

L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE CHEZ L'ABEILLE MELLIFERE *APIS MELLIFERA* : INDICATION, MATÉRIEL ET GESTES TECHNIQUES

ARTIFICIAL INSEMINATION IN THE HONEY BEE *APIS MELLIFERA*: INDICATION, EQUIPMENT AND TECHNICAL GESTURES

Par Samuel BOUCHER¹

(Communication présentée le 25 mai 2023, manuscrit accepté le 16 juin 2023)

RÉSUMÉ

L'insémination artificielle des reines d'abeilles mellifères (*Apis mellifera*) est pratiquée de manière efficace par les sélectionneurs depuis les années 60 grâce à un matériel de précision comprenant une chambre d'anesthésie, des crochets et une seringue micrométrique. Aujourd'hui, grâce à un matériel peu encombrant, approuvé et perfectionné avec le temps, l'insémination d'*Apis mellifera* est fiable, rapide, facile d'accès et ne nécessite pas un entraînement trop long. L'opération se déroule dans des conditions d'asepsie stricte, sous une loupe binoculaire au grossissement 16. La technique consiste à maintenir ouverte la chambre de l'aiguillon de la reine préalablement anesthésiée au CO₂ et maintenue dans une chambre d'anesthésie. Ensuite on récline la valvule génitale et on injecte en partie distale environ huit millions de spermatozoïdes dans la chambre antérieure, sous la valvule. La semence entrera ensuite passivement dans la spermathèque. Une reine peut être fécondée une seule fois pour ses cinq années de vie.

Mots-Clés : Insémination artificielle, abeilles, *Apis mellifera*

ABSTRACT

The artificial insemination of honeybee queens (*Apis mellifera*) has been practiced efficiently by breeders since the 1960s thanks to precision equipment including an anaesthesia chamber, hooks and a micrometric syringe. Today, thanks to an equipment not very cumbersome, tested and perfected with time, the insemination of *Apis mellifera* is reliable, fast, easy of access without a too long training. The operation takes place under strict aseptic conditions, under a binocular magnifying glass at x16 magnification. The technique consists in keeping open the sting chamber of the queen previously anesthetized with CO₂ and maintained in an anesthesia chamber. Then the genital valve is reclined and 8 million spermatozoa are injected distally into the anterior chamber, under the valve. The semen will then passively enter the spermatheca. A queen can be fertilized only once during her five years of life.

Keywords: Artificial insemination, bees, selection, *Apis mellifera*

¹- Dr Vétérinaire, ORCID : 0009-0006-2536-4523, Labovet Conseil, BP 539, 85505 Les Herbiers cedex.
Courriel : s.boucher@labovet.fr

INTRODUCTION

Contrairement aux idées reçues, le besoin d'inséminer artificiellement les abeilles mellifères n'est pas nouveau. Réaumur en 1740 essayait déjà de maîtriser la reproduction des abeilles en faisant féconder des reines dans des flacons de verre. Mac Lain en 1887 avait déjà décrit cette pratique où il « instillait du sperme dans le vagin ouvert de la reine ». Plusieurs auteurs utilisèrent un pinceau (Huber 1814), ou une seringue (Bishop, 1920, Woyke, 1960). Mais ce sont les travaux de Watson en 1927 qui marquèrent le début de l'insémination artificielle moderne des abeilles avec l'utilisation d'une microseringue et d'un micromanipulateur (Watson, 1927). La reine était alors immobilisée « dans un bloc de bois par des fils de soie ». On ouvrait la chambre de l'aiguillon à l'aide d'une pince tenue à la main. Nolan de 1932 à 1937 puis Mackensen en 1948 sont les premiers à inventer un appareil qui est encore utilisé aujourd'hui dans le monde entier (Fresnay 1966).

En 1944, Laidlaw découvre le rôle de la valvule génitale et montre qu'il faut déposer le sperme derrière cette valvule, dans l'oviducte (Fresnay 1966). Mackensen et Roberts en 1948 modifient le matériel existant et ouvrent la chambre de l'aiguillon à l'aide de deux petits crochets alors que la valvule est abaissée à l'aide d'une sonde et la pointe de la seringue est introduite dans l'oviducte. Puis, l'appareil se modernise encore et tous les

instruments sont mus par des vis.

Mackensen observe en 1947 qu'une double dose de CO₂ contraint la reine à pondre. Cette observation permet d'une part de ramener le délai entre la fécondation artificielle après anesthésie (auparavant faite à l'éther ou non réalisée) et la ponte à 5-6 jours au lieu de 30 à 50 jours et d'autre part de préparer des reines parthénogénétiques destinées à ne pondre que des mâles de sélection.

Aujourd'hui, grâce à un matériel peu encombrant, éprouvé et perfectionné avec le temps, l'insémination d'*Apis mellifera* est fiable, rapide, facile d'accès sans un entraînement trop long. (Verjus, 1984). Le but de l'insémination artificielle des abeilles est avant tout d'aider à la sélection des souches d'intérêt. En effet, naturellement, une reine vierge s'accouple avec plusieurs mâles et il n'est pas possible de maîtriser leur choix. Pour éviter les accouplements incontrôlés, on sélectionne soigneusement les reines et les faux bourdons et on les accouple artificiellement garantissant ainsi la rencontre des gamètes élus (Dade 2017, Prost 2005).

RAPPELS ANATOMIQUES UTILES POUR L'INSÉMINATION

Le conduit génital de la reine est fermé par une valvule vaginale qu'il faut récliner pour pouvoir introduire la seringue de semence dans l'oviducte (Dade 2017, figure 1).

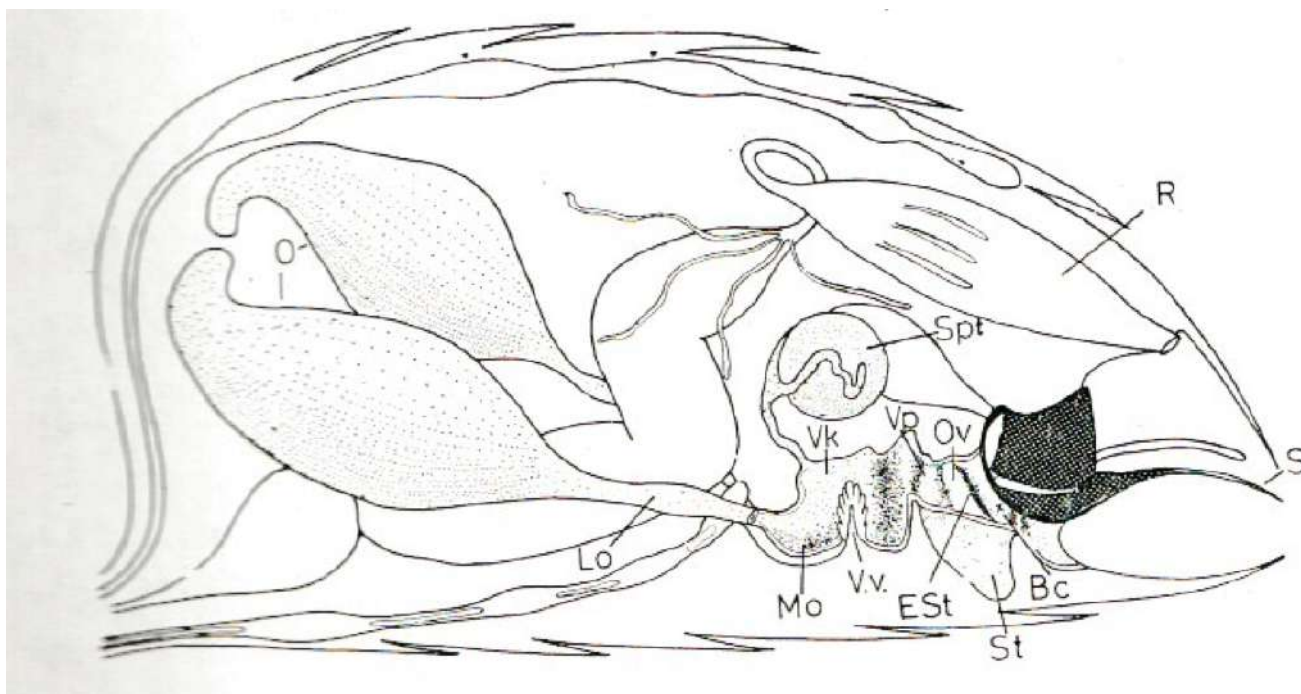


Figure 1 : Coupe longitudinale de l'abdomen d'une reine vierge

O : ovaires, Ov : orifice vaginal, R : rectum, S : aiguillon, Spt : spermathèque, Vk : chambre vaginale, Vp : passage vaginal, Vv : valvule vaginale (Ruttner & Tryasko, 1976)

La reine est fécondable artificiellement en théorie 6 à 16 jours après la date supposée de sa naissance (Gerula *et al.* 2012), généralement et de façon plus optimale vers 10 à 12 jours (Fresnay 1966, Bienkowska 2008, Cobey 2007). Parmi les reines inséminées à l'âge de 5 jours, 25 % meurent et c'est pire pour des reines inséminées encore plus jeunes. Cette pratique n'est pas à conseiller (Bienkowska 2008, Cobey 2013). En outre, les reines inséminées plus de deux semaines après leur émergence stockent moins de semence que des reines inséminées plus jeunes (Cobey 2013).

LE MATÉRIEL ET SES PARTICULARITÉS

L'appareil moderne pour l'insémination artificielle des reines a été inventé par H. Laidlaw en 1948. Il perfectionne le système de Nolan et Mackensen de 1949 à 1953 en ajoutant des vis micrométriques permettant une grande précision dans les mouvements afin de limiter les risques de blesser la reine. Enfin, V. Vesely le perfectionna en 1960 en utilisant des aiguilles à bouts cylindriques et non coniques et en rendant la seringue mobile latéralement et en hauteur, ce qui rend plus facile le passage sous la valvule vaginale. Enfin, il a créé des dispositifs de maintien de la reine de différentes tailles permettant l'insémination de souches d'abeilles différentes. H. Ruttner a quant à lui amélioré le dispositif de maintien de la reine en 1968 en le rendant moins dépendant du dispositif d'arrivée de gaz permettant ainsi un changement facile de la reine (Fresnay 1966, Vesely 1985, Vesely & Ruttner 1968). Durant les années 60, F. Ruttner publie de nombreux écrits sur ce sujet et affine encore la technique. Il propose en 1964 un montage en plexiglas qui améliore les conditions d'anesthésie et de contention des reines (Ruttner 1964, Ruttner *et al.* 1974). Actuellement, un appareil à inséminer se compose de deux parties distinctes, non solidaires, l'appareil de contention de la reine d'une part et le support de la seringue d'autre part. Une loupe facilite le travail (figure 2).

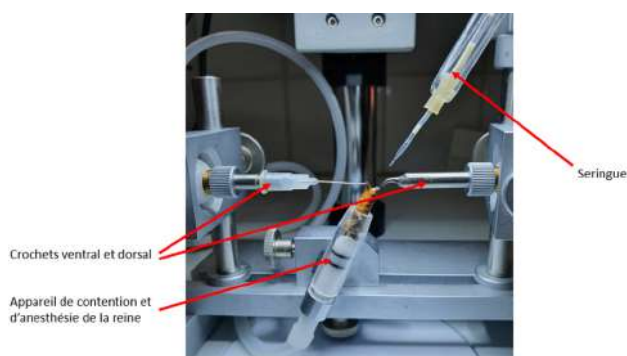


Figure 2 : Appareil de contention et seringue selon le modèle de Schley

Dispositif de contention de la reine

Le dispositif de contention de la reine qui a pour base un socle en acier, assure une bonne stabilité de l'appareil. Il est composé d'un tube introduit dans le bloc de fixation. Le tube

est généralement en plexiglas et peut avoir différents diamètres selon les souches de reines à inséminer. Un piston est relié à un tuyau d'arrivée de CO₂. Une rotule permettant l'orientation désirée relie ce socle à la chambre d'anesthésie de la reine. Cette chambre est composée d'un étau dont la fermeture est assurée par une vis micrométrique et dont les mâchoires sont garnies de mousse en plastique très souple afin de ne pas blesser la reine. Un tube débouche dans la chambre et permet l'arrivée du CO₂ qui sert d'anesthésique (Laidlaw 1949 a, b).

L'articulation des crochets, ventral et dorsal

De part et d'autre de la chambre d'anesthésie se trouvent deux supports montés sur des glissières horizontales et commandés par des vis micrométriques qui assurent le déplacement vertical du crochet ventral et du crochet dorsal qui peuvent ainsi être avancés ou reculés, montés ou descendus, avec la plus grande précision. Les crochets, en laiton ou en acier inoxydable, sont utilisés sur tous les appareils. Leur forme est imposée par les caractères morphologiques des reines. Ils peuvent être commandés à la main ou par des glissières à crémaillères. Le crochet dorsal ou crochet de l'aiguillon doit être finement usiné. Il est courbé. L'extrémité forme une spatule de 7,07 mm de diamètre suivie d'un étranglement de 0,08 mm de large. Sur les appareils modernes, ce crochet est remplacé par une pince permettant de saisir l'aiguillon. Le crochet ventral est plus simple ; il suffit qu'il ait la courbure convenable et qu'il soit aplati à son extrémité, dans le sens de la largeur, comme la spatule du crochet dorsal (Fresnay 1966, Laidlaw 1949 a, b).

La seringue

La seringue mise au point par Mackensen et modifiée par Vesely est aujourd'hui utilisée universellement sans modification ou presque. Des études continuent à être menées pour améliorer son utilisation (Bienkowska & Panasiuk 2006). Le support de la seringue permet la présentation convenable de cette dernière au-dessus de la chambre d'anesthésie de la reine, dans son prolongement. Un étau permet le blocage de la seringue ; une vis micrométrique assure une descente précise et sans heurt. La seringue est composée d'un tube en acier inoxydable, dans lequel un piston peut être introduit en le vissant et fait ainsi pression sur un opercule en caoutchouc, permettant d'aspirer ou d'injecter le sperme. La pointe de la seringue, d'une contenance d'environ 10 ml, est en plexiglas ou en verre. Transparente, elle permet de voir le sperme à l'intérieur. Des graduations indiquent parfois le volume de sperme qu'elle contient. Elle n'est pas vissée directement dans le tube métallique de la seringue mais tient par l'intermédiaire d'un manchon. Pour pouvoir utiliser les pointes qui, souvent, proviennent des États-Unis, on a conservé le pas américain. L'ouverture de 0,75 mm se rétrécit vers l'extrémité jusqu'à 0,15 à 0,17 mm. Le diamètre externe ne doit pas dépasser 0,28 mm à l'extrémité (Mackensen, 1948). Le dispositif d'aspiration ou d'injection est parfois remplacé par une pompe micrométrique permettant d'aspirer ou d'injecter le sperme avec plus de précision.

Fixation de la seringue

Lorsqu'elle n'est pas remplacée par une pompe micrométrique, la seringue est fixée dans une sorte d'étau par une vis. Elle s'enlève latéralement, ce qui réduit beaucoup les risques de détérioration de la pointe lors des manipulations. La possibilité d'enlever facilement la seringue de son support permet d'envisager différents modes d'utilisation de l'appareil. Si l'utilisateur travaille seul, il doit exécuter lui-même toutes les opérations :

- il prélève les mâles dans leur ruche puis les reines dans les ruchettes ou nuclei,
- il procède au prélèvement du sperme,
- il réalise l'insémination.

LA PRATIQUE DE L'INSÉMINATION

Comment inséminer ?

L'insémination artificielle se pratique sous une loupe binoculaire à grossissement x16.

Organisation du travail

La technique de travail varie légèrement suivant le personnel disponible. Il est difficile d'opérer seul, le prélèvement des reines vierges et des mâles implique un travail et un équipement apicoles ainsi que des déplacements nombreux entre le laboratoire et le rucher. L'insémination exige une asepsie totale ce qui est chronophage. Tout ce qui est en contact avec la semence ou la reine doit être désinfecté. Le local doit être très propre. A partir de deux personnes, le travail peut se dérouler facilement et rapidement. Un apiculteur apporte les reines et les mâles en fonction des besoins et replace les reines inséminées dans leur colonie dès que l'opération est terminée. Elles sont ainsi hors de la ruche un minimum de temps.

Préparation du matériel et stérilité

L'insémineur peut alors se consacrer uniquement aux diverses opérations de l'insémination dans les meilleures conditions de rapidité et d'asepsie. Le matériel propre peut être stérilisé comme pour le matériel de chirurgie par la chaleur humide sous pression dans un autoclave. Le matériel d'insémination résiste à des chaleurs de 120 à 134°C.

Les divers outils ou appareils qui risquent d'entrer en contact avec les parties génitales des reines, des mâles ou avec le sperme doivent être également stérilisés. On utilise généralement de l'alcool à 90° pour les pièces métalliques et un rapide nettoyage à l'alcool à 70° pour la seringue avec rinçage à l'eau distillée. L'évaporation totale de l'alcool permet de ne pas laisser de résidus dangereux pour les spermatozoïdes. On peut également employer des antibiotiques bien que ça ne soit pas aussi systématique qu'avec les dilueurs de semences pour les mammifères.

Préparation de la seringue

Au moment de l'assemblage des diverses parties de la seringue, la cavité qui sert de logement au disque de caoutchouc

est remplie d'eau distillée stérile ou de sérum physiologique contenant – ou pas - un antibiotique. On peut aussi utiliser du liquide de cryoconservation (BSS) ou un milieu de culture de cellules (MEM) comme liquide de prélèvement à la place du sérum physiologique. La seringue est ensuite fixée sur son support. Une partie du liquide est chassée à l'aide du piston, en visant celui-ci de telle façon qu'il soit possible d'amener le liquide jusqu'à l'extrémité de la pointe de la seringue, ou au contraire de le remonter jusqu'au niveau de la cavité contenant le disque de caoutchouc. Il convient de conserver une bulle d'air à l'extrémité de la pointe de la seringue avant de commencer à prélever le sperme afin que celui-ci ne se mélange pas avec le liquide.

Prélèvement des mâles

Chaque mâle adulte mature (12 à 15 jours après sa naissance) peut fournir 1 mm³ de semence contenant 7,5 à 9,4 millions de spermatozoïdes (Boucher 2022). En réalité, ces valeurs fluctuent beaucoup en fonction de l'âge et de la préparation des mâles. (Prost, 2005). La semence peut être conservée plusieurs semaines à température ambiante. Elle ne doit jamais être au contact des doigts ou des gants. Un mâle dont la maturité sexuelle est parfaite est choisi (Boucher 2022) ; on écrase sa tête puis son thorax entre le pouce et l'index pour obtenir le premier stade de l'éversion de l'endophallus. Une pression progressive de l'abdomen entre le pouce et l'index permet d'obtenir l'éversion totale du sexe et l'apparition du sperme à l'extrémité du bulbe, à la surface d'une masse de mucus. Le sperme est de couleur beige avec des reflets nacrés, tandis que le mucus est blanc et brillant. La forte contraction des muscles de l'abdomen, qu'on peut ressentir au bout des doigts par la rigidité et la résistance à l'écrasement de celui-ci, indique généralement la proximité de l'éjaculation. Les mâles impubères ne présentent pas cette contraction musculaire de l'abdomen et il est vain de tenter d'obtenir du sperme de ceux-ci. Lorsque l'éjaculation s'est produite dans de bonnes conditions le sperme est souvent bien séparé du mucus. Il est alors assez aisé de le prélever à l'aide de la seringue sous la loupe binoculaire, en aspirant lentement à l'aide du piston. On aura pris soin avant d'aspirer la semence de laisser une bulle d'air entre le sperme et le liquide de prélèvement. Il est très important qu'aucune partie de mucus ne se mélange au sperme et soit aspirée dans la seringue. Le mucus coagule rapidement après l'éjaculation et bloque le sperme dans la seringue dont le contenu est alors difficilement récupérable. La présence de mucus lors de l'insémination serait par ailleurs particulièrement néfaste à la reine, car il risquerait de bloquer les oviductes, l'entrée de la spermathèque ou du vagin et entraînerait la mort de la reine à plus ou moins brève échéance. On s'assure de l'absence de mucus dans la seringue en déplaçant le sperme déjà aspiré, à l'aide du piston, d'avant en arrière et *vice versa* ; celui-ci doit suivre le mouvement qui lui est imprimé très librement, sans aucune résistance. Il est également très important qu'aucune matière fécale n'entre dans la pointe de la seringue ou vienne en contact avec elle. De même, le sperme ou la seringue ne devront à aucun moment toucher aux poils, au corps, aux pattes, ou à quoi que ce soit qui risquerait de causer une infection, toujours mortelle pour les reines. Suivant le type d'insémination désirée, un ou plusieurs mâles seront utilisés pour une insémination. Il convient

de veiller à ce qu'aucune bulle d'air ne se forme entre le sperme des différents mâles utilisés pour une même insémination. Un tube de semence pour une insémination en mélange contient le sperme de nombreux mâles et sert pour inséminer plusieurs reines. Cependant, pendant la préparation des mâles successifs, il est important de reculer temporairement le sperme déjà présent dans la seringue et de créer ainsi une bulle d'air qui évitera le dessèchement qui serait mortel pour les spermatozoïdes. Une fois bouchés, les capillaires pleins d'eau peuvent être conservés par de la vaseline ou de la cellophane, environ trois mois à 14°C même s'il est préférable d'utiliser la semence rapidement. Comme en général les capillaires ne sont pas jetables, ils doivent être lavés après chaque utilisation avec de l'eau de javel ou de la soude pour solubiliser les protéines.

Préparation de la reine

La veille ou quelques heures avant l'insémination, la reine est endormie une première fois au CO₂ pendant cinq minutes. Le jour de l'insémination, elle est anesthésiée au dioxyde de carbone puis serrée au niveau du thorax dans l'appareil de contention de la chambre d'anesthésie, et placée sous la loupe binoculaire. Une légère admission de CO₂ maintient la reine en état d'anesthésie. Le réglage en est facilité par l'interposition, entre la bouteille à pression et l'appareil d'insémination, d'un flacon partiellement rempli d'eau dans lequel plonge le tube d'arrivée du gaz qui arrive alors sous forme de bulles et dont on règle le débit à l'aide d'un détendeur. Un second tube relie le flacon à l'appareil d'insémination. Un coup d'œil de temps à autre sur le flacon permet de surveiller le débit du gaz carbonique, qui doit être lent mais cependant suffisant pour que la reine ne se ranime pas. À la fin de l'insémination, si l'opérateur est rapide, il faudra prévoir une narcose complémentaire pour assurer cinq minutes d'endormissement en tout. Ce dernier, nécessaire pour déclencher l'oviposition par la suite, peut être très variable selon le type génétique. En cas d'oubli ou selon l'organisation de l'insémination, cette deuxième narcose peut être réalisée quelques heures après l'insémination.

Insémination

On injecte 8 à 12 µL de semence par reine (Cobey 2013). Parfois, on peut faire une seconde injection un à deux jours plus tard pour que la reine reçoive au total cinq millions de spermatozoïdes. Si on injecte moins de semence, la reine aura une carrière moins longue, les ouvrières procéderont à la supersédure pour la remplacer (Cobey 2013). Pendant que d'une main, à l'aide d'une pince fine (ou à l'aide de crochet à aiguillon), on maintient la chambre de l'aiguillon de la reine légèrement ouverte, de l'autre et par l'intermédiaire des vis micrométriques correspondantes, on introduit le crochet dorsal dans la cavité de cette chambre et par un mouvement vers la partie dorsale de l'abdomen de la reine on glisse le crochet entre les plaques chitineuses de l'aiguillon, de telle sorte que la spatule du crochet se trouve dessous et que l'étranglement du crochet se trouve entre les plaques. Le crochet et l'aiguillon

sont alors l'un près de l'autre. Lorsque la position correcte est obtenue on doit pouvoir légèrement baisser ou monter, avancer ou reculer à volonté l'abdomen de la reine à l'aide de ce crochet sans qu'il ne s'échappe de son logement. Le crochet ventral est ensuite placé de façon à écarter le dernier sternite de l'abdomen et ouvrir largement la chambre de l'aiguillon. La mise en place de ce second crochet est facile et ne pose aucun problème. Les deux crochets doivent être exactement dans le prolongement l'un de l'autre, faute de quoi l'abdomen de la reine aurait tendance à tourner et à se déplacer ce qui gênerait la suite de l'opération. Ainsi, l'orifice vaginal de la reine est exposé. Le dard est soulevé coté dorsal. Sur les appareils modernes, une pince permet sa préhension plus facilement. Dans cette position on peut voir, à peu près au centre de la chambre de l'aiguillon, le repli (ou valvule) vaginal(e) couvrant l'oviducte médian (figure 3).

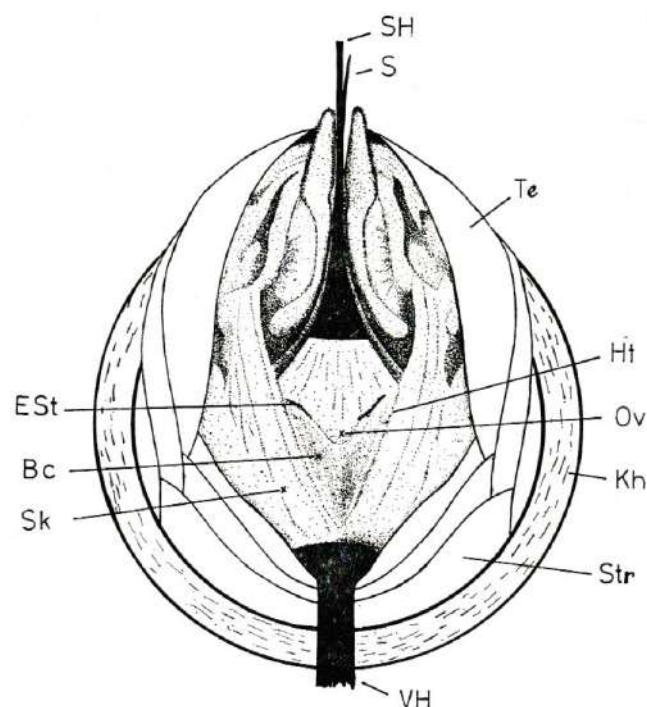


Figure 3 : Chambre de l'aiguillon d'une reine préparée pour l'insémination

Ov : orifice vaginal avec sa valvule vaginale, Kh : dispositif de contention de la reine, S : aiguillon, Sh : pince à aiguillon, VH : crochet ventral, Sk : sternite, Te : tergite, Bc : poche copulatrice, Est ; entrée de la poche copulatrice (Ruttner & Tryasko, 1976)

La seringue est alors ajustée au-dessus de la chambre de l'aiguillon et descendue dans celle-ci de façon que son extrémité se trouve au-dessus du repli vaginal qui sera contourné avec le capillaire. La seringue est légèrement remontée. À l'aide d'un coton imbibé d'eau distillée stérile, on humecte l'extrémité de la pointe ce qui facilite la mise en place. Puis on descend l'extrémité de la pointe de la seringue dans l'ouverture. On utilise l'extrémité de la seringue pour contourner la valvule. La pointe est glissée sous la valvule puis ramenée côté ventral. Pour manœuvrer autour de la valvule, il faut jouer sur l'angle de la se-

ringue et faire un léger mouvement en zigzag. Il faudra positionner l'extrémité de la seringue sur le côté dorsal au-dessus du "V" qui délimite l'orifice vaginal. On insère 0,5 à 1 mm afin d'atteindre l'oviducte médian. Le franchissement de la valvule permet le passage de la pointe dans l'oviducte médian. Le sperme est directement inséré dans l'oviducte médian (figure 4). La descente de la seringue dans la chambre vaginale de la reine doit être précise. Ce mouvement extrêmement délicat justifie l'utilisation d'une commande à crémaillère. Des mouvements de faible amplitude peuvent être nécessaires avant ou après la descente de la seringue dans la chambre vaginale. Il faut alors prendre de grandes précautions pour ne pas traumatiser la reine. La position correcte de la seringue se trouve vérifiée lorsque l'on commence à visser lentement le piston pour in-

jecter le sperme. Si la position est parfaitement correcte le sperme doit descendre facilement sans secousse, et surtout sans remonter autour de la pointe de la seringue. Si le sperme apparaît autour de la seringue il faut cesser immédiatement l'injection, la position de la seringue est alors mauvaise. Il faut alors remonter celle-ci, réajuster les crochets, puis la seringue, et écarter à nouveau le repli vaginal, parfois même déplacer la reine dans la chambre d'anesthésie. L'abdomen de la reine doit être bien droit, dans le prolongement du thorax et de la tête. Il ne doit pas être dévié dans un sens ou dans l'autre. Lorsque le sperme descend normalement, il faut injecter lentement la totalité du contenu de la seringue puis la dégager du conduit vaginal et la remonter. Les crochets peuvent alors être dégagés et éloignés de l'abdomen.

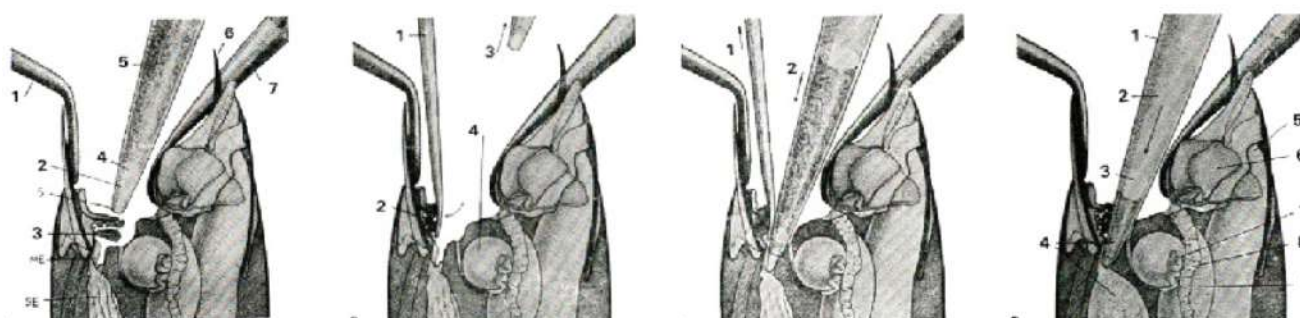


Figure 4 : Réclinaison de la valvule vaginale en vue de l'insémination et introduction de l'extrémité de la seringue en 4 étapes (Mackensen & Ruttner 1976)

La reine est ensuite retirée de la chambre d'anesthésie et placée dans un lieu tempéré en attendant son réveil. Dès qu'elle est ranimée, elle est introduite dans sa colonie d'origine, généralement un nucleus de fécondation. Une seconde insémination peut être faite 24 à 48 heures après la première, en suivant le même protocole. Une grille à reine (souvent disponible sur les portières des nuclei), est placée à la sortie des nuclei afin d'éviter des sorties intempestives des reines. Elles sont en outre marquées et clippées afin de supprimer tout risque d'envol mais surtout pour la repérer si elle perdait son marquage.

BÉNÉFICES ET RISQUES DE L'INSÉMINATION

Que peut-on attendre de l'insémination artificielle des reines ?

L'insémination artificielle est surtout utilisée en sélection et en recherche. En effet, cette technique permet de maîtriser les accouplements et d'être sûr de la paternité du faux bourdon ce qui est très compliqué en accouplement naturel sauf sur des îles suffisamment éloignées du continent et sans présence d'abeilles en temps normal ou de station de fécondation particulièrement bien isolées et gérées. On sature alors l'environnement en faux bourdons pour que la bonne probabilité que les mâles choisis soient effectivement ceux qui vont s'accoupler avec les reines vierges choisies soit élevée. Par ailleurs, elle permet de produire des reines fécondées par un seul mâle ce qui n'existe quasiment jamais dans la nature et permet une homo-

généité très grande de la colonie. Ce type de fécondation reste déconseillé en sélection et donne généralement des colonies peu viables (Kistler 2021). L'insémination permet aussi de commercialiser des reines vierges artificiellement fécondées en polyspermie pour lesquelles on garantit la fécondation par des mâles sélectionnés. En effet, même si on a pratiqué la saturation du milieu en mâles, on n'est pas certain de garantir une fécondation par les mâles de la lignée choisie pour l'accouplement. Un inséminateur expérimenté insémine six à dix reines à l'heure. Selon les auteurs (et la dextérité de l'inséminateur) on peut dire qu'il n'y a pas de différence significative entre la valeur des reines inséminées et celles qui sont naturellement fécondées mais, Fresnay, en 1966, relate le cas de reines américaines qui vivraient et pondraient moins longtemps que des reines fécondées naturellement. Cobey en 2007 a fait un intéressant inventaire des études comparant l'insémination artificielle et l'accouplement naturel. Elle mentionne une seule étude montrant que la fécondation naturelle est meilleure, six où les performances des reines sont comparables et sept où les reines inséminées artificiellement montrent de meilleures performances que les reines naturellement fécondées. En revanche, l'élevage des reines inséminées en vue de leur commercialisation nécessite de les faire cohabiter dans de petites cages avec des accompagnatrices.

Risques et principales causes d'échec

La cause la plus fréquente d'échec est la mauvaise qualité des mâles (mauvaise préparation, absence de vol, âge, carences nu-

tritionnelles, maladies comme la varroose, résidus chimiques, changement climatique) (Cobey 2016). La consanguinité permet de visualiser la survenue de phénotypes anormaux liés à l'expression de gènes mutants (couleur et forme des yeux, du corps, pilosité, forme des ailes) (Woyke 1960). La qualité des nuclei est également importante (volume d'abeilles, agressivité) et la qualité des reines (taille, poids, âge, développement des phéromones, intégrité physique (tarses)). Enfin, la température est un facteur primordial. En cas d'exposition des nuclei à des chaleurs de plus de 40°C, en cas de canicule, les taux de fertilité sont mauvais.

En outre, toute blessure ou infection des reines lors de l'insémination est préjudiciable et compromet le travail car la reine mourra ou sera tuée par les ouvrières. L'infection suivie d'une septicémie est l'une des causes majeures de mortalité des reines, lors de l'insémination artificielle et l'on ne prendra jamais trop de précautions, en ce qui concerne l'asepsie, au cours des diverses manipulations.

Insémination artificielle et bien-être des abeilles

Enfin, dans le monde où nous vivons, nous pouvons nous questionner sur l'écrasement des faux bourdons, sur le clippage

de la reine. Ces pratiques sont-elles respectueuses du bien-être animal ? Si on peut aisément éviter le clippage de la reine, on ne peut pas passer outre la destruction des mâles en vue du prélèvement de sperme. On pourrait envisager une anesthésie préalable, par exemple au CO₂. Cette technique serait à tester.

CONCLUSION

L'insémination artificielle des abeilles est utilisée par les chercheurs et les apiculteurs sélectionneurs qui veulent maîtriser les croisements et connaître aussi bien la voie mâle que la voie femelle. Ainsi, elle permet une sélection efficace, y compris sur un cheptel de taille limitée où la saturation de l'environnement en faux bourdons est difficilement atteinte. La technique est actuellement bien maîtrisée, elle est simple mais impose une rigueur dans l'asepsie, une patience pour récolter les mâles et une maîtrise des gestes qui doivent être lents et précis pour ne pas abîmer les reines. La semence se conserve plusieurs semaines à température ambiante mais le développement et l'utilisation de la cryoconservation pourrait ouvrir des voies de sélection non encore explorées à ce jour. Enfin, cette technique nécessite la maîtrise de la production des mâles ce qui fait l'objet d'autres références (Boucher 2022).

BIBLIOGRAPHIE

- Bienkowska M. & Panasiuk B. Influence of the diameter of the inseminating needle tip on the results of bee queens' fertilization, *J. Apic. Sci.* 2006; 50: 137-145
- Bienkowska M., Wegrzynowicz P., Panasiuk B., Gerula D., Loc K. Influence of the age of honey bee queens and dose of semen on condition of instrumentally inseminated queens kept in cages with 25 worker bees in bee colonies. *J. Apic. Sci.*, 2008 ; 52(2) : 23-33
- Bishop G. H. Fertilization in the honeybee. I. Disposal of the sexual fluids in the organs of the female. *J. exper. Zool.*, 1920 ; 31 (2) : 287 – 282
- Boucher S. Né presque uniquement pour reproduire : le faux bourdon. *Bulletin des GTV* 2022; N°106 Juin 2022 : 39-46
- Cobey S.W. Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance. *Apidologie* 2007; 38: 390–410
- COBEY S.W., Tarpay D.R., Woyke J. Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research* 2013; 52(4) : 1-17
- Cobey S. An Introduction to Instrumental Insemination of Honeybee Queens. *Bee World* 2016; 93(2) : 33-36
- Dade H.A. Anatomy and dissection of the honeybee. IBRA ed. Bristol et NBB Hebden bridge. 2017 : 96
- Fresnay J. L'insémination artificielle des reines d'abeilles. *Ann. Abeilles.* 1966 ; 9(3) : 251-263
- Gerula D., Panasiuk B., Wegrzynowicz P., Bienkowska M. Instrumental insemination of honey bee queens during flight activity predisposition period 2. Number of spermatozoa in spermatheca. *Journal of Apicultural Science.* 2012; 56 (1): 159 – 167
- Huber F. Nouvelles observations sur les abeilles. 2e éd. Paris : J. J. Padchoud, Libraire ; 1814 ; p362
- Kistler, T., Basso, B., Phocas, F. A simulation study of a honeybee breeding scheme accounting for polyandry, direct and maternal effects on colony performance. *Genetics Selection Evolution*, 2021; 53(1): 1-16
- Laidlaw H. H. Jr. Development of precision instruments for artificial insemination of queen bees. *J. Econom. Entomol.* 1949a ; 42 : 254 261
- Laidlaw H. H. Jr. New instruments for artificial insemination of queen bees. *Amer. Bee J.* 1949b; 89: 566 - 567
- Laidlaw H. H. Jr. Artificial insemination of the queen bee *Apis mellifera* L., *J. Morph.* 1944; 74 (3): 429-465
- Mac Lain NW. The control of reproduction. Report of experiments in apiculture. In: Report U. S. com Agric. 1887; 589 - 591
- Mackensen O. A new syringe for the artificial insemination of queen bees. *Amer. Bee J.* 1948; 88 (8): 412
- Mackensen O. & Roberts W. C. A manual for the artificial insemination of queen bees. U. S.- D. A. Bur. Entomol. and Plant Quar. ET 250. 1948
- Mackensen O. & Ruttner F. The insemination procedure. In *The instrumental insemination of the queen bee.* Apimondia. 1976 ; (5)
- Prosp JP. "insemination artificielle" In *Apiculture Tec et Doc* édition 7e éd. 2005 ; 562- 564
- Reaumur (RA Ferchaud de). Mémoire sur les abeilles. Paris. Imprimerie royale Paris 4e éd. 1948 ; 207 – 728
- Ruttner F. Zur Technik und Anwendung der künstlichen Besamung der Bienenkönigin. *Z. Bienenforsch.* 1964 ; 7 : 25-34
- Ruttner F., Schneider H., Fresnaye J.

Un appareil standard pour l'insémination artificielle des reines d'abeilles. *Apimondia* 1974; 5(4) : 357 – 369

• Ruttner F. & Tryasko V.V. Anatomy and physiology of reproduction. *In* The instrumental insemination of the queen bee. *Apimondia*. 1976; (2)

• Verjus J. L'appareil à inséminer d'aujourd'hui. *ANERCEA Bulletin de liai-*

son, décembre 1984 ; 240 – 245

• Vesely V. Travail de sélection dans l'élevage des abeilles dans la république socialiste tchèque. *In* *Info Reines* tome II (1984- 1989) 2016 ANERCEA éd. 1985 ; 145- 148

• Vesely V. & Ruttner H. Appareil pour l'insémination artificielle des reines d'abeilles. *Les annales de l'abeille*, 1968;

11(4) : 267- 282

• Watson L. R., 1927. Controlled mating of queen bees. Hamilton, ILL, Condensed in *Amer. Bee J.* 1967; (5, 6, 7) 235-236, 300- 302, 364-365

• Woyke J. Natural and artificial insemination of queen honeybees. *Pszczeln Zesz. Nauk.* 1960; 4(3-4): 183-275. *In* *Bee World* 1962; 43(1): 21-25