

## **Rapport final**

IA215459

# **Maintien de la diversité génétique de l'abeille domestique (*Apis mellifera*)**

Responsable scientifique : Pierre Giovenazzo Ph.D.

Établissement : Centre de recherche en sciences animales de Deschambault

6 juin 2017

**Section 1 - Chercheurs impliqués et responsable autorisé de l'établissement** (ces personnes doivent également faire parvenir un courriel pour attester qu'ils ont lu et approuvent le rapport.)

**Collaboration scientifique**

Janice L. Bailey, Ph. D.  
Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation  
Pavillon Paul-Comtois, Local 1104  
2425, rue de l'Agriculture,  
Université Laval  
Québec (Québec) G1V 0A6  
Tél. : (418) 656-2131, poste 3354

**Responsable autorisé de l'établissement**

Pierre Baril, agr.  
*Directeur général | General manager*  
*Centre de recherche en sciences animales*  
120-A, chemin du Roy  
Deschambault (Québec)  
G0A 1S0  
Tél. : (418) 286-3353 poste 225  
Cellulaire : 418-569-0060  
Site Web : [www.crsad.qc.ca](http://www.crsad.qc.ca)

**Section 2 - Partenaires**

*Centre de recherche en sciences animales*  
120-A, chemin du Roy  
Deschambault (Québec)  
G0A 1S0

Université Laval  
Québec (Québec)  
G1V 0A6



### Section 3 – Fiche de transfert (max 2 à 3 pages)

## LE MAINTIEN DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE DES MÉTHODES DE CONSERVATION DU SPERME

Marilène Paillard, Andrée Rousseau, Pierre Giovenazzo et Janice Bailey

No de projet : IA215459

Durée : 05/2015 – 05/2017

### FAITS SAILLANTS

La cryoconservation est un outil important pour sauvegarder la diversité génétique des abeilles domestiques qui subissent des taux de mortalité élevés ainsi qu'une forte pression de la sélection des centres d'élevage.

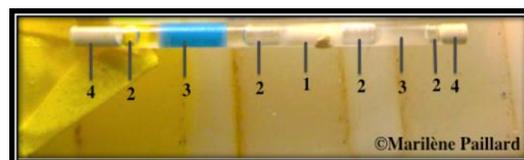
Nous avons comparé deux températures de conservation :  $-196^{\circ}\text{C}$  (congélation) et  $16^{\circ}\text{C}$ . Après 1 an de conservation, la semence cryoconservée avait une meilleure viabilité comparée à  $16^{\circ}\text{C}$ . Nous avons également vérifié si la centrifugation de la semence éliminerait le cryoconservant (diméthyl sulfate) sans avoir d'impact sur la viabilité du sperme. Nos résultats démontrent que la centrifugation n'affecte pas la viabilité des spermatozoïdes.

Les tests d'insémination de reines avec la semence cryoconservée ont provoqué la mort des reines après (48h). Nous n'avons pas été en mesure d'identifier les causes de cette mortalité. D'autres essais doivent être réalisés.

### OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

- Optimiser la méthode de cryoconservation en éliminant le cryoprotectant diméthyl sulfoxyde (DMSO) par centrifugation après le temps de conservation
- Évaluer l'efficacité de deux températures de conservation ( $16^{\circ}\text{C}$  et  $-196^{\circ}\text{C}$ ) durant 10 mois de conservation (septembre à juin)

Près de 5 000 faux-bourçons (mâles) ont été capturés en aout dans les colonies du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault. Au laboratoire, les mâles ont été placés dans une cage éclairée, pour qu'ils puissent voler librement et éliminer leurs fèces. La collecte du sperme se fait avec une seringue d'insémination Harbo attachée à un capillaire en verre de  $50\mu\text{l}$ . La seringue est remplie de solution saline stérile (10g de NaCl dans 1000ml d'eau distillée avec 0,25% de dihydrostreptomycine) pour lubrifier les parois et ainsi faciliter le prélèvement du sperme. La figure ci-dessous décrit le capillaire de conservation du sperme.



La composition d'un capillaire pour la conservation du sperme de faux-bourçon. 1 : le sperme dilué; 2 : bulle d'air; 3 : solution aux extrémités (saline); 4 : Critoseal®.

Les traitements à l'étude sont schématisés dans le tableau suivant :

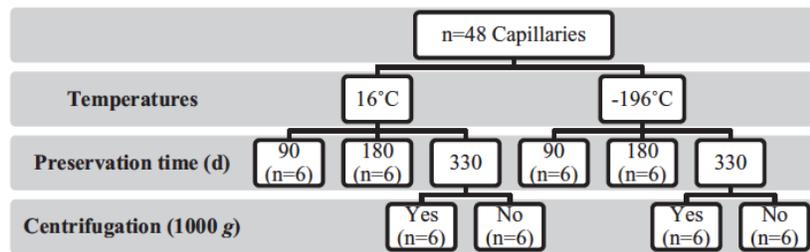


Fig. 1. Diagrammatic representation of semen distribution between treatments. Six semen pools ( $n=6$ ) were separated into eight different treatments (48 capillaries) stored at 16°C and -196°C. Two capillaries of 100  $\mu$ l of diluted semen (reserved for I.I. after 330 d) and two capillaries of 20- $\mu$ l diluted semen (reserved for sperm viability at 90 and 180 d) were produced with each temperature group.

La coloration des spermatozoïdes vivants et morts se fait respectivement avec le SYBR-14 et l'iode de propidium. Le compte des spermatozoïdes se fait au microscope à fluorescence.

## RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

L'hypothèse #1 était que la cryoconservation de la semence d'abeille est plus efficace à long terme que la conservation à des températures au-dessus de 0°C. Nous avons évalué l'efficacité, basée sur la viabilité des spermatozoïdes, de deux températures de conservation : -196 °C et 16 °C. Après un an de conservation, la semence cryocongelée avait une meilleure viabilité comparée à 16°C (76%  $\pm$  5% vs 0%;  $p < 0,05$ ).

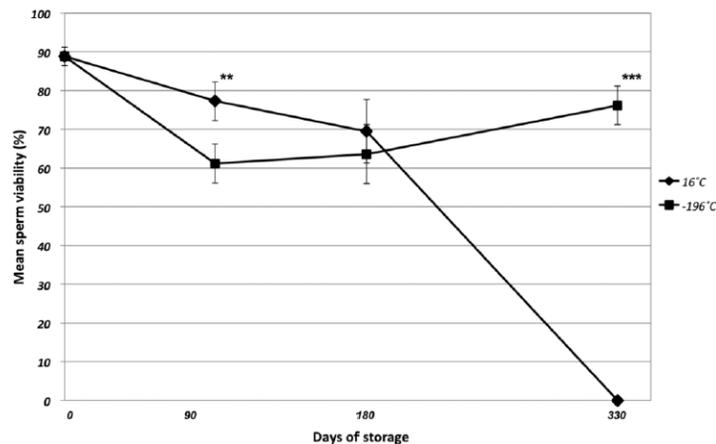


Fig. 2. Progression of mean sperm viability ( $\pm$  SEM) during 11 mo, for two temperatures (16°C vs. -196°C) at different evaluation days ( $F_{0,230}=484.27$ ;  $P < 0.0001$ ). There was a significant difference between the two temperatures at 90 d (\*\*  $P < 0.001$ ) and 330 d (\*\*\*)  $P < 0.0001$ ) but not at 180 d ( $P > 0.05$ ).

L'hypothèse #2 était que la centrifugation de la semence post-cryoconservation élimine le DMSO et, ainsi, augmente la fertilité de la reine après l'insémination. Nos résultats démontrent que la centrifugation n'affecte pas la viabilité des spermatozoïdes (78%  $\pm$  3% vs 75%  $\pm$  4% ;  $p > 0,05$ ). Par la suite, la spermathèque des reines inséminées avec la semence cryoconservée a été évaluée par la migration des spermatozoïdes ainsi que la viabilité des spermatozoïdes. Il y avait beaucoup de variabilités dans nos résultats. Nous n'avons pas été en mesure de vérifier si l'ajout de la centrifugation après la conservation améliore la fertilité des reines après insémination.

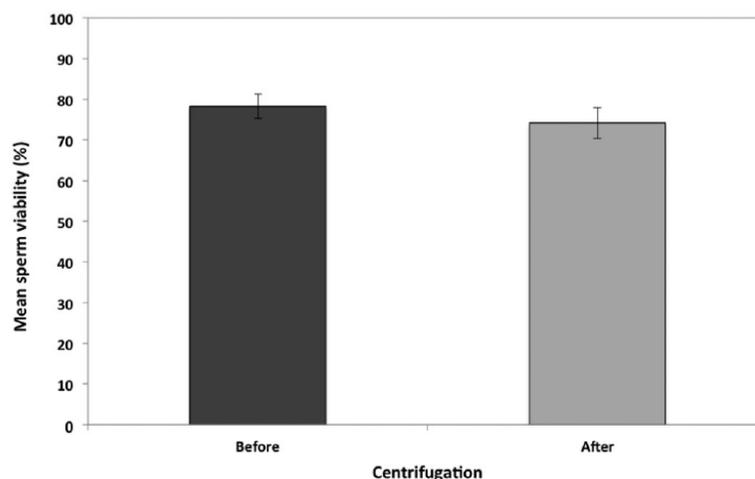


Fig. 3. Mean sperm viability ( $\pm$  SEM) before and after centrifugation of frozen-thawed semen preserved for 330 d ( $F_{(1,11)} = 4.49$ ;  $P = 0.0652$ ).

## APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

À notre connaissance, il n'y a pas de banque de sperme de l'abeille mellifère consacrée à la conservation de sa diversité génétique. Notre recherche sur la cryogénie du sperme d'abeille indique que cette technique couramment utilisée chez d'autres animaux peut être utilisée dans l'industrie apicole. Les applications suivantes sont donc envisageables à court et moyen terme :

1. Création d'une banque de sperme de l'abeille domestique au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault. L'objectif serait de conserver la biodiversité génétique des abeilles domestiques.
2. Cryconservation du sperme pendant l'hiver et insémination le printemps suivant des jeunes reines. Ceci permettrait de produire des reines fécondes plus tôt car il ne faut pas attendre l'arrivée des jeunes faux-bourdons (début mai au lieu de début juin). De plus cela permettrait d'assurer la conservation des gènes des lignées performantes annuellement.
3. La capacité de conserver le sperme pendant 180 jours à 16°C est fort intéressant. Ceci permet au programme de sélection du CRSAD d'accroître son potentiel génétique en important du sperme d'autres programmes de sélection dans le monde. Le transport du sperme est simple et ne nécessite aucun appareillage complexe.

Les suites de cette recherche sont nombreuses. Voici seulement quelques propositions de recherches :

1. Tests d'insémination des reines avec du sperme cryoconservé et mesures de la viabilité du sperme dans la spermathèque à différents temps post-insémination et suivi de la dynamique du développement des colonies.
2. Tests avec diluants qui favoriseraient la conservation du sperme au-dessus de 0°C

## POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet : Pierre Giovenazzo

Téléphone : 418-656-2131 (8081)

Télécopieur : 418-656-2043

Courriel : pierre.giovenazzo@bio.ulaval.ca

## REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.

**Section 4 - Activité de transfert et de diffusion scientifique** (joindre en annexe la documentation en appui)

- *Journée de la Recherche du Centre de Recherche en Biologie de la Reproduction (CRBR), Centre de recherche du CHU de Québec – CHUL, Québec, QC, Canada (mars 2015).*
- *Concours de vulgarisation, Institut Hydro-Québec en environnement, développement et société – Université Laval, Québec, QC, (mars 2015). 1<sup>er</sup> prix <https://www.youtube.com/watch?v=D3WrVnH1X8g>*
- *Entrevue 30 min. radio « Le 8<sup>e</sup> continent », Station communautaire CKRL (89,1), Québec, (mai 2015).*
- *Journée de la recherche de la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation – Université Laval, Québec (mai 2015). 1<sup>er</sup> prix. <http://www.fsa.ulaval.ca/recherche/journee-de-la-recherche/thematiques-anterieures/journee-2015/>*
- *Symposium RQR, Montréal, QC, Canada (novembre 2015).*
- *L'association canadienne des professionnels de l'apiculture (ACPA), Saskatoon, Saskatchewan, Canada (décembre 2015).*
- *Syndicat des apiculteurs du Québec (27 janvier 2017)*

**Section 5 - Activités de diffusion et de transfert aux utilisateurs** (joindre en annexe la documentation en appui)

Sans objet

## Section 6 – Grille de transfert des connaissances

<b>1. Résultats</b> Présentez les faits saillants (maximum de 3) des principaux résultats de votre projet.	<b>2. Utilisateurs</b> Pour les résultats identifiés, ciblez les utilisateurs qui bénéficieront des connaissances ou des produits provenant de votre recherche.	<b>3. Message</b> Concrètement, quel est le message qui devrait être retenu pour chacune des catégories d'utilisateurs identifiées ? Présentez un message concret et vulgarisé. Quels sont les gains possibles en productivité, en rendement, en argent, etc. ?	<b>4. Cheminement des connaissances</b> a) Une fois le projet terminé, outre les publications scientifiques, quelles sont les activités de transfert les mieux adaptées aux utilisateurs ciblés? (Conférences, publications écrites, journées thématiques, formation, etc.) b) Selon vous, quelles pourraient être les étapes à privilégier en vue de maximiser l'adoption des résultats par les utilisateurs.
Conservation du sperme de mâles de l'abeille domestique pendant 160 jours à 16C	Apiculteurs, éleveurs de reines, programme de sélection génétique et Centres de recherches	Apiculteurs et éleveurs de reines : - Privilégier l'achat de reines produites localement par nos éleveurs de reines car ces reines sont sélectionnées dans notre climat et en fonction de critères reliés à notre apiculture.  Programme de sélection génétique et Centres de recherche : - Importation du potentiel génétique de lignées disponibles dans d'autres programmes de sélection à travers le monde est possible par l'expédition ou le transport de sperme.	a) Conférences et publications dans la revue l'Abeille et le site du Centre de référence en agroalimentaire du Québec ;  b) Maximisation l'adoption par la diffusion des connaissances chez les éleveurs de reines et l'intégration de la technologie dans les procédures du CRSAD/centre apicole.
Cryoconservation du sperme de mâles de l'abeille domestique pendant 330 jours à -180C	Programme de sélection génétique et Centres de recherches	Programme de sélection génétique Centres de recherches : - Création d'une banque de sperme de l'abeille domestique au CRSAD. - L'insémination de jeunes reines très tôt le printemps avec du sperme cryoconservé pendant l'hiver. Ceci accélère le processus de sélection.	a) Conférences et publications dans la revue l'Abeille et le site du Centre de référence en agroalimentaire du Québec ;  b) Recherches supplémentaires nécessaires avant d'entreprendre le transfert.

<p>Mort des reines inséminées avec le sperme cryoconservé pendant 330 jours</p>	<p>Centres de recherches</p>	<p>Centres de recherches</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- L'insémination de jeunes reines très tôt le printemps avec du sperme cryoconservé pendant l'hiver. Ceci accélère le processus de sélection.</li></ul>	<p>a) Conférences et publications dans la revue l'Abeille et le site du Centre de référence en agroalimentaire du Québec ;</p> <p>b) Recherches supplémentaires nécessaires avant d'entreprendre le transfert.</p>
---	------------------------------	--	--

## **Section 7 - Contribution et participation de l'industrie réalisées**

Sans objet

**Section 8 - Rapport scientifique et/ou technique** (format libre réalisé selon les normes propres au domaine d'étude)

Les documents suivants sont issus des travaux financés par cette subvention. Ils son annexés cette fiche de transfert.

**Manuscrit Scientifique**

Paillard M., A. Rousseau, P. Giovenazzo and J.L. Bailey, 2017. Preservation of domesticated Honey bee (Hymenoptera : Apidae) drone semen. Journal of economic entomology. doi : 10.1093/jee/tox149

**Mémoire M.Sc.**

Paillard Marilène, 2016. Preservation of Honey Bee (*Apis mellifera L.*) Semen. Mémoire de maitrise. Université Laval, Québec, Canada. 79pp.