

# Le séquençage du génome des colonies d'abeilles mellifères permet d'identifier des gènes influençant des caractères d'élevage

**Matthieu Guichard<sup>1,2</sup>, Benjamin Dainat<sup>1</sup>, Markus Neuditschko<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Agroscope, Centre de recherche apicole, Schwarzenburgstrasse 161, 3003 Bern

<sup>2</sup>Agroscope, Animal GenoPhenomics, Rte de la Tioleyre 4, 1725 Posieux, matthieu.guichard@agroscope.admin.ch

Chez l'abeille mellifère, comme chez d'autres animaux utiles, l'expression des caractères est influencée par son génome (patrimoine génétique). Le décodage de l'ensemble du génome à l'aide d'un séquençage complet permet d'identifier des gènes individuels qui participent à l'expression d'un caractère important (p. ex. la résistance à *Varroa*). Grâce à ces informations, il est possible de mieux comprendre les bases génétiques de certains caractères et potentiellement de sélectionner efficacement les colonies d'abeilles mellifères. Le processus de sélection basé sur l'information génomique est appelé sélection assistée par marqueurs (MAS) ou sélection génomique.

## Méthode

L'analyse du génome d'abeilles mellifères fournit des informations importantes sur l'origine et la diversité génétique de ses sous-espèces (Wallberg et al. 2014, Parejo et al. 2021). De plus, l'analyse du génome permet d'identifier les gènes qui influencent l'expression de caractères d'intérêt.

Afin d'identifier les emplacements de tels gènes dans des colonies d'abeilles mellifères suisses, nous avons prélevé 500 ouvrières par colonie pour l'analyse du patrimoine génétique. Ce grand nombre d'ouvrières permet de saisir toute la diversité génétique d'une colonie d'abeilles, qui résulte de la fécondation répétée de la reine par 10 à 20 faux-bourçons. Afin d'extraire l'ADN, le support de l'information génétique, pour chacune des colonies échantillonnées, les ouvrières prélevées ont été préparées en conséquence au laboratoire. Ce processus est appelé « séquençage en pool », car l'information génomique d'une colonie d'abeilles mellifères est déduite à partir d'un groupe d'individus (les ouvrières prélevées = le pool), le génome de l'abeille mellifère étant composé de 16 chromosomes successifs.

En génétique des populations, on s'intéresse surtout aux régions du génome (QTL) qui ont une influence significative sur le phénotype (= valeur de performance mesurée) d'un caractère (p. ex. la production de miel, la douceur, le comportement hygiénique, etc.) Pour identifier avec succès les QTL, les informations phénotypiques et génotypiques des colonies d'abeilles sont mises

en relation dans une analyse d'association pangénomique (GWAS), qui ne prend généralement en compte que les régions présentant une variation au sein d'une population (p. ex. *Apis mellifera mellifera*). De tels sites/loci sont souvent appelés SNPs ('Single Nucleotide Polymorphism') et se réfèrent à la variation d'un seul nucléotide (= les bases A, T, C et G) dans un génome.

TCGAAAAGTCTTTGCCG  
TCGAAAAC TCTTTGCCG

Figure 1 : Un exemple de SNP : les deux portions de génome présentées ci-dessus montrent une variation d'un seul nucléotide (G peut être remplacé par C dans la population). G et C sont les deux allèles (versions) observés dans la population.

En comparaison avec le séquençage du génome d'individus individuels, le séquençage d'un pool (par exemple : une colonie d'abeilles mellifères) ne permet pas de déduire clairement un génotype pour un SNP donné (voir figure 1 Génotype GC). Pour cette raison, on calcule une fréquence allélique pour chaque SNP afin de pouvoir réaliser une étude GWAS. Par exemple, il est possible qu'un groupe d'ouvrières d'une colonie présente une fréquence allélique de 85 % G et une fréquence allélique de 15 % C, alors que le groupe d'ouvrières d'une autre colonie présente pour le même SNP une fréquence allélique de 20 % G et une fréquence allélique de 80 % C. Si ces colonies se distinguent aussi fortement dans l'observation phénotypique et que cette tendance se confirme dans d'autres colonies, ce SNP est un QTL qui a une influence significative sur le caractère d'élevage. A l'aide de cette information issue des marqueurs SNP, les colonies d'abeilles mellifères peuvent être sélectionnées de manière précoce et efficace pour le caractère correspondant, cette procédure est appelée sélection assistée par marqueurs (MAS) en élevage.

### Exemple d'application

En 2018, les génomes de 155 colonies d'abeilles noires (*Apis mellifera mellifera*), échantillonnées en Suisse et en France, ont été étudiés au Centre de recherches apicoles (CRA) en collaboration avec le nouveau groupe de recherche Animal GenoPhenomics. Dans les études GWAS, les caractéristiques suivantes ont été prises en compte : la taille de la colonie, la douceur, la tenue au cadre, le comportement hygiénique, l'infestation par varroa et la réoperculation des cellules de couvain infestées par Varroa.

Des QTL ont pu être identifiés pour la douceur, la tenue au cadre et la réoperculation. Pour les autres caractères, le nombre relativement faible de données (155 colonies) n'a pas permis d'aboutir à un résultat. Les résultats concernant les trois caractères mentionnés précédemment ont fait l'objet de deux publications scientifiques et sont disponibles publiquement (voir la section « Littérature »).

Les résultats concernant la réoperculation, qui est un caractère de résistance potentiel contre Varroa, sont résumés ci-dessous. En effet, pour ce caractère, deux QTL, situés sur les chromosomes 4 et 5 de l'abeille mellifère, ont pu être identifiés avec succès (Figure 2).

Les deux QTL identifiés se trouvent dans des régions génétiques qui ont déjà été associées à d'autres caractéristiques de résistance, comme le comportement d'épouillage de l'abeille mellifère ou l'élimination du couvain infesté (VSH). Notre étude actuelle confirme donc les résultats déjà publiés et montre que les caractéristiques de résistance de l'abeille mellifère actuellement connues pourraient avoir une composante génétique commune.

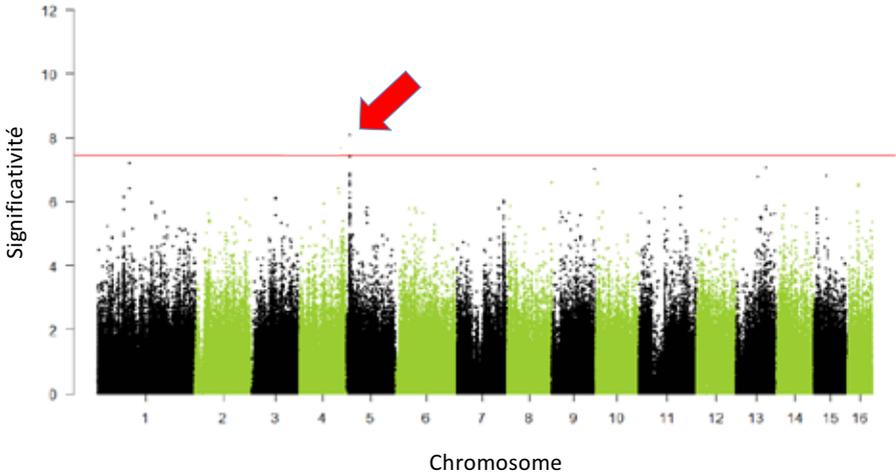


Figure 2: Résultat de l'étude GWAS pour le caractère 'Réoperculation' à partir de 155 colonies d'abeilles noires. Chaque point représente un SNP dont la fréquence allélique a été comparée à la variation phénotypique dans la population. Ces SNP sont répartis sur 16 chromosomes (vert et noir en alternance, axe horizontal); leur position par rapport à l'axe vertical montre leur influence sur le phénotype. Au total, 1,3 million de SNP ont été pris en compte dans l'étude. La ligne rouge représente le seuil de signification au-dessus duquel une influence des allèles SNP sur le caractère est probable à plus de 95%. Le SNP ayant la plus grande influence sur le caractère se trouve sur le chromosome 5 et est indiqué par une flèche rouge.

La représentation de la fréquence allélique du QTL le mieux associé sur le chromosome 5 montre que l'allèle A est positivement corrélé avec la réoperculation; si la fréquence de l'allèle A est supérieure à 50 %, la réoperculation du couvain infesté est significativement plus élevée (Figure 3). Cela pourrait indiquer que les colonies d'abeilles avec une fréquence élevée de l'allèle A sont plus performantes pour réoperculer le couvain infesté.

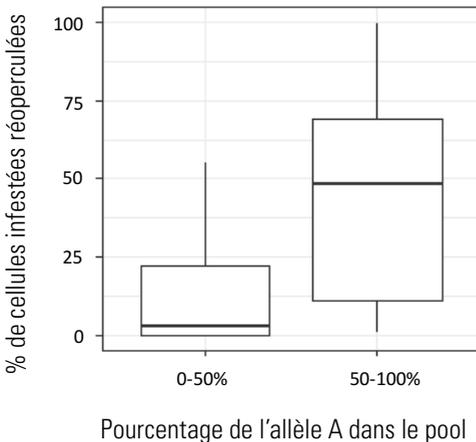


Figure 3: Représentation de la fréquence allélique du QTL le plus significativement associé au phénotype et de la réoperculation du couvain infesté. Les 'box plots' présentent la distribution des colonies pour la réoperculation du couvain infesté: ligne sombre = valeur moyenne; extrémités inférieure et supérieure du rectangle: 1<sup>er</sup> et 3<sup>e</sup> quartiles; moustaches = minimum et maximum, les valeurs supérieures à 1,5 fois l'écart interquartile étant exclues. La différence de distribution entre les deux groupes est significative.

## Quels sont les effets des analyses génomiques sur la sélection ?

La sélection génomique est pratiquée en routine chez certaines espèces, surtout pour les bovins laitiers (p. ex. Holstein), c'est-à-dire que la sélection se fait sur la base de génotypes SNP qui sont positivement corrélés à un caractère d'élevage. Les modèles d'élevage bovin ont montré qu'en fonction de l'héritabilité des différents caractères, plusieurs milliers voire plusieurs centaines de milliers de bovins doivent être génotypés/séquencés pour pouvoir calculer une valeur d'élevage génomique précise et que seuls quelques caractères peuvent être améliorés efficacement à l'aide d'un QTL (MAS). Appliqués à l'abeille mellifère, ces résultats signifient que beaucoup plus de colonies d'abeilles mellifères doivent être étudiées pour confirmer l'association actuelle et élaborer des modèles d'élevage correspondants pour l'abeille mellifère.

Nos premiers résultats permettraient théoriquement une première sélection précoce des colonies d'abeilles mellifères sur la base des QTL identifiés. Ces dernières années, de nouvelles méthodes permettant d'obtenir le génome de la reine de façon non-destructive ont été développées, par exemple sur la base du matériel génétique prélevé dans son cocon (Bubnic et al. 2020). Cette méthode permettrait de sélectionner la reine pour un caractère donné avant même l'évaluation phénotypique. Cette dernière reste néanmoins nécessaire, du moins pour une partie des individus testés, afin d'affiner en permanence la fiabilité des QTL étudiés.

La sélection génomique a entraîné une perte de diversité génétique dans certaines races d'animaux de rente, car l'augmentation de caractères économiquement importants (p. ex. la quantité de lait) s'est faite au détriment d'autres caractères (résistance aux maladies, morphologie). Pour cette raison, il semble souhaitable que l'introduction de la sélection génomique chez les abeilles mellifères s'accompagne d'un suivi de la diversité génétique. En outre, il faudrait privilégier les caractères pour lesquels la mesure du phénotype est particulièrement coûteuse (p. ex. la résistance à *Varroa*). Afin d'éviter des effets indésirables de la sélection pour un caractère, il convient également vérifier les effets de cette sélection sur d'autres caractères, p. ex. au moyen de corrélations génétiques. Au préalable, il faut identifier des SNP fiables et mettre en place une structure pour le stockage des données (données génomiques, phénotypes), ce qui suppose l'accord des apiculteurs pour une telle démarche.

## Conclusion

L'analyse génomique des colonies d'abeilles mellifères a montré qu'il est possible d'identifier avec succès des sites du génome (QTL) qui influencent de manière significative un caractère d'élevage. Sur la base de ces informations, il est déjà théoriquement possible d'effectuer une sélection assistée par marqueurs pour certains caractères. L'introduction de la sélection génomique nécessite encore l'analyse d'un grand nombre d'autres colonies et dépend en outre des progrès scientifiques, des décisions politiques et économiques et de l'accord des apiculteurs impliqués. Pour ces raisons, la mise en œuvre se fera probablement plutôt à moyen ou long terme.

## Littérature



Guichard M., Dainat B., Eynard S., Vignal A., Servin B. The Beestrong Consortium & Neuditschko, M. (2021) Identification of quantitative trait loci associated with calmness and gentleness in honey bees using whole-genome sequences. *Animal Genetics* **52**, 472- 481.



Guichard M., Dainat B., Eynard S., Vignal A., Servin B. The Beestrong Consortium & Neuditschko, M. (2022) Two quantitative trait loci are associated with recapping of *Varroa destructor*-infested brood cells in *Apis mellifera mellifera*. *Animal Genetics* **53**, 156-160

Bubnic, J., Mole, K., Prešern, J., Moškric, A. (2020) Non-Destructive Genotyping of Honeybee Queens to Support Selection and Breeding. *Insects* **11**, 896.

Parejo M., Charrière J.-D., Estonba A. (2021) Outil d'identification génétique des sous-espèces d'abeilles mellifères européennes. *Revue Suisse d'apiculture*, **10**, 522-526.

Wallberg, A., Han, F., Wellhagen, G. et al. (2014) A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature Genetics* **46**, 1081-1088