bees* (No. 390). [US Agricultural Research Service]; for sale by the Supt. of Docs., US Govt. Print. Off.

Mackensen, O., & Tucker, K. W. (1970). *Instrumental insemination of queen bees* (No. 390). [US Agricultural Research Service]; for sale by the Supt. of Docs., US Govt. Print. Off..

Menzel, R. (1999). Memory dynamics in the honeybee. *Journal of comparative physiology A*, *185*(4), 323-340.

Menzel, R. (2012). The honeybee as a model for understanding the basis of cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, *13*(11), 758.

Metz, B. N., &Tarpy, D. R. (2019). Reproductive senescence in drones of the honey bee (Apis mellifera). *Insects*, *10*(1), 11.

Metz, B. N., &Tarpy, D. R. (2019). Reproductive senescence in drones of the honey bee (Apis mellifera). *Insects*, *10*(1), 11.

Michener, C. D. **(2007).** The professional development of an entomologist. *Annu. Rev. Entomol.*, *52*, 1-15.

Moritz, R. F. (1984). The effect of different diluents on insemination success in the honeybee using mixed semen. *Journal of Apicultural Research*, *23*(3), 164-167.

Moritz, R. F. A. (1986). Intracolonial worker relationship and sperm competition in the honeybee (Apis mellifera L.). *Experientia*, *42*(4), 445-448.

Morse, R. A., Strang, G. E., &Nowakowski, J. (1967). Fall death rates of drone honey bees. *Journal of Economic Entomology*, *60*(5), 1198-1202.

N

Novak, A. F., Blum, M. S., Taber III, S., &Liuzzo, J. A. (1960). Separation and determination of seminal plasma and sperm amino acids of the honey bee, Apis mellifera. *Annals of the Entomological Society of America*, *53*(6), 841-843.

O

OHTANI, T. (1974). Behavior Repertoire of Adult Drone Honeybee within Observation Hives (With 9 Text-figures and 2 Tables). *JOURNAL OF THE FACULTY OF SCIENCE HOKKAIDO UNIVERSITY Series VI. ZOOLOGY*, *19*(3), 706-721.

P

Page Jr, R. E., & Peng, C. Y. S. (2001). Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, Apis mellifera L. *Experimental gerontology*, *36*(4-6), 695-711.

press.

Prost, P. J., & Le Conte, Y. (2005). Apiculture, connaitre l'abeille–conduire le rucher. *Lavoisier, Paris*, 382.

R

Rossant, A. (2011). *Le miel: un composé complexe aux propriétés surprenantes* (Doctoral dissertation).

Rossant, A., &Desmouliere, A. (2011). *Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. 132 p* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat: Pharmacie. Limoges: Université de Limoges).

Rousseau, A., Fournier, V., &Giovenazzo, P. (2015). Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) drone sperm quality in relation to age, genetic line, and time of breeding. *The Canadian Entomologist*, *147*(6), 702-711

Ruttner, F. (1956). The mating of the honeybee. *Bee World*, *37*(1), 3-15.

Ruttner, F., &Ruttner, H. **(1968)**. Untersuchungen über die Flugaktivität und das Paarungsverhalten der Drohnen. IV. ZurFernorientierung und Ortsstetigkeit der Drohnen auf ihrenPaarungsflügen. *Z. Bienenforsch*, *9*, 259-265.

S

Sylvie, C.,Abeilles, accueillir une ruche chez soi 17/06/2010 Futura-Sciences théorie.

W

Weiss, K.(1985). L'apiculteur du week end. *Editions européennes apicoles*, 12-18.

Winston, M. L. (1987). The Biology of the Honey Bee. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.

Winston, M. L. (1991). *The biology of the honey bee*. harvard university **Page Jr, R. E., &Peng, C. Y. S. (2001)**. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, Apis mellifera L. *Experimental gerontology*, *36*(4-6), 695-711.

Woyke, I. (1960). Natural and artificial insemination of queen honey bees. Pszczel. Zesz. Nauk 4, 183-275. *Polish, English summary*.

Z

Zennouche, O. (2017). Contribution à l'étude de quelques critères physiologiques de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa.* Thèse de doctorat, université de Bejaia. 111p.

Site web :

https://www.maxisciences.com/abeille/un- virus responsable de-la-mort-de-millions-d-abeilles_art25021.html.

https://www.maxisciences.com/abeille/un- virus responsable de-la-mort-de-millions-d-abeilles_art25021.html.

Le résumé :

La présente étude porte sur la connaissance des paramètres spermatiques de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* ainsi que la maitrise de la technique de prélèvement de la semence et l'optimisation du protocole pour un usage pratique local.

Ce travail a été réalisé sur 30 échantillons de sperme provenant chacun de 10 faux bourdons. Ces échantillons ont été utilisés pour la détermination du volume, de la concentration par spectrophotométrie et la mobilité classique en utilisant le système CASA.

Les résultats montrent que l'abeille locale produit une petite quantité de sperme d'une concentration élevée durant la période de reproduction et d'une mobilité très variable d'un échantillon à un autre.

Liste des mots clés :

faux bourdons, sperme,mobilité,concentration.

Abstract:

The present study is about knowledge spermatic parameters of the bee local *Apis mellifera intermissa* as well as the mastery of the semen collection technique and protocol optimization for local practical.

This work was done on 30samples of semen from each 10 drones, these samples were used for volum determination, of concentration by spectrophotometry and classical mobility as using the casa system.

The results show that the local bee produces a small quantity of semen of high concentration during the breeding season and very variable mobility from one sample to another.

Key words:

Drones, semen, mobility,concentration.