

## Влияние на типа осеменяване на пчелната майка върху яйценолната ѝ дейност

\*Цветан Цветанов<sup>1</sup>, Ралица Балканска<sup>1</sup>, Мая Игнатова<sup>1</sup>, Ивона Димитрова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт по животновъдни науки – Костинброд, Селскостопанска академия, София

<sup>2</sup>Лесотехнически университет – София

\*E-mail: tsvetan28@abv.bg

### Резюме

Целта на проучването е да се установи влиянието на типа на осеменяване на пчелната майка (изкуствено или естествено) върху яйценолната ѝ дейност. Експериментът е проведен през 2021 г. на три пчелина (№ 5063-004 и 5063-0018, намиращи се в с. Буковец, и пчелин № 5185-0506 в с. Раданово), отдалечени един от друг на повече от 5 km в област Велико Търново. В експеримента от всеки пчелин участват две линии пчелни майки – Линия 1 (LM-20) и Линия 2 (LM-45). От всяка линия са сформирани по две групи пчелни семейства. Всяка група се състои от 6 пчелни семейства с инструментално осеменени пчелни майки и 6 пчелни семейства с естествено оплодени пчелни майки. Пчелните майки от групата на инструментално осеменените пчелни семейства са осеменени еднократно със 10 µl семенна течност на възраст 8 дни от своето излюпване. Инструментално осеменените пчелни майки показват по-високи стойности на показателя яйценолна дейност през отделните сезони (пролет и есен) в сравнение с естествено оплодените пчелни майки. Разликите са статистически достоверни ( $p < 0,001$ ). Установена е статистически достоверна разлика ( $p < 0,001$ ) между двете линии пчелни майки LM-20, LM-45.

**Ключови думи:** яйценолна дейност на пчелната майка, количество запечатано пило, медоносна пчела (*Apis mellifera mellifera* L.), инструментално и естествено оплодени пчели майки, яйценолна дейност

### Influence of the type of insemination of the queen bee on her egg-laying activity

Tsvetan Tsvetanov, Ralitsa Balkanska, Maia Ignatova, Ivona Dimitrova

<sup>1</sup>Institute of Animal Science – Kostinbrod, Agricultural Academy, Sofia

<sup>2</sup>University of Forestry – Sofia

E-mail: tsvetan28@abv.bg

**Citation:** Tsvetanov, T., Balkanska, R., Ignatova, M., & Dimitrova, I. (2023). Influence of the type of insemination of the queen bee on her egg-laying activity. *Zhivotnovadni Nauki*, 60(1), 30-36 (Bg).

### Abstract

The aim of the study is to determine the influence of the type of insemination of the queen bee (artificial and natural) on her egg-laying activity. The experiment was conducted in 2021 at three

apiaries (№ 5063-004 and 5063-0018, located in the village of Bukovets, and apiary № 5185-0506 in the village of Radanovo), separated from each other by more than 5 km in the district Veliko Tarnovo. Two queen bee lines from each apiary are used – Line 1 (LM-20) and Line 2 (LM-45). Two groups of bee colonies were formed from each line. Each group consisted of 6 bee colonies with artificial inseminated queen bees and 6 bee colonies with natural inseminated queen bees. Queen bees from the group of the artificial inseminated bee colonies were inseminated once with 10 µl of seminal fluid at the age of 8 days from their hatching. Artificial inseminated queen bees showed higher values of the egg-laying activity in the individual seasons (spring and autumn) compared to natural iseminated queen bees. The differences were statistically significant ( $p < 0.001$ ). A statistically significant difference ( $p < 0.001$ ) was found between the two queen bee lines LM-20, LM-45.

**Key words:** egg-laying activity of queen bees, quantity of sealed brood, honey bee (*Apis mellifera mellifera* L.), artificial and natural iseminated queen bees

## Въведение

Проучванията за осеменяване на пчелните майки започват още през 70-те години на миналия век. Редица изследователи (Woyke, 1979; Woyke and Jasinski, 1980; 1982; Pabuki et al., 1987) проследяват ефекта на естествено и инструментално осеменени пчелни майки върху пчелното семейство през стопанския сезон. Инструменталното осеменяване на пчелни майки е основен инструмент, който осигурява пълен контрол върху произхода на търтеите, сигурността и качеството на осеменяване на медоносни пчели за изследователски и развъдни цели (Cobey et al., 2013). Установено е, че върху процеса на осеменяване влияят фактори като качество на семенната течност, възраст на пчелните майки към момента на осеменяване, както и силата на пчелните семейства, в които се съхраняват пчелните майки преди и след осеменяването (Jhajj et al., 1992; Oertel, 1940; Koeniger, 1986). За успеха на процедурата по осеменяване е необходима оптимизация на тези фактори. Основните фактори, които влияят върху производството на изкуствено оплодени пчелни майки, са представени подробно в обзорите на Khan et al. (2022), Buescu et al. (2015). Обикновено пчелините, на които са провеждани тези научни изследвания, са разположени в райони с постоянно цъфтяща медоносна растителност през по-голяма част от годи-

ната. В районите на проучванията вредителите на пчелното семейство са били сведени до минимум с цел получаване на оптимални резултати (Cobey, 1983; Laidlaw, 1987). Важно значение за оптималното яйцеснасяне както при инструментално осеменените пчелни майки, така и при естествено оплодените, е възрастта на пчелната майка след излюпване. Редица автори (Конораска, 1987; Boigenzahu and Pechhacker, 1993; Szalani, 1995; Cermak, 2004) съобщават, че оптимални резултати се постигат при оплождане на възраст между 10–12 дни от излюпването на пчелната майка. Физиологично половата зрялост на пчелната майка се достига след 7–9 дни от нейното излюпване. Провеждани са научни експерименти, при които оплодените майки са били предварително поставяни в малки нуклеуси с около 3000–4000 пчели работнички за период от 7–8 дни и след това са придавани в пчелни семейства (Конораска, 1987). Uygur et al. (2015) сравняват две групи пчелни семейства с естествено и изкуствено осеменени пчелни майки по отношение на количеството на пилото, агресивност, способност за зимуване и добив на пчелен мед. Авторите не установяват статистическа разлика за тези показатели при двете групи пчелни семейства ( $p > 0,05$ ). Изкуственото осеменяване на пчелни майки е един от начините за генетичен контрол на медоносните пчели и е широко използвано за изследователски цели в пче-

ларството (Cobey et al., 2013; Cobey, 2016). До момента съвременните изследвания, свързани с изкуственото осеменяване на пчелни майки в България, са ограничени. Целта на проучването е да се установи влиянието на типа на осеменяване на пчелната майка (изкуствено и естествено) върху яйценолната ѝ дейност.

### Материал и методи

Експериментът е проведен през стопанския сезон на 2021 г. на три пчелина (№ 5063-004 и 5063-0018, намиращи се в с. Буковец, и пчелин № 5185-0506 в с. Раданово), отдалечени един от друг на повече от 5 km в област Велико Търново. Пчелните семейства преди началото на проучването бяха изравнени по показателите количество на запечатаното пило, количество на медовите и прашецовите запаси. В експеримента от всеки пчелин участват две линии пчелни майки, които са означени като Линия 1 (LM-20) и Линия 2 (LM-45). От всяка линия са сформирани по две групи пчелни семейства. Всяка група се състои от 6 пчелни семейства с инструментално осеменени пчелни майки и 6 пчелни семейства с естествено оплодени пчелни майки. Пчелните майки са сестри от всяка отделна линия, получени през март 2021 г. от залагане на тридневни ларви и получаване на пчелни майки от тях по метода на Дулитъл. Пчелните майки от групата на инструментално осеменените пчелни семейства са осеменени еднократно с 10 µl семенна течност на възраст 8 дни от своето излюпване. Семенната течност е получена от половозрели търтеи. След осеменяването пчелните майки са придадени с помощта на Бентонова клетка в семейства с около 10 000 пчели работнички. Пчелните майки от групата на естествено оплодените бяха оставени да се оплодят по естествен път от търтеите на съответните пчелини. Преди оплождането си пчелните майки бяха поставени в мини нуклеуси с около 4000 пчели работнички с цел контролиране на началния момент на яйцено-

насяне. Веднага след установяване на начало на яйценолна дейност пчелните майки с помощта на Бентонови клетки бяха поставени в семейства с около 10 000 пчели работнички. Тъй като пчелините са на разстояние много повече от 5 km (разположени са на разстояние около 35 km един от друг), вероятността от попадането на семенна течност в яйцепологалото на пчелните майки от друга раса търтеи е сведена до минимум. Количеството на запечатаното пило беше измервано след провеждането на Главен пролетен преглед (през месец април) през период от 12 дни до провеждането на Главен есенен преглед (през месец октомври). За измерване на количеството на запечатаното пило е използвана рамка – шаблон с изградени върху площта ѝ мерителни квадрати от тел. Размерът на квадратите е съответно 5 на 5 cm, което отговаря на 100 килийки запечатано пило. Статистическата обработка на резултатите е извършена с програмния пакет ANOVA. За установяване влиянието на линиите и съответния начин на осеменяване върху силата на семействата е приложен многофакторен дисперсионен анализ, като при наличие на достоверен ефект разликите между групите са оценени с Tukey-test ( $p < 0,05$ ).

### Резултати и обсъждане

В таблица 1 са представени средните стойности на яйценолна дейност на двете линии пчелни майки от трите изследвани пчелина.

Яйценолната дейност на изкуствено оплодените пчелни майки е по-висока от тази на естествено оплодените през пролетния период при линия 1 с около 1900, а при линия 2 с около 2800 броя яйца за денонощие. Установени са статистически значими разлики ( $p < 0,05$ ) при яйценолната дейност на изкуствено осеменените пчелни майки в сравнение с естествено осемените и при двете линии пчелни майки. Тези резултати се потвърждават от проучванията на Gerulla (1999), където инструментално оплодените пчелни майки имат по-висока яйценолна дейност от поря-

**Таблица 1.** Яйценосна дейност на пчелните майки (mean  $\pm$  SD) в зависимост от пчелина, линията и начина на оплождане през сезон пролет 2021 (брой запечатани килийки) от началото на април до началото на юни

**Table 1.** Egg-laying activity of queen bees (mean  $\pm$  SD) depending on apiary, line and method of insemination in the spring season 2021 (number of sealed cells) from the beginning of April to the beginning of June

| Линия /<br>Line                     | Начин на оплождане /<br>Method of insemination | Пчелин 1 (№ 5063-004 /<br>Apiary 1 (№ 5063-004) | Пчелин 2 (№ 5063-0018) /<br>Apiary 2 (№ 5063-0018) | Пчелин 3 (№ 5185-0506) /<br>Apiary 3 (№ 5185-0506) |
|-------------------------------------|--|---|--|--|
| Линия 1 (LM-20) /<br>Line 1 (LM-20) | Естествено /<br>Natural                        | 6567,7 $\pm$ 338,01 <sup>h</sup>                | 6567,4 $\pm$ 267,51 <sup>h</sup>                   | 6645,31 $\pm$ 223,33 <sup>g</sup>                  |
|                                     | Изкуствено /<br>Artificial                     | 8406,94 $\pm$ 345,55 <sup>c</sup>               | 8592,31 $\pm$ 265,30 <sup>b</sup>                  | 8606,44 $\pm$ 264,15 <sup>a</sup>                  |
| Линия 2 (LM-45) /<br>Line 2 (LM-45) | Естествено /<br>Natural                        | 5468,86 $\pm$ 66,16 <sup>k</sup>                | 5484,83 $\pm$ 312,04 <sup>j</sup>                  | 5557,72 $\pm$ 277,09 <sup>i</sup>                  |
|                                     | Изкуствено /<br>Artificial                     | 8320,78 $\pm$ 281,44 <sup>f</sup>               | 8366,47 $\pm$ 290,22                               | 8383,17 $\pm$ 299,72 <sup>d</sup>                  |

Легенда: Различните буквени означения след стойностите показват статистически значими разлики ( $p < 0,05$ )

Legend: Different letters after the values indicate statistically significant differences ( $p < 0.05$ )

дъка на 24,3 cm<sup>2</sup> за денонощие, докато при естествено оплодените майки тези стойности са съответно 22,1 cm<sup>2</sup> за денонощие. Авторите Nelson and Laydaw (1988) установяват, че инструментално осеменените пчелни майки имат по-ниска яйценосна дейност в сравнение с естествено оплодените, съответно 2074 cm<sup>2</sup> площ на запечатаното пило при инструментално оплодените пчелни майки и 2303 cm<sup>2</sup> съответно при естествено оплодените пчелни майки. При повторно изследване същите автори установяват, че инструментално осеменените пчелни майки имат по-висока яйценосна дейност съответно 4145 cm<sup>2</sup> площ на запечатаното пило. Този показател при естествено оплодените пчелни майки е съответно 3998 cm<sup>2</sup>.

Най-високи стойности на яйценолната дейност и при двете линии пчелни майки са отчетени на пчелин 3, следвани от пчелин 2 и пчелин 1.

Съгласно лични наблюдения, една от вероятните причини за ниското ниво на популационна плътност е наблюдаваната през стопанския сезон повишена концентрация над икономическия праг на вредност (ИПВ) на пчелояд (*Merops apiaster*), който нанася

непоправими щети на пчелните семейства всеки стопански сезон.

В табл. 2 е представена достоверността на влиянието на използваните фактори на въздействие върху показателя яйценосна дей-

**Таблица 2.** Ефект на пчелина, линията и начина на оплождане върху яйценолната дейност на пчели майки през сезон пролет 2021

**Table 2.** Effect of the apiary, the line and the method of insemination on the egg-laying activity of queen bees during the spring season 2021

| Фактор / взаимодействие<br>Factor / Interaction                               | Достоверност<br>на влиянието /<br>Significance |
|---|--|
| Пчелин / Apiary   | ***  |
| Линия / Line  | ***  |
| Начин на оплождане /<br>Method of insemination                                | ***  |
| Пчелин x Линия / Apiary x Line  | ***  |
| Пчелин x Начин на оплождане /<br>Apiary x Method of insemination              | ***  |
| Линия x Начин на оплождане /<br>Line x Method of insemination                 | ***  |
| Пчелин x Линия x Начин на оплождане<br>Apiary x Line x Method of insemination | ***  |

\*\*\*  $p < 0,001$

ност на пчели майки през пролетния сезон. Получените резултати показват, че са установени статистически значими разлики между отделните групи. Доказано е въздействието на всеки фактор поотделно, както и на всички възможни взаимодействия между тях.

Изследването на влиянието на факторите: начин на осеменяване, линия на пчелните майки и локация на пчелина за проведените измервания през есенния период (таблица 3) до голяма степен са сходни с тези, проведени през пролетния период. През есенния период се наблюдава естествено намаляване на средните стойности на яйценолната дейност на пчелните майки при естествено осеменяване в сравнение с яйценолната дейност през пролетния период. Според Seeley (1985) отглеждането на пило в пчелното семейство зависи от доставката на цветен прашец. През есента намалява яйценолната дейност на пчелата майка заедно с намаляването на вноса на цветен прашец.

При изкуственото осеменяване средните стойности на яйценолната дейност са по-високи през есента в сравнение с пролетното измерване на този показател.

Средните стойности яйценолната дейност на изкуствено осеменените пчелни майки ва-

рират от 9472 до 10581 броя запечатани килийки за период от 12 дни. При естествено оплодените пчелни майки яйценолната дейност варира от 5387 до 5543 броя запечатани килийки за период от 12 дни. Инструментално оплодените пчелни майки имат по-висока яйценолна дейност (75,78–93,15%) в сравнение с естествено оплодените. Влиянието на фактора линия на пчелните майки е в полза на линия 1, при която са установени по-високи стойности спрямо линия 2 (10,13–11,71% за различните пчелини) при инструментално оплодените пчелни майки. При естествено оплодените пчелни майки влиянието на този фактор е незначително. Влиянието на фактора пчелин върху яйценолната дейност е в рамките на малко над 1%. В достъпната литература не открихме публикации и данни за изпитване на определен показател при пчелни семейства разположени на различни локации в определена географска област. Резултатите за достоверността на влиянието на приложените фактори (пчелин, линия и начин на оплождане) върху яйценолната дейност за есенния сезон (табл. 4) показват, че е установено доказано влияние на всеки от тях поотделно, както и на всички възможни взаимодействия между тях. В достъпната лите-

**Таблица 3.** Яйценолна дейност на пчелите в зависимост от пчелина, линията и начина на оплождане през сезон есен 2021 (брой запечатани килийки) от началото на септември до края на октомври

**Table 3.** Egg-laying activity of bees depending on the apiary, the line and the method of insemination in the autumn season 2021 (number of sealed cells) from the beginning of September to the end of October

| Линия /<br>Line                     | Начин на оплождане /<br>Method of insemination | Пчелин 1 (№ 5063-004 /<br>Apiary 1 (№ 5063-004) | Пчелин 2 (№ 5063-<br>0018) /<br>Apiary 2 (№ 5063-0018) | Пчелин 3 (№ 5185-<br>0506) /<br>Apiary 3 (№ 5185-0506) |
|-------------------------------------|--|---|--|--|
| Линия 1 (LM-20) /<br>Line 1 (LM-20) | Естествено /<br>Natural                        | 5543,28 ± 254,92 <sup>f</sup>                   | 5497,56 ± 278,92 <sup>g</sup>                          | 5410,92 ± 199,96 <sup>g</sup>                          |
|                                     | Изкуствено /<br>Artificial                     | 10581,42 ± 315,29 <sup>a</sup>                  | 10471,53 ± 268,99 <sup>b</sup>                         | 10451,53 ± 249,43 <sup>c</sup>                         |
| Линия 2 (LM-45) /<br>Line 1 (LM-45) | Естествено /<br>Natural                        | 5469,36 ± 238,34 <sup>h</sup>                   | 5387,89 ± 188,30 <sup>i</sup>                          | 5398,50 ± 190,59 <sup>ij</sup>                         |
|                                     | Изкуствено /<br>Artificial                     | 9472,61 ± 283,12 <sup>e</sup>                   | 9488,33 ± 277,96 <sup>d</sup>                          | 9489,69 ± 278,61 <sup>d</sup>                          |

Легенда: Различните буквени означения след стойностите показват статистически значими разлики ( $p < 0,05$ )

Legend: Different letters after the values indicate statistically significant differences ( $p < 0.05$ )

ратура не са открити изследвания за България за сравнение на изкуствено и естествено осеменяване на пчелни майки през пролетен и есенен сезон.

От таблица 3 се вижда, че има статистически достоверни разлики ( $p < 0,001$ ) между начина на оплождане на пчелните майки, както и локациите, на които те са разположени. Яйценолната дейност на инструментално осеменените пчелни майки варира от 9488 до 10581 броя запечатани килийки за период от 12 дни. При естествено оплодени пчелни майки яйценолната дейност варира от 5398 до 5543 броя запечатани килийки за период от 12 дни. С малките букви над съответната стойност е означено до каква степен стойността се различава от предходната. Разликите между стойностите на изкуствено осеменените и на естествено осеменените са статистически достоверни ( $p < 0,001$ ). В достъпната литература не открихме публикации и данни за изпитване на определен показател при пчелни семейства разположени на различни локации в определена географска област.

**Таблица 4.** Ефект на пчелина, линията и начина на оплождане върху яйценолната дейност на пчели майки през сезон есен 2021  
**Table 4.** Effect of the apiary, the line and the method of insemination on the egg-laying activity of queen bees during the spring season 2021

| Фактор / взаимодействие<br>Factor / Interaction                                 | Достоверност<br>на влиянието /<br>Significance |
|---|--|
| Пчелин / Apiary   | ***  |
| Линия / Line  | ***  |
| Начин на оплождане / Method of<br>insemination                                  | ...  |
| Пчелин x Линия / Apiary x Line  | ***  |
| Пчелин x Начин на оплождане /<br>Apiary x Method of insemination                | ...  |
| Линия x Начин на оплождане /<br>Line x Method of insemination                   | ...  |
| Пчелин x Линия x Начин на оплождане /<br>Apiary x Line x Method of insemination | ...  |

\*\*\*  $p < 0,001$

От табл. 4 се вижда, че се наблюдава статистически достоверен ефект ( $p < 0,001$ ) между взаимодействието на факторите: пчелин–линия; пчелин–начин на оплождане на пчелни майки; линия на пчелната майка–начин на оплождане; както и пчелин–линия на пчелната майка–начин на оплождане.

При пчелните майки от групата на естествено оплодените количеството снесени яйца за период от 12 дни е съответно около 5300, 5450 и 5500 броя яйца.

### Изводи

Инструментално осеменените пчелни майки показват по-високи стойности на показателя яйценолна дейност през отделните сезони (пролет и есен) в сравнение с естествено оплодените пчелни майки. Разликите са статистически достоверни ( $p < 0,001$ ). Установена е статистически достоверна разлика ( $p < 0,001$ ) между двете линии пчелни майки LM-20, LM-45.

### Литература

- Boigenzahn, C., & Pechhacker, H.** (1993). Über die Art der Anpaarung. *Bienenwatter*, 114, 151-152.
- Buescu, E., Gurău, M. R. & Bîrțoiu, A. I.** (2015). Artificial insemination on *Apis mellifera* – aspects of artificial inseminated queen performances and factors that may affect their performance. In: *Proceedings of the Romanian Academy – Series B*, 1, 21-24.
- Cermák, K.** (2004). Evaluation of artificially inseminated and naturally mated bee queens in Zubri, Czech Republic. *Včelářství*, 57, 148– 149.
- Cobey, S.** (1983). The development of instrumental insemination. *American Bee Journal*, 123, 108-111.
- Cobey, S. W.** (2016). An introduction to instrumental insemination of honey bee queens. *Bee World*, 93(2), 33-36.
- Cobey, S. W., Tarpy, D. R., & Woyke, J.** (2013). Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-18.
- Gerula, D.** (1999). Comparison of honey production of caucasian and carniolan bees in years with nectar flow and honeydew flow. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 43, 59-69.

**Jhajj, H. S., VChahal, B. S., & Brar, H. S.** (1992). Fabrication of queen trap for *Apis mellifera* L. and studies on the pre-mating period. *Indian Bee Journal*, 5, 63-67.

**Khan, K. A., Rafique, M. K., Lashari, M. A., Iqbal, A., Mahmood, R., Ahmed, A. M., Khoso, F. N., Ahmad, S., AL-Shehri, B. M., Mohammed, M. E., & Ghramh, H. A.** (2022). Instrumental insemination: A nontraditional technique to produce superior quality honey bee (*Apis mellifera*) queens. *Journal of King Saud University – Science*, 34(5), 1-10.

**Konopacka, Z.** (1987). Biological quality of instrumentally inseminated queens. In: Proceeding XXXIst International Apimondia Congress, Warsaw, 163-167.

**Laidlaw, H. H.** (1987). Instrumental insemination of honeybee queens: its origin and development. *Bee World*, 68(1), 17-36.

**Nelson, D. L., & Laidlaw, H. H.** (1988). An evaluation of instrumentally inseminated queens shipped in packages. *American Bee Journal*, 128, 279-280.

**Oertel, E.** (1940). Mating flights of the queen bee, Glean. *Bee Culture*, 68, 292-293.

**Prabucki, J., Jasinski, Z., & Chuda-Mickiewicz, B.** (1987). The results of mass insemination of bee queen inseminated onefold and twofold and stocked in different ways. In *Proc. XXXIst International Apimondia Congress, Warsaw, Poland* (pp. 169-174).

**Seeley, T. D.** (1985). *Honeybee Ecology: A Study of adaptation in social life*. Princeton University Press, Princeton.

**Szalai, E.** (1995). Results of instrumental insemination of queen honey bees in Hungary, *Pszczelnicze Zeszyty Nnaukowe*, 39, 61-69.

**Uygur, Ş. Ö., Karaca, Ü., & Takma, Ç.** (2015). Comparison of some performance characteristics for naturally mated and artificially inseminated honey bee queen bees. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 52(1), 79-83.

**Woyke, J.** (1979). Effect to the access of worker honeybees to the queen on the results of instrumental insemination. *Journal of Apicultural Research*, 19(2), 136-143.

**Woyke, J., & Jasinski, Z.** (1982). Influence of the number attendant workers on the number of spermatozoa entering the spermatheca of instrumentally inseminated queens kept outdoor in mating nuclei. *Journal of Apicultural Research*, 21(3), 129-133.

**Woyke, J., & Jasinski, Z.** (1979). Number of workers bees necessary to attend instrumentally inseminated queens kept in an incubator. *Apidologie*, 10(2), 149-155.

**Woyke, J., & Jasinski, Z.** (1980). Influence of the number of attendant workers on the results of instrumental insemination of honeybee queens kept at room temperature. *Apidologie*, 2, 173-180.