

Évaluation des méthodes d'expédition des reines de l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.)

Rapport final

N° de projet : PCAA-P068/CRSAD 1718-AP-320

Andrée Rousseau¹, Noémie Lampron², Émile Houle¹ et Pierre Giovenazzo²

¹Centre de recherche en sciences animales de Deschambault, Québec,
Canada

²Université Laval, département de biologie, Québec, Canada

Mars 2020



Agriculture et
Agroalimentaire Canada

Agriculture and
Agri-Food Canada



UNIVERSITÉ
LAVAL



Canadian
Honey
Council



BeeMaid



Culture
Hautes Laurentides Inc.



Table des matières

Remerciements	4
Objectifs	5
Objectif général	5
Objectifs spécifiques.....	5
Introduction	6
Objectifs 1 et 2 : Conditions de transport des reines en provenance des États-Unis et du Canada et effets des différentes techniques d'expédition sur la viabilité des spermatozoïdes de la reine.	7
Abstract	7
Objectifs 2 et 3 : Évaluation de la qualité des spermatozoïdes de la reine et du succès d'introduction en colonie selon les différentes méthodes d'expédition	9
Introduction.....	9
Effet des variations de températures mesurées durant le transport sur la qualité des reines <i>Apis mellifera</i>	10
Introduction.....	11
Matériel et Méthodes	14
Exposition des reines à des écarts de températures.....	14
Évaluation du succès d'introduction et de la qualité des reines.....	14
Résultats	17
Exposition des reines.....	17
Évaluation du succès d'introduction et de la qualité des reines.....	17
Discussion	18
Remerciements	21
Références	22
Tableaux	24
Figures	26
Objectif 4 : Évaluation des performances de la reine en colonie en fonction des méthodes d'expédition.	32
Méthodes	32
Groupes expérimentaux.....	32

Succès d'introduction et performance des colonies	33
Analyses statistiques	33
Résultats	34
Suivi d'introduction des reines et performance des colonies	34
Production de couvain.....	34
Discussion	35
Conclusion	36
Communications et publications	38
Présentations.....	38
Publications	38

Remerciements

Les fonds pour cette activité proviennent du Programme canadien d'adaptation agricole d'Agriculture et Agroalimentaire Canada et a été réalisé grâce à l'appui financier de plusieurs partenaires : le Centre de recherche en sciences animales de Deschambault, l'Université Laval, le Conseil Canadien du miel et l'Association des professionnels de l'apiculture via la bourse Canadian Bee Fund ainsi que la bourse de recherche BeeMaid. Le projet a également bénéficié du support des entreprises Api Culture Hautes Laurentides et de Pope Canyon Queens.

Les auteurs tiennent à remercier toute l'équipe administrative et la direction du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) pour leur support durant ce projet de recherche. Merci également à toute l'équipe de recherche apicole du CRSAD qui a participé à la réalisation de ce projet. Un merci particulier à Émile Houle pour son dévouement et son inventivité nécessaires à la réussite de ce projet. Merci à Noémie Lampron pour le travail effectué lors de son projet d'initiation à la recherche dans le cadre de son BSc en biologie. Merci à également à Carl Julien du CRSAD qui a participé à l'élaboration de la technique d'évaluation de la viabilité des spermatozoïdes en laboratoire pour les objectifs 2 et 3.

L'objectif 1 du projet a nécessité la participation des éleveurs de reines Anicet Desrochers d'Api Culture Hautes Laurentides au Québec et de Caroline Yelle de Pope Canyon Queens en Californie. Merci à ces deux personnes pour leur participation active et leur implication dans ce projet. Merci également à tous les apiculteurs canadiens sollicités dans ce projet.

Objectifs

Objectif général

Ce projet a été réalisé afin d'obtenir des informations concernant les conditions d'expédition des reines de l'abeille domestique au Canada et à évaluer différentes techniques d'expédition sur la qualité des reines et la performance en colonie.

Objectifs spécifiques

- 1)** Obtenir davantage d'informations sur les conditions environnementales des reines de l'abeille domestique lors du transport en provenance des États-Unis ou du Canada entre éleveurs de reines et apiculteurs;
- 2)** Évaluer l'effet de différentes techniques d'expédition de reines (types de cage, présence d'abeilles ouvrières accompagnatrices) sur les conditions environnementales internes des cages d'expédition (température) ainsi que sur la viabilité des spermatozoïdes des reines;
- 3)** Évaluation du succès d'introduction des reines selon les différentes méthodes d'expédition;
- 4)** Évaluation des performances de la reine en colonie en fonction des méthodes d'expédition.

Introduction

L'utilisation de reines de l'abeille domestique de qualité assure la productivité et la rentabilité des entreprises apicoles du Canada. En effet, la reine est la seule femelle fertile de la colonie et sa ponte permet la croissance et le renouvellement des individus de la colonie pour toute la durée de sa vie qui varie d'un an à trois ans.

Depuis quelques années, un nombre important de problèmes de reines sont observés par les apiculteurs tels que le remplacement précoce de reines, reines défaillantes ou morts inexpliqués. Selon le rapport sur la mortalité hivernale des colonies d'abeilles au Canada pour l'année 2019, huit provinces sur dix soulignent la mauvaise qualité des reines comme le principal ou le deuxième facteur de mortalité des colonies. Pour remplacer ces pertes, plus de 200 000 reines sont importées principalement des États-Unis et expédiées à travers le Canada représentant plus de 7 millions de dollars. Les éleveurs de reines produisent des reines fécondes et les expédient à travers les États-Unis et le Canada par avion ou par camion dans des paquets spéciaux. Au Canada, seule Poste Canada accepte le transport d'abeilles vivantes. Les conditions de transport auxquelles sont soumises les reines sont variables et non contrôlées pour optimiser leur survie et leur bien-être. De récentes études montrent que les reines expédiées au Canada ou aux États-Unis sont exposées à des températures atteignant les 40 degrés Celsius durant le transport, résultant en une réduction de la viabilité des spermatozoïdes de 20 à 50% (Pettis et al. 2016; Guarna et al. 2017).

Ce projet a été initié en réponse à la problématique de la qualité des reines dans un secteur où les pertes hivernales des colonies d'abeilles mettent déjà en péril la pérennité de l'apiculture.

Objectifs 1 et 2 : Conditions de transport des reines en provenance des États-Unis et du Canada et effets des différentes techniques d'expédition sur la viabilité des spermatozoïdes de la reine.

Un article scientifique rédigé par Andrée Rousseau, Émile Houle et Pierre Giovenazzo a été révisé par les pairs et publié dans la revue *Apidologie* le 19 mars 2020 :

Rousseau, A., Houle, É. & Giovenazzo, P. Effect of shipping boxes, attendant bees, and temperature on honey bee queen sperm quality (*Apis mellifera*). *Apidologie* (2020).

<https://doi.org/10.1007/s13592-020-00756-3>

Abstract

The fertility and fecundity of the queen are vital to the success of a honey bee colony (*Apis mellifera* L.). Young mated queens are shipped worldwide to meet the demand of the beekeeping industry. Since little is known about the conditions experienced by queens in transit from breeders to beekeepers and the importance of these conditions on the queens' reproductive potential, we conducted a two-part study. First, queen shipments from the USA and Canada to Canadian beekeepers were monitored to measure thermal conditions during shipment. A total of 39 shipments were followed in 2017 and 2018. Monitoring revealed variable temperatures during shipment, with occasional periods of lows (10–15 °C) and highs (30–36 °C). Second, young mated queens were placed in different shipping boxes with or without attendant bees and exposed to one of three temperatures (6 °C, 26 °C, and 40 °C) for 2 h. We then compared the thermoregulation within shipping boxes, and the viability of sperm in each queen's spermatheca. Our results show that both low and high temperatures significantly decrease sperm viability, and that the addition of loose attendant bees within shipment boxes helps maintain the temperature at 26 °C when exposed to low temperature and delays the temperature

increase when temperatures are high. The study shows the potential to improve current honey bee shipping methods in order to mitigate variable conditions experienced by bees during transportation.

Objectifs 2 et 3 : Évaluation de la qualité des spermatozoïdes de la reine et du succès d'introduction en colonie selon les différentes méthodes d'expédition

Introduction

La première année du projet (2017; objectifs 1 et 2) a permis de déterminer que l'exposition des reines à 6°C et 40°C pendant 2 heures diminue la viabilité des spermatozoïdes emmagasinés dans la spermathèque des reines de 12% par rapport à une exposition à une température de 26°C pendant 2 heures. De plus, il semble que lorsque les reines sont exposées à basse température, l'ajout d'abeilles libres dans les cages de transport améliore la thermorégulation et freine la chute de température. Cependant, aucun effet du type de traitement (type de cage ou type d'agencement des abeilles à l'intérieur des cages) n'a été détecté sur la qualité des reines.

Ces résultats indiquent que le nombre d'abeilles accompagnatrices a un effet sur la thermorégulation à l'intérieur des cages de transport de reines en contexte d'exposition à des extrêmes de température. Afin de déterminer l'influence des abeilles accompagnatrices sur la qualité des reines produites, une 2^e année de simulation d'expédition de reines.

Le manuscrit suivant a été rédigé dans le cadre des cours Initiation à la recherche 1 (BIO-3501) et II (BIO-3502) à l'Université Laval par l'étudiante au baccalauréat Noémie Lampron en collaboration avec Andrée Rousseau et Pierre Giovenazzo.

Effet des variations de températures mesurées durant le transport sur la qualité des reines *Apis mellifera*

Noémie Lampron¹, Andrée Rousseau² et Pierre Giovenazzo^{1,2}

1 Département de biologie, Université Laval, **2** Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD)

Résumé - À la suite des observations de plusieurs apiculteurs concernant une diminution de la durée de vie et de la fertilité des reines de l'abeille mellifère, nous nous sommes intéressés aux conditions thermiques de transport du producteur jusqu'à l'apiculteur. L'expédition des reines se fait sur plusieurs milliers de kilomètres dans des boîtes de transport contenant des abeilles accompagnatrices. Durant leur voyage, les reines subissent des conditions environnementales fluctuantes importantes et souvent incompatibles à leurs besoins physiologiques. Notre objectif est de quantifier l'effet d'une exposition des jeunes reines à un écart de température variant de 6 à 40 °C sur la viabilité des spermatozoïdes contenus dans leur spermathèque et sur le succès de leur introduction en colonie. L'hypothèse principale de cette étude est que les conditions de transport (température et arrangement de la cage) influencent la viabilité des spermatozoïdes de la reine et le succès d'introduction. Les résultats indiquent qu'on ne peut conclure à un impact négatif des extrêmes de température sur la viabilité des spermatozoïdes, mais qu'un plus grand nombre d'abeilles accompagnatrices améliore la thermorégulation à l'intérieur de la cage de transport. Ces résultats nous informent sur les conditions nécessaires à la conservation de la qualité des reines durant leur transport.

Reine de l'abeille mellifère / transport / qualité des spermatozoïdes / succès d'introduction

Introduction

L'abeille mellifère est un des insectes les plus importants pour l'humain en raison de leur service de pollinisation dans de nombreuses cultures d'importance en agriculture (canola, bleuet, canneberge, etc.). Cette espèce est toutefois soumise de nombreux facteurs de stress et, depuis les dernières années, plusieurs études ont été réalisées afin de comprendre les pertes importantes de colonies d'abeilles observées dans toutes les régions du monde (Neumann and Carreck 2015). Ces études ont tenté de trouver les différentes causes de ce déclin et se sont intéressées, entre autres, à l'accouplement des reines, aux maladies, aux parasites et à l'impact des pesticides (principalement les néonicotinoïdes) sur la santé des colonies d'abeilles (Delaney et al. 2011, Sandrock et al. 2014). Par contre, on remarque que peu d'études se sont intéressées aux problématiques associées aux opérations apicoles et à la gestion des colonies. Nous nous sommes concentrées plus précisément sur la gestion des reines de l'abeille domestique, vu son rôle crucial dans la survie de la colonie. La reine est la seule femelle pondreuse au sein de la colonie et elle ne s'accouple qu'une seule fois au cours de sa vie, lors d'un vol nuptial, au cours duquel elle est fertilisée par plusieurs faux-bourçons. Par la suite, elle entrepose les spermatozoïdes récoltés dans sa spermathèque, une structure située au niveau de son abdomen.

Plusieurs producteurs ont toutefois récemment remarqué une diminution de la durée de vie des reines (moins d'un an comparativement à 2-3 ans en moyenne) et une diminution de leur fécondité (p. ex., arrêt prématuré de la ponte) (Tarpy and Olivarez 2015, Pettis et al. 2016). Une cause possible de ces problèmes qui a été largement ignorée est les conditions de transport que subissent les reines entre les sites d'élevage des producteurs et les apiculteurs qui achètent les reines. Les reines destinées à la vente sont expédiées sur de longues distances en avion (p. ex., de la Californie à Montréal) ou par la poste (p. ex., en camion de Montréal à Calgary) pendant des périodes de plus de 48 heures. Les reines sont mises dans des cagettes avec quelques abeilles

nourricières, puis ces cagettes sont déposées dans une boîte de transport. Selon la méthodologie du producteur, l'arrangement de la boîte de transport peut varier. Il peut donc y avoir un nombre variable d'abeilles nourricières dans la cagette de la reine et, auparavant, certains producteurs ajoutaient des abeilles accompagnatrices libres directement à l'intérieur de la boîte. Cette pratique est cependant interdite désormais afin de faciliter les inspections entre provinces et pays.

Les conditions environnementales durant le transport, notamment la température, ne sont ni contrôlées ni adaptées en fonction des besoins physiologiques des reines (Ahn et al. 2012). Une étude de 2016 réalisée par Pettis et ses collaborateurs a soulevé que les reines expédiées au Canada ou aux États-Unis sont exposées à des températures variant de 8 à 40 °C et que la viabilité des spermatozoïdes contenus dans leur spermathèque peut diminuer d'environ 50% suite au transport. Nous avons réalisé une étude préliminaire en 2017 afin de mesurer les températures moyennes durant le transport de plusieurs reines en provenance des États-Unis et du Canada. La température minimale enregistrée a été de 12 °C, la température maximale a été de 34 °C et la température moyenne a été de 25 °C. Bien que la température optimale du couvain soit de 30-35 °C (Jones et al. 2004), la température optimale des reines durant le transport est inconnue. À partir de telles observations, ce projet de recherche vise à étudier les conditions d'envoi, soit la température et l'arrangement de la boîte de transport, afin de déterminer si ces conditions influencent la fertilité des reines. L'étude de l'influence de ces conditions sur la qualité des reines pourrait nous permettre d'optimiser les méthodes d'expédition afin de maximiser la viabilité des spermatozoïdes et de possiblement pallier la diminution de performance des reines observée depuis les dernières années. Afin d'adresser cette problématique, nos objectifs sont donc de comparer différentes méthodes de transport de reines et évaluer les effets de leur exposition à

des variations de température sur la viabilité des spermatozoïdes, puis d'évaluer le succès d'introduction des reines en colonie à la suite de l'exposition.

Dans cette étude, nous avons premièrement testé l'hypothèse que les conditions de transport des reines de l'abeille domestique influencent la viabilité des spermatozoïdes contenus dans leur spermathèque. D'une part, nous avons prédit que la viabilité des spermatozoïdes des reines non exposées et maintenues à température ambiante (24-26 °C) sera significativement supérieure à celle des reines exposées à des écarts de températures (6-40 °C). D'autre part, nous avons prédit que la viabilité des spermatozoïdes des reines exposées à des écarts de températures et accompagnées de 4 nourrices et d'accompagnatrices libres sera significativement supérieure à celle des reines exposées et accompagnées de seulement 4 nourrices. Deuxièmement, nous avons testé l'hypothèse que ces mêmes conditions influencent le succès d'introduction des reines en colonie. Nous avons alors prédit que les reines soumises à des écarts de températures auront un succès d'introduction significativement inférieur à celui des reines maintenues à température ambiante.

Matériel et Méthodes

Exposition des reines à des écarts de températures

Durant la saison apicole 2018, des reines ont été produites au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault selon la méthode Doolittle. Une fois qu'elles étaient pondeuses, 100 reines sœurs ont été récoltées dans des cagettes de plastique Jz-Bz *Propolis* une semaine avant l'exposition (Annexe 1). Cinq traitements ont été effectués (Tableau 1). Un groupe témoin (groupe 1, N=20) est demeuré dans un incubateur à 24-26 °C durant 24 heures, tandis que 4 groupes expérimentaux (groupes 2 à 5, N=20) ont été soumis à une simulation d'expédition de 24 heures dans une chambre d'incubation durant laquelle la température à l'intérieur de celle-ci oscillait. La période de 24 heures se composait d'une phase de 2 heures à 6 °C, une phase de 2 heures à 40 °C, puis une phase de 20 heures à 24-26 °C. La température «ambiante» de 24-26 °C a été sélectionnée selon la température moyenne mesurée durant le transport au cours de l'étude préliminaire de 2017. Les reines ont été placées dans des cagettes, puis mises dans des boîtes de transport (Annexe 1), accompagnées ou non d'abeilles nourricières ou accompagnatrices libres selon l'arrangement correspondant. Les boîtes de transport des groupes 2 à 5 ont été mises sur un chariot et des sondes de température (thermocouples T4 *Campbell Scientific* reliés à un CR21X Micrologger de même marque) ont permis de mesurer la température à l'intérieur des boîtes (N=50) toutes les 10 minutes.

Évaluation du succès d'introduction et de la qualité des reines

La Figure 1 démontre la distribution des reines au cours du projet à la suite de l'exposition. Pour chacun des 5 groupes, 12 reines ont été sélectionnées au hasard et disséquées afin d'évaluer la qualité des spermatozoïdes de leur spermathèque une semaine après la simulation d'expédition et 6 reines par groupe ont été introduites dans des nucléi 4 cadres, soit une ruche de petite taille servant à l'élevage des reines, afin d'évaluer le succès d'introduction. Les 2 reines de réserve n'ont pas été utilisées.

En ce qui concerne le succès d'introduction, celui-ci a été évalué deux semaines après l'introduction en déterminant, par ouverture du nucléi et par observation, si la reine avait été libérée de sa cagette et avait commencé sa ponte. Pour ce qui est de l'évaluation de la fertilité des reines, les manipulations ont eu lieu en juin 2018, une semaine après la simulation d'expédition, durant 2 jours consécutifs. Les reines ont été regroupées par demi-journée, soit 10 reines le premier jour en avant-midi, 20 en après-midi, 15 le second jour en avant-midi, puis 14 en après-midi. Ainsi, au début de chaque demi-journée, un *mastermix* (solution prête à l'emploi contenant les concentrations appropriées des deux marqueurs de fluorescence en fonction du volume de solution saline) a été préparé, en sachant que pour 10 reines, il nécessite 7,94 ml de solution saline, 2,3 µl de SYBR-14 et 57,1 µl d'iodure de propidium (LIVE/DEAD® Sperm Viability Kit). Chaque reine était anesthésiée au CO₂, puis le poids et des mesures corporelles étaient prises. Après avoir retiré la tête et le dernier segment de l'abdomen, la spermathèque était prélevée, déposée dans 700 µl de *mastermix* à l'intérieur d'un microtube, puis brisée à l'aide d'une pince. Le microtube était incubé à la noirceur durant 15 minutes à 36 °C. Une courbe standard a été créée au début de chaque demi-journée avec une première reine en effectuant une dilution 2X et 5X de la solution contenant la spermathèque (Figure 2). D'une part, un échantillon de 10 µl de la solution non diluée, répliqué 4 fois, était observé au microscope à fluorescence afin de faire un compte manuel des spermatozoïdes morts et vivants (Garner and Johnson 1995, Collins and Donoghue 1999, Pettis et al. 2016). D'autre part, cette même solution était analysée au lecteur de microplaque à fluorescence et un niveau de fluorescence était obtenu pour chaque type de spermatozoïdes (Ahn et al. 2012, Ben Abdelkader et al. 2013, Kairo et al. 2017). Les autres reines de la demi-journée étaient disséquées et leur spermathèque était prélevée puis déposée dans 700 µl de *mastermix*, sans effectuer de comptage au microscope. Deux réplicats de 200 µl de l'échantillon de chaque reine étaient déposés dans les puits de la même microplaque que la

première reine. L'absorbance des échantillons de toutes les reines d'une même demi-journée a été mesurée en une fois à 516 nm pour le SYBR-14 et à 617 nm pour l'iodure de propidium à l'aide d'un lecteur de microplaque à fluorescence *Tecan* Infinite M200 PRO.

Afin de pallier les impacts du temps entre la mise en solution des marqueurs de fluorescence et l'analyse au lecteur de microplaque, une analyse préliminaire du temps de vie de la fluorescence a été faite en passant au lecteur de microplaque une solution contenant un mélange de spermathèques et les marqueurs de fluorescence. Les mesures ont été prises rapidement après l'ajout, puis après 30 minutes, 1 heure, 3 heures et 4 heures. La Figure 3 nous montre l'évolution de la fluorescence dans le temps. On constate que la fluorescence du SYBR-14 diminue, tandis que celle de l'iodure de propidium augmente. Les niveaux de fluorescences obtenus pour chaque reine ont donc été ajustés en fonction du temps.

En ayant à la fois le niveau de fluorescence des spermatozoïdes vivants et morts de la spermathèque de la première reine et le nombre y étant associé, mesuré au microscope, une relation est faite entre les deux à l'aide d'une courbe standard (Figure 4). Les niveaux de fluorescence des spermatozoïdes des reines obtenues par la suite sont remplacés dans l'équation de la courbe afin d'obtenir le nombre de spermatozoïdes correspondant. La viabilité de chaque reine est calculée à l'aide de l'équation
$$\frac{\text{Nbre de spermatozoïdes vivants}}{\text{Nbre de spermatozoïdes vivants} + \text{Nbre de spermatozoïdes morts}}$$
 et une moyenne est calculée pour chaque groupe. Une ANOVA a été effectuée afin de comparer les viabilités moyennes des groupes 2 à 5 à celle du groupe 1, suivie d'un test de t non apparié afin de comparer les viabilités moyennes du groupe 2 et du groupe 5.

Résultats

Exposition des reines

Lors de la simulation d'expédition de 24 heures des groupes 2 à 5, la température à l'intérieur de la chambre d'incubation a varié selon les 3 différentes périodes qui ont été définies, soit 2 heures à 6 °C, 2 heures à 40 °C, puis 20 heures à 24-26 °C (Figure 5). Les 4 autres courbes, soit les températures moyennes à l'intérieur des boîtes de transport de chaque groupe, ont varié différemment les unes des autres et ont varié principalement en fonction de la température de la chambre. Le groupe 5 a maintenu une température moyenne plus élevée que les autres lorsque la température d'exposition était à 6 °C. Les résultats montrent que plus le groupe contenait d'ouvrières accompagnant la reine dans la boîte, plus le groupe a démontré un maintien d'une température élevée par rapport à la température de la chambre d'incubation.

Évaluation du succès d'introduction et de la qualité des reines

Parmi les 5 groupes expérimentaux, 28 reines sur 30 ont été libérées de leur cagette, acceptées dans la colonie et ont commencé la ponte, ce qui a entraîné un succès d'introduction de 93%. Deux reines du groupe contenant seulement 4 nourricières n'ont pas été acceptées dans leur nucléi. Selon les données de toutes les reines introduites en colonies au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault en 2018, le succès d'introduction moyen a été de 91% (211/233). Le succès d'introduction est donc légèrement supérieur au succès moyen pour la saison apicole 2018, ce qui en fait un taux normal.

Dans le but de s'assurer de l'insémination adéquate des reines, le nombre total de spermatozoïdes dans la spermathèque de chaque reine a été estimé à partir des nombres de spermatozoïdes obtenus à la suite de l'analyse au lecteur de microplaque (Tableau 2). Le nombre moyen pour chaque groupe se situait entre 5,6 et 6,6 millions et aucune différence significative n'a été trouvée entre les groupes (ANOVA, $P = 0,789$). Les viabilités moyennes de chaque groupe étaient inférieures à 80%, allant de 54 à 72% (Figure 6). Aucune différence significative n'a été

trouvée entre la viabilité des groupes exposés et celle du groupe témoin (ANOVA, $P = 0,058$). Toutefois, il y a une différence significative entre la viabilité du groupe ayant seulement 4 nourrices et celle du groupe ayant des accompagnatrices libres en plus de 4 nourrices (test de t non apparié, $P < 0,05$). La viabilité du groupe ayant le plus d'ouvrières accompagnant la reine est significativement supérieure à celle du groupe ayant le moins d'ouvrières.

Discussion

Une diminution de la qualité des reines influence grandement le rendement des entreprises apicoles. Par exemple, une baisse de la qualité reproductive des reines (fécondité, poids, diamètre de la spermathèque, etc.) diminue la survie et la croissance des colonies (Rangel et al. 2012). Pourtant, peu d'études jusqu'à maintenant se sont intéressées à la gestion et la manutention des reines *Apis mellifera*. Nous nous sommes donc penchés sur ce sujet et avons été en mesure de tester les hypothèses proposant que les conditions thermiques durant le transport des reines ont une influence, d'une part, sur la viabilité des spermatozoïdes de leur spermathèque, et d'autre part, sur le succès de leur introduction en colonie. Notre étude n'a pas été en mesure de supporter les deux hypothèses émises (Tableau 3). Cependant, la découverte intéressante de cette étude est que le groupe ayant le plus d'ouvrières accompagnant la reine, soit le groupe 5, a démontré une viabilité des spermatozoïdes moyenne supérieure par rapport à celles des autres groupes et a réussi à retarder les variations de température à l'intérieur de la boîte durant la simulation.

Le succès d'introduction n'a pas été affecté par l'exposition aux écarts de températures, notre expérience ayant démontré un taux de succès de 93% pour les 30 reines introduites parmi les 5 groupes. Il a été démontré auparavant que les reines produisent une phéromone par leur glande de Dufour, traduisant un signal de fertilité aux autres abeilles de la ruche. Ainsi, les ouvrières et les faux-bourçons peuvent reconnaître le statut de la reine (Le Conte and Hefetz 2008). Ceux-ci ne peuvent donc pas percevoir la viabilité ou le niveau de fertilité de la reine, mais seulement si

celle-ci est fertile ou non. De plus, l'aspect le plus important de l'introduction de la reine dans la ruche est l'acclimatation des abeilles de la colonie aux phéromones de la nouvelle reine. Donc, étant donné que notre seconde hypothèse n'est pas supportée, il est possible de supposer que les extrêmes de températures n'affectent pas la production des phéromones de la reine.

Aucune baisse significative de la viabilité chez les groupes exposés à des écarts de température (6-40 °C) par rapport à celle des groupes non exposés (24-26 °C) n'a été confirmée par notre étude, bien que les recherches précédentes de Pettis et al. (2016) avaient démontré le contraire. Ceci indique que l'effet des écarts de températures de notre expérience n'a pas eu d'effet sur la viabilité des spermatozoïdes de la spermathèque des reines. Toutefois, en plus de la contradiction de ce résultat par rapport à l'étude mentionnée, les viabilités moyennes obtenues pour chaque groupe (Figure 6) étaient, dans l'ensemble, basses. Ces valeurs sont considérées comme acceptables, mais basses, car habituellement, la viabilité est supérieure à 80 % (Collins 2000). Le problème ne se trouvait pas dans l'insémination des reines, puisque le nombre de spermatozoïdes s'est avéré être dans la normale, soit entre 5 et 7 millions (Woyke 1962 , Delaney et al. 2011). Nous avons identifié quelques difficultés lors de l'utilisation du lecteur de microplaque à fluorescence pour l'évaluation de la viabilité des spermatozoïdes. Premièrement, nous avons dû faire une correction pour compenser la perte de fluorescence en fonction du temps et, deuxièmement, il y a quelquefois une mauvaise répartition des spermatozoïdes dans les puits de la plaque. En effet, nous n'avons pas agité la microplaque avant chaque lecture, à l'instar d'autres études utilisant un appareil semblable (Cribb et al. 1989, Huang et al. 2002). D'autre part, il se peut que l'effet des écarts de températures sur la fécondité des reines soit visible davantage à moyen ou long terme plutôt qu'à court terme. Des aspects, tels la longévité et le taux de ponte, nécessitent un suivi des reines sur au moins une saison apicole complète afin de déterminer les impacts sur ceux-ci. De plus, la baisse de fécondité des reines observée par les apiculteurs pourrait

être due non seulement à la température, mais aussi aux variations de pressions atmosphériques qui surviennent lors des transports par avion, à l'agitation des abeilles durant le transit ou encore aux variations de température possiblement encore plus fréquentes que celles testées.

La différence significative entre les deux groupes de reines exposées à des écarts de température laisse supposer qu'un grand nombre d'abeilles accompagnant la reine permet à la boîte de transport entière d'être mieux thermorégulée. Les abeilles ont en effet la capacité de garder leur température corporelle stable ou même plus élevée que la température extérieure, ce qui a été auparavant démontré par plusieurs études (Anderson et al. 2002, Jones et al. 2004). Les ouvrières régulent la température en ventilant l'air chaud hors de la ruche en cas de température trop élevée, puis forment une grappe et génèrent de la chaleur métabolique en cas de température trop basse. Les résultats de cette présente étude montrent que lorsque la température de l'incubateur était à 6 °C, le groupe 5 a maintenu sa température la plus élevée par rapport aux autres groupes et, lorsque la température de l'incubateur a remonté à 40°C, la température dans les boîtes de ce groupe a pris environ 1 heure de plus que les autres groupes avant d'atteindre 40 °C (Figure 5). Ainsi, ce résultat nous informe que l'ajout de plusieurs abeilles nourrices ou accompagnatrices libres dans les boîtes de transport au cours de l'envoi des reines est bénéfique au maintien de la température ambiante des abeilles lors de variations importantes de la température extérieure et minimise ainsi les impacts possibles sur les reines.

La présente étude procure une preuve que les abeilles mellifères se servent de leur capacité de thermorégulation afin de pallier les écarts de températures durant le transport. Toutefois, les hypothèses proposant que les conditions thermiques durant le transport des reines, influencent la viabilité des spermatozoïdes dans leur spermathèque et leur succès d'introduction n'ont pas été supportées par notre étude. Ainsi, il se peut que la thermorégulation exercée par les ouvrières diminue ou élimine les impacts potentiels des conditions de transport affectant les reines. Lors de

futures expériences, il serait pertinent de considérer d'autres variables environnementales, par exemple la pression atmosphérique, affectant alors la pression partielle d'oxygène, et d'observer les impacts à long terme sur des éléments tels la longévité, le taux de ponte et le nombre de progénitures viables.

Remerciements

Nous remercions Api Culture Hautes-Laurentides et, du CRSAD, Michael Benoit, Martine Bernier, Émile Houle, Georges Martin et Marilène Paillard. Le financement a été fourni par le CRSAD, le Canadian Honey Council, l'Association canadienne de professionnels de l'apiculture, Api Culture Hautes-Laurentides et BeeMaid.

Références

- Ahn, K., X. Xie, J. Riddle, J. Pettis, and Z. Y. Huang. 2012. Effects of Long Distance Transportation on Honey Bee Physiology. *Psyche: A Journal of Entomology* **2012**:1-9.
- Anderson, C., G. Theraulaz, and J.-L. J. I. S. Deneubourg. 2002. Self-assemblages in insect societies. **49**:99-110.
- Ben Abdelkader, F., G. Kairo, S. Tchamitchian, M. Cousin, J. Senechal, D. Crauser, J. P. Vermandere, C. Alaux, Y. Le Conte, L. P. Belzunces, N. Barbouche, and J.-L. Brunet. 2013. Semen quality of honey bee drones maintained from emergence to sexual maturity under laboratory, semi-field and field conditions. *Apidologie* **45**:215-223.
- Collins, A. M. 2000. Survival of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Spermatozoa Stored at Above-Freezing Temperatures. *Apiculture and Social Insects* **93**:568-571.
- Collins, A. M., and A. M. Donoghue. 1999. Viability assessment of honey bee, *Apis mellifera*, sperm using dual fluorescent staining. *Theriogenology* **51**:1513-1523.
- Cribb, A. E., J. S. Leeder, and S. P. Spielberg. 1989. Use of a Microplate Reader in an Assay of Glutathione Reductase Using 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic Acid). *Analytical Biochemistry* **183**:195-196.
- Delaney, D. A., J. J. Keller, J. R. Caren, and D. R. Tarpy. 2011. The physical, insemination, and reproductive quality of honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* **42**:1-13.
- Garner, D. L., and L. A. Johnson. 1995. Viability Assessment of Mammalian Sperm Using SYBR-14 and Propidium Iodide. *Biology of Reproduction* **53**:276-284.
- Huang, D., B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J. A. Flanagan, and R. L. Prior. 2002. High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**:4437-4444.
- Jones, J. C., M. R. Myerscough, S. Graham, and B. P. Oldroyd. 2004. Honey Bee Nest Thermoregulation: Diversity Promotes Stability. *Science* **305**:402-404.
- Kairo, G., Y. Poquet, H. Haji, S. Tchamitchian, M. Cousin, M. Bonnet, M. Pelissier, A. Kretzschmar, L. P. Belzunces, and J. L. Brunet. 2017. Assessment of the toxic effect of pesticides on honey bee drone fertility using laboratory and semifield approaches: A case study of fipronil. *Environ Toxicol Chem* **36**:2345-2351.
- Le Conte, Y., and A. Hefetz. 2008. Primer pheromones in social hymenoptera. *Annu Rev Entomol* **53**:523-542.
- Neumann, P., and N. L. Carreck. 2015. Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research* **49**:1-6.
- Pettis, J. S., N. Rice, K. Joselow, D. vanEngelsdorp, and V. Chaimanee. 2016. Colony Failure Linked to Low Sperm Viability in Honey Bee (*Apis mellifera*) Queens and an Exploration of Potential Causative Factors. *PLoS One* **11**:e0147220.
- Rangel, J., J. J. Keller, and D. R. Tarpy. 2012. The effects of honey bee (*Apis mellifera* L.) queen reproductive potential on colony growth. *Insectes Sociaux* **60**:65-73.

- Sandrock, C., M. Tanadini, L. G. Tanadini, A. Fauser-Misslin, S. G. Potts, and P. Neumann. 2014. Impact of chronic neonicotinoid exposure on honeybee colony performance and queen supersedure. *PLoS One* **9**:e103592.
- Tarpy, D. R., and R. Olivarez. 2015. Measuring sperm viability over time in honey bee queens to determine patterns in stored-sperm and queen longevity. *Journal of Apicultural Research* **53**:493-495.
- Woyke, J. 1962 Natural and artificial insemination of queen honeybees. *Bee World* **42**:21–25.

Tableaux

Tableau 1. Description des 5 groupes expérimentaux. Chaque groupe contenait 20 reines. Deux reines (2 cagettes) ont été placées dans chaque boîte de transport avec 18 cagettes (sans reines) pour mimer un envoi de 20 reines.

Groupe No.	Nom du groupe	Exposition	Nombre de boîtes de transport	Nombre de cagettes/boîte de transport (1 reine par cagette)	Nombre d'abeilles nourricières dans chaque cagette	Abeilles accompagnatrices libres dans la boîte de transport
1	TÉM	Non	10	2	4	Non
2	4	Oui	10	2	4	Non
3	8	Oui	10	2	8	Non
4	ACC	Oui	10	2	0	300 abeilles
5	4-ACC	Oui	10	2	4	300 abeilles

Tableau 2. Nombre de spermatozoïdes (moyenne $\pm$ écart-type) contenus dans une spermathèque de reine pour chaque groupe (intervalle 2.5-11.68 millions). Les comptes ont été déduits à partir de la somme des spermatozoïdes morts et vivants dans 200 μ l et ont été ajustés pour 700 μ L.

Groupe	Nombre de spermatozoïdes contenus dans une spermathèque (moyenne $\pm$ écart-type)
TÉM	6 396 074 $\pm$ 440 416
4	6 256 484 $\pm$ 698 991
8	6 511 887 $\pm$ 587 082
ACC	5 606 448 $\pm$ 494 153
4-ACC	5 918 097 $\pm$ 529 184

Tableau 3. Résumé des résultats

Hypothèse	Prédiction	Preuve
1. Les conditions de transport des reines de l'abeille domestique influencent la viabilité des spermatozoïdes contenus dans leur spermathèque	(i) La viabilité des spermatozoïdes de la spermathèque des reines soumises à des écarts de températures variant de 6 à 40 °C sera significativement inférieure à celle des reines maintenues à température ambiante (25-26 °C)	Non
	(ii) Parmi les reines soumises à des écarts de températures variant de 6 à 40 °C, la viabilité des spermatozoïdes de la spermathèque des reines accompagnées de 4 abeilles nourricières et d'abeilles accompagnatrices sera significativement supérieure à celle des reines accompagnées de 4 abeilles nourricières seulement	Oui
2. Les conditions de transport des reines de l'abeille domestique influencent leur succès d'introduction en colonie	Les reines soumises à des écarts de températures variant de 6 à 40°C auront un succès d'introduction en colonie significativement différent de celui des reines maintenues à température ambiante (25-26 °C)	Non

Figures

Figure 1. Organigramme de l'utilisation des reines au cours du projet suite à l'exposition. Le processus est le même pour chacun des 5 groupes de 20 reines.

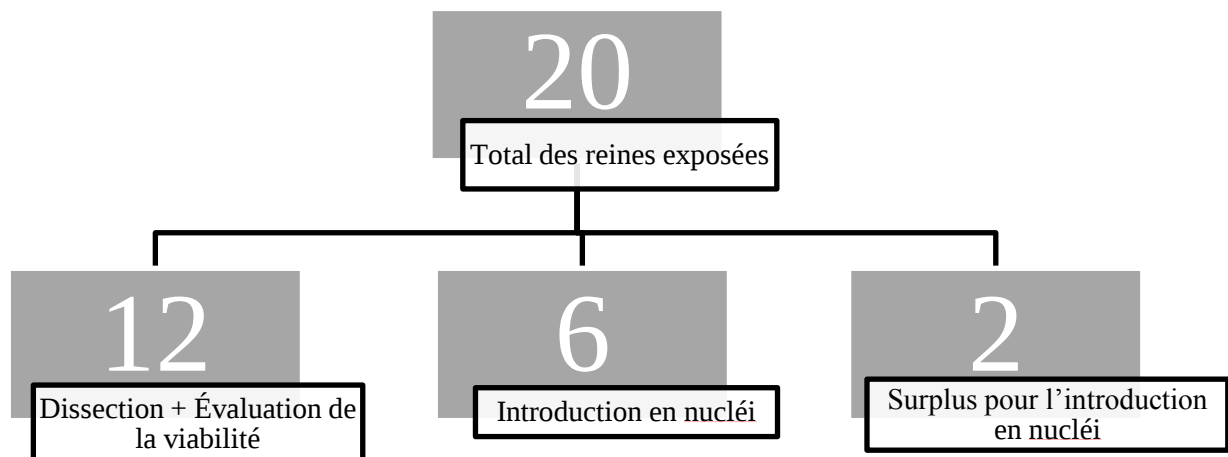
Figure 2. Schéma de la dilution en série de la solution de 700 µl contenant les spermatozoïdes de la première reine disséquée et les marqueurs de fluorescence. Les 7 autres microtubes contiennent initialement un volume défini (V_i) de solution saline sans marqueur de fluorescence. Le volume final (V_f) est le volume de solution dans le microtube suite à la dilution en série. Le microtube «Blank» ne contient que de la solution saline. 2 réplicats de 200 µl de ces 8 échantillons sont déposés à l'aide d'une micropipette dans les puits d'une microplaque.

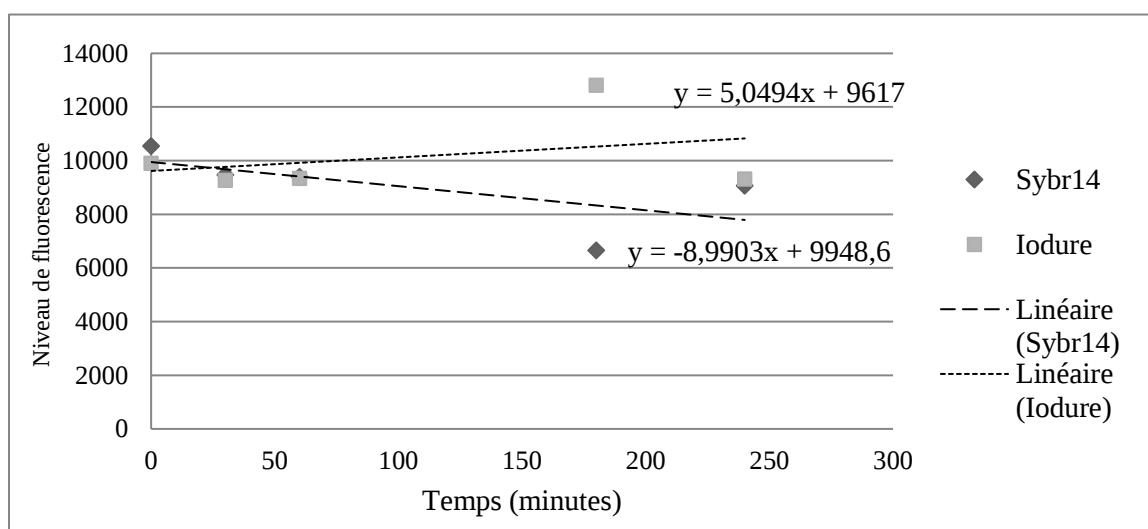
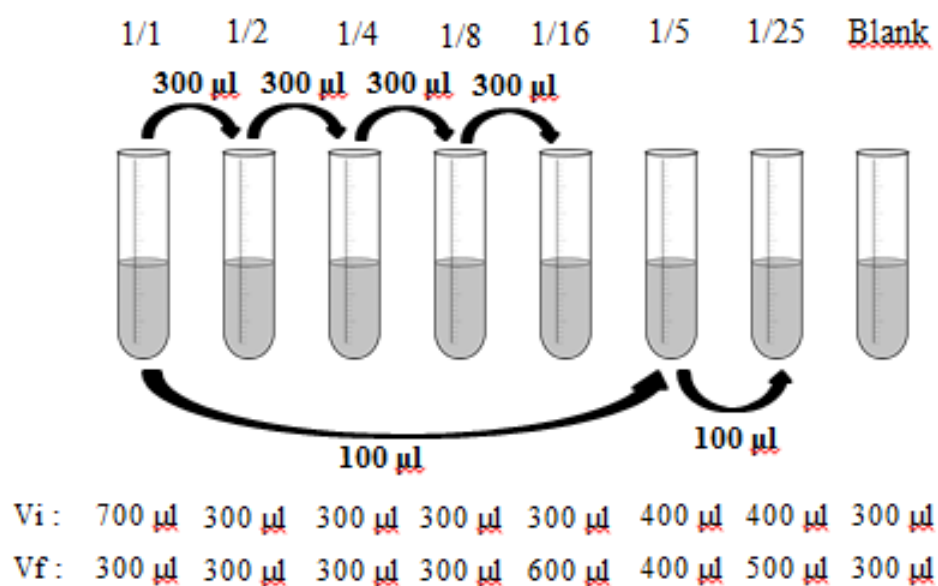
Figure 3. Niveau de fluorescence en fonction du temps (minutes) des marqueurs de fluorescence SYBR-14 et iodure de propidium. À côté de chaque courbe se trouve l'équation correspondante. En remplaçant le temps écoulé entre la mise en solution et l'analyse pour chaque reine, on obtient la valeur du facteur de correction à additionner au niveau de fluorescence précédemment obtenu.

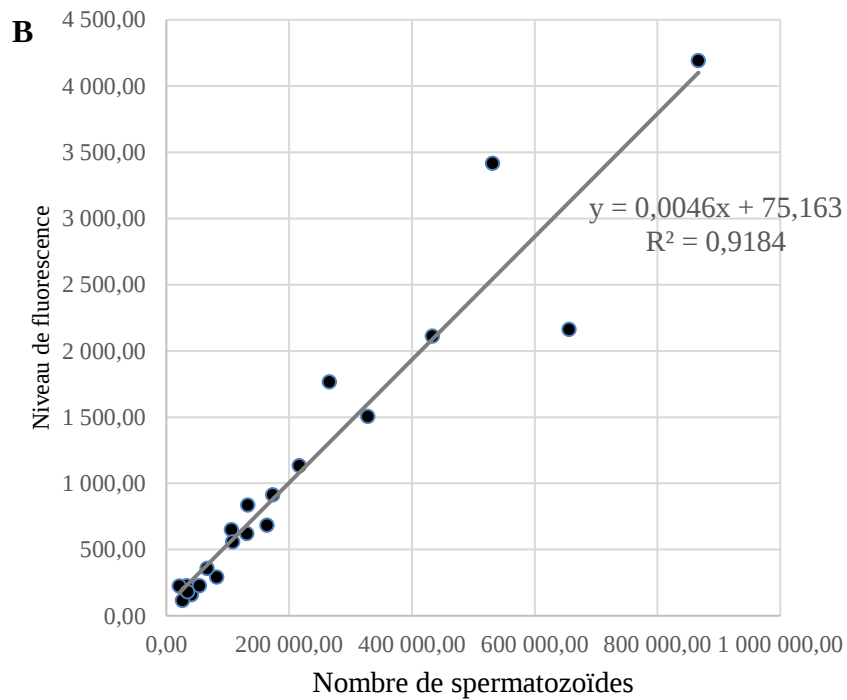
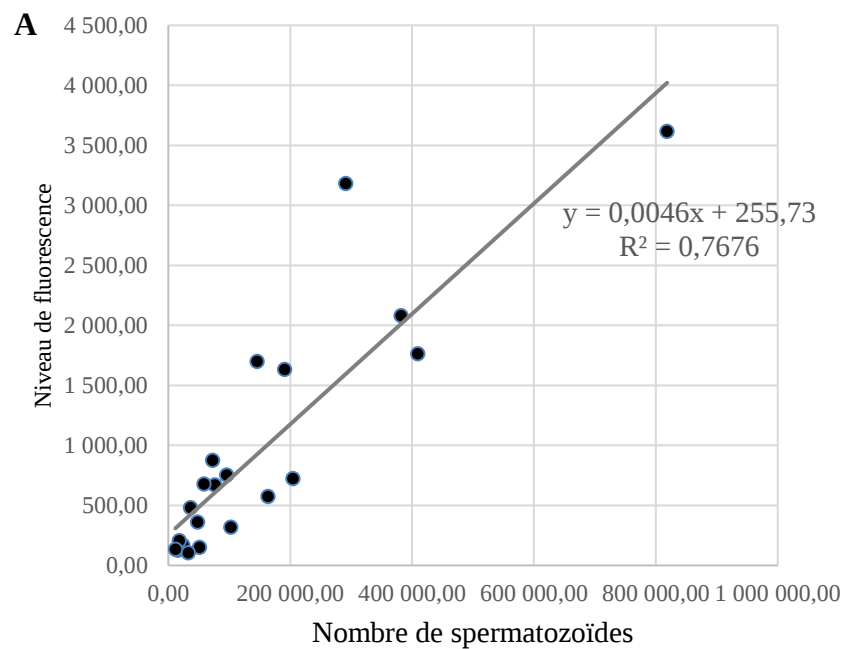
Figure 4. Courbe standard moyenne du niveau de fluorescence en fonction du nombre de spermatozoïdes morts (A) et vivants (B) calculée sur 3 demi-journées (courbe d'un des après-midis rejetée). Les nombres de spermatozoïdes des reines de toutes les demi-journées sont calculés avec les équations de ces courbes moyennes.

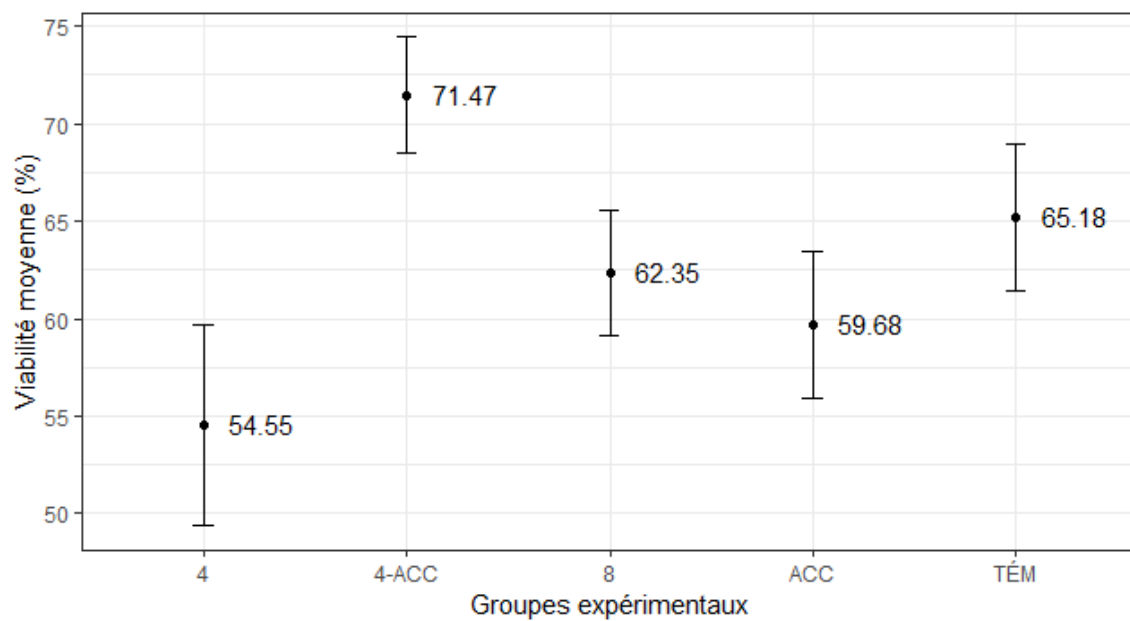
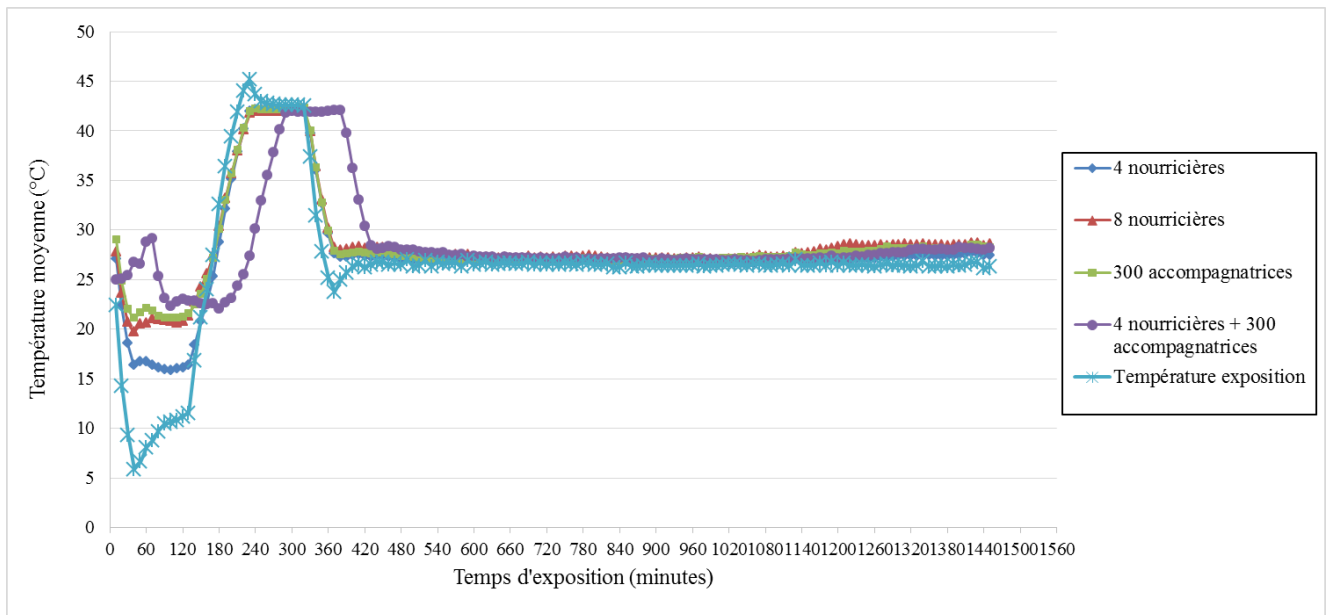
Figure 5. Évolution de la température dans la chambre d'incubation et dans les boîtes de transport de chaque groupe au cours de l'exposition de 24 heures. Les températures ont été mesurées avec des thermocouples T4 reliés à un *Campbell Scientific* CR21X Micrologger à chaque 10 minutes.

Figure 6. Viabilité (moyenne $\pm$ écart-type) de chaque groupe. $N = 10$ reines dans le groupe 4-ACC et $N = 12$ reines dans les autres groupes. Dans le groupe 4-ACC, une reine est morte congelée avant la dissection et le résultat d'une seconde reine a été déterminé comme étant aberrant (extérieur de l'intervalle de confiance).









Annexes

Annexe 1. Photos d'une cagette de plastique Jz-Bz et de boîtes de transport utilisées au cours du projet.



(Source : Noémie Lampron)



Objectif 4 : Évaluation des performances de la reine en colonie en fonction des méthodes d'expédition.

Méthodes

Groupes expérimentaux

En 2018, les mêmes reines utilisées pour les objectifs 2 et 3 ont également été utilisées afin d'évaluer l'impact de la méthode de transport sur les performances des reines en colonie. Les différentes méthodes d'expédition sont décrites au tableau 1. Un groupe témoin (groupe 1, N=20) est demeuré dans un incubateur à 24-26 °C durant 24 heures, tandis que 4 groupes expérimentaux (groupes 2 à 5, N=20) ont été soumis à une simulation d'expédition de 24 heures dans une chambre d'incubation durant laquelle la température à l'intérieur de celle-ci variait. La période de 24 heures se composait d'une phase de 2 heures à 6 °C, une phase de 2 heures à 40 °C, puis une phase de 20 heures à 24-26 °C.

Afin d'évaluer si l'exposition à des extrêmes de température a un impact sur la performance des reines en colonies, 30 nucléï ont été produits avec les reines exposées. Ces reines furent soumises à une simulation de stress thermique dans différentes méthodes d'expédition. Le lendemain de l'exposition, six reines par groupes ont été introduites dans des nucléï 4 cadres (3 cadres de couvain et un cadre de miel/pollen avec les abeilles adhérentes).

Tableau 1. Description des 5 groupes expérimentaux. Chaque groupe contenait 20 reines. Deux reines (2 cagettes) ont été placées dans chaque boîte de transport avec 18 cagettes (sans reines) pour mimer un envoi de 20 reines

Groupe No.	Nom du groupe*	Exposition	Nombre de boîtes de transport	Nombre de cagettes/boîte de transport (1 reine par cagette)	Nombre d'abeilles nourricières dans chaque cagette	Abeilles accompagnatrices libres dans la boîte de transport
1	Témoin	Non	10	2	4	Non
2	4	Oui	10	2	4	Non
3	8	Oui	10	2	8	Non
4	ACC	Oui	10	2	0	300 abeilles
5	4-ACC	Oui	10	2	4	300abeilles

*Signification des groupes : **témoin** = groupe exposé à la température ambiante sans extrême de température, les reines sont en cagettes avec 4 abeilles accompagnatrices; **4** = reine et 4 abeilles accompagnatrices dans la cagette; **8** = reine et 8 abeilles accompagnatrices dans la cagette; **ACC** = accompagnatrices libres dans la boîte de transport; **4-ACC** : 4 abeilles accompagnatrices avec la reine en cagette et abeilles accompagnatrices libres dans la boîte de transport

Succès d'introduction et performance des colonies

Le succès d'introduction des reines a été évalué après 2 semaines dans les nouvelles colonies. Par la suite, les paramètres de productivité des colonies ont été évalués une fois la reine établie (6 semaines après l'introduction) : la production de couvain, le poids, la survie à l'hiver, le nombre de cadres d'abeilles avant et après hivernement ainsi que la force des colonies au printemps.

Analyses statistiques

Dans le logiciel R, le modèle mixte a été utilisé (package nlme, fonction lme) avec le groupe expérimental comme effet fixe et le rucher et la colonie en effet aléatoire afin de déterminer l'impact du groupe expérimental sur la performance des nucléi.

Résultats

Suivi d'introduction des reines et performance des colonies

Deux semaines après la production des nucléi, toutes les reines avaient été libérées et étaient pondueuses. L'exposition aux extrêmes de température ainsi que la méthode d'expédition n'ont pas eu d'effet sur le succès d'introduction. Il y a eu 3 changements de reines (supersédure) durant la saison apicole 2018, 2 reines du groupe 2 (avec 4 abeilles accompagnatrices) et une reine du groupe 3 (avec 8 abeilles accompagnatrices).

Production de couvain

L'évaluation du nombre de cellules de couvain dans chaque colonie en juillet montre que les reines du groupe 1 (témoin) ont produit significativement plus de couvain que les reines 3 des quatre autres groupes exposés aux extrêmes de température ($F_{(4,22)} = 3.97, p = 0.01$; Figure 1). Les colonies du groupe témoin possèdent significativement plus de cellules de couvain ($23\,620 \pm 1\,538$) que les colonies du groupe de reines exposées aux 24 heures avec extrêmes de température accompagnées de 4 ouvrières ($18\,593 \pm 670$), de 8 ouvrières ($18\,332 \pm 1\,669$) ou du groupe avec 300 abeilles accompagnatrices ($21\,083 \pm 709$). Seul le groupe de reines 4-ACC avec 4 abeilles accompagnatrices dans les cagettes en plus de 300 accompagnatrices libres montre une quantité de couvain non significativement différente du groupe témoin ($22\,485 \pm 1\,052$). Par contre, la même évaluation réalisée en août ne montre aucune différence entre les groupes sur la quantité de couvain produite dans chaque colonie ($F_{(4,22)} = 0.32, p = 0.86$; Figure 2). Au mois d'août, l'évaluation des cellules de couvain ne montre plus de différence entre les groupes et en moyenne les colonies ont $26\,214 (\pm 1\,068)$ cellules de couvain.

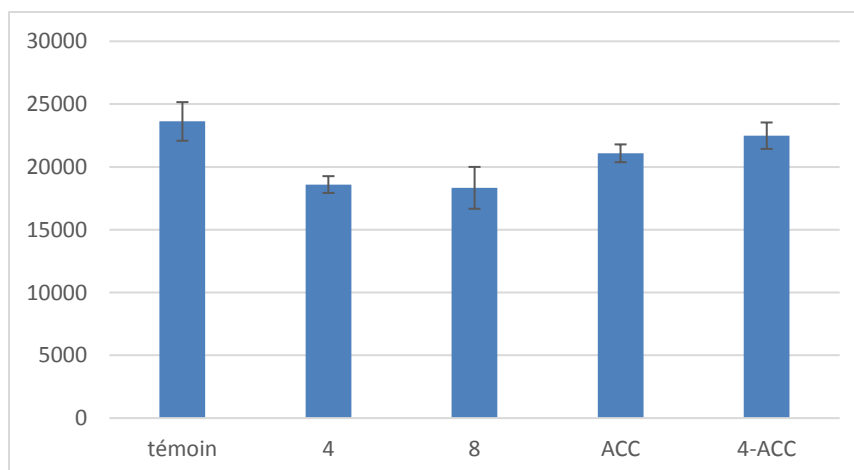


Figure 1. Nombre de cellules de couvain moyenne au 20 juillet 2018 en fonction des groupes expérimentaux ($\pm$ erreur type).

Aucune différence significative n'a été détectée au niveau du poids des colonies en juillet ($F_{(4,22)}=0.723$, $p=0.5855$) en août ($F_{(4,22)}=0.9628$, $p=0.4475$) ou en septembre ($F_{(4,22)}=1.4224$, $p=0.2597$). Les colonies pesaient en moyenne 37,4 kg ($\pm 1,1$) en juillet, 41,4 ($\pm 1,1$) en août et 44,2 kg en septembre ($\pm 0,9$). Il n'y avait également aucune différence au niveau de la force des colonies avant l'entrée en caveau d'hivernage en novembre ($F_{(4,22)}=1.1537$, $p=0.3579$; moyenne 7,5 cadres d'abeilles).

Discussion

Le but de cette partie du projet était de déterminer s'il existe des différences de performance entre les reines à la suite d'une exposition à des extrêmes de température. Les résultats n'ont montré aucun effet d'une simulation d'exposition des reines à 24 heures de transport avec extrêmes de température sur le succès d'introduction des reines. Par la suite, l'évaluation de la quantité de couvain présente en juillet montre que les colonies témoins dont les reines non exposées aux extrêmes de température ont significativement plus de couvain par rapport aux reines exposées aux extrêmes de température avec seulement 4 abeilles accompagnatrices. Cette différence disparaît au mois d'août et les colonies ne présentent pas de différence de poids ou de nombre de cadres d'abeilles avant l'entrée en hivernage.

Conclusion

Ce projet sur les méthodes d'expédition des reines de l'abeille domestique a permis de répondre à plusieurs interrogations concernant les conditions de transport des reines et les effets sur leur fécondité et leur performance en colonie :

Objectif 1 : Obtenir davantage d'informations sur les conditions environnementales des reines de l'abeille domestique lors du transport en provenance des États-Unis ou du Canada entre éleveurs de reines et apiculteurs.

Le suivi de 39 envois postaux de reines de la Californie et du Québec en 2017 et 2018 a permis de déterminer que les reines sont exposées à des conditions de transport variables (température et humidité relative). À l'intérieur des boîtes de transport, des températures de moins de 15 °C ont été enregistrées durant les mois de mai et juin dans 4 envois de reines contenant de 3 à 17 reines. Les boîtes contenant de 25 à 840 reines ont été exposées à des températures variant entre 16 et 35°C.

Objectif 2 : Évaluer l'effet de différentes techniques d'expédition de reines (types de cage, présence d'abeilles ouvrières accompagnatrices) sur les conditions environnementales internes des cages d'expédition (température) ainsi que sur la viabilité des spermatozoïdes des reines.

Dans cet objectif, l'effet de la méthode de transport a été évaluée pendant l'exposition de reines à 6, 26 et 40 °C sur la température interne des boîtes de transport et sur la viabilité des spermatozoïdes de la reine. Les boîtes de transport de plastique Jz-Bz® ont été comparées à des boîtes de carton Riteway® et l'ajout d'ouvrières libres dans les boîtes a été comparé au transport standard des reines avec seulement des abeilles accompagnatrices dans les cagettes de reines individuelles. Les résultats montrent que l'ajout d'abeilles accompagnatrices libres dans les boîtes de transport améliore la thermorégulation par les abeilles lorsqu'elles sont exposées à 6°C et permet de maintenir la température au-dessus de 25 °C. De plus cette étude confirme les effets négatifs des températures extrêmes de 6 et 40 °C sur la viabilité des spermatozoïdes. Dans ces conditions, on observe la mort de 12-14% des spermatozoïdes dans la spermathèque de la reine.

Objectif 3 : Évaluation du succès d'introduction des reines selon les différentes méthodes d'expédition.

Dans cet essai, des reines ont été exposées à une simulation de transport de 24 heures avec des fluctuations de la température de 2 heures de température basse à 6 °C et deux heures de température élevée à 40 °C. Quatre-vingts reines ont été distribuées dans 4 groupes expérimentaux : **1)** reines en cagettes avec 4 abeilles accompagnatrices, **2)** reines en cagettes avec 8 abeilles accompagnatrices, **3)** reines seules en cagette avec 300 abeilles libres dans la boîte de transport, **4)** reines en cagettes avec 4 abeilles accompagnatrices et 300 abeilles libres dans la boîte de transport. Un groupe de 20 reines témoins ont été laissées à température pièce durant 24 heures. Six reines par groupe ont par la suite été introduites en colonies et une semaine après, le succès d'introduction a été vérifié. Aucun effet de la méthode d'expédition ni de l'exposition aux extrêmes de température n'a été détecté. Toutes ces reines ont été acceptées et pondaient normalement après une semaine.

Objectif 4 : Évaluation des performances de la reine en colonie en fonction des méthodes d'expédition.

Le but était de déterminer s'il existe des différences de performance de la reine en colonie en fonction de méthodes d'expédition lorsque les reines sont exposées à des extrêmes de température. Les colonies utilisées pour l'objectif 3 ont donc été suivies sur une saison de production apicole afin de mesurer la production de couvain, le poids et le nombre de cadres d'abeilles avant l'hivernement. L'évaluation de la quantité de couvain en juillet montre que les colonies témoins ont significativement plus de couvain par rapport aux reines exposées aux extrêmes de température avec seulement 4 abeilles accompagnatrices. Cette différence disparaît au mois d'août. Les colonies ne présentent pas de différence de poids ou de nombre de cadres d'abeilles avant l'entrée en hivernage.

Communications et publications

Présentations

- « Applied research in Queen breeding » Ontario Beekeeping Association, Burlington, Ontario, Novembre 2019, Andrée Rousseau.
- « Effet des variations de températures mesurées durant le transport sur la qualité des reines *Apis mellifera* » Présentation dans le cadre du cours Initiation à la recherche BIO-3502, Université Laval, Québec, avril 2019, Noémie Lampron.
- « Deleterious effects of shipping honey bee queens » Coloss Bee Breeding Workshop, Tel-Aviv Israël Janvier 2019, Andrée Rousseau.
- « Evaluation of Honeybee Queen Shipping Methods » CAPA / Ontario Beekeeping Association, Ontario, October 2018, Pierre Giovenazzo.
- « Évaluation des méthodes d'expédition des reines de l'abeille domestique » Journée d'information Fédération des apiculteurs du Québec, Novembre 2017, Andrée Rousseau.
- « Evaluation of Honeybee Queen Shipping Methods », CAPA/CHC Research Symposium Kelowna, British Columbia, October 2017, Andrée Rousseau.
- « Recherche appliquée en élevage de reines », rencontre des responsables apicoles du Mapaq, Deschambault, décembre 2018, Andrée Rousseau.

Publications

Rousseau, A., Houle, É. & Giovenazzo, P. Effect of shipping boxes, attendant bees, and temperature on honey bee queen sperm quality (*Apis mellifera*). *Apidologie* (2020). <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00756-3>

Rousseau, A. and P. Giovenazzo (2018). Improving Honeybee Queen Shipping Methods. *HiveLights*, 31(1): 19-21.