

# ANALYSE GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS et MESURES MORPHOMÉTRIQUES COMPARAISON DES RÉSULTATS

Joël Collignon

## RÉSUMÉ

L'analyse génétique de 203 abeilles de Seine maritime a été réalisée en 2020 par Lionel Garnery et le laboratoire Evolution Génomes Comportement et Ecologie de Gif-sur-Yvette.

Les résultats de cette analyse ont été comparés abeille par abeille à l'étude morphométrique de leur aile droite.

Résultats de l'analyse génétique de la population d'abeilles échantillonnées : 152 abeilles noires dont 128 pures

75 % des abeilles (n=152) appartiennent à la lignée maternelle M, d'après l'étude réalisée avec l'ADN mitochondrial.

43 % (n=65) sont reconnues de cette lignée par la biométrie.

63 % des abeilles (n=128), d'après l'ADN nucléaire, sont génétiquement « pures », c'est à dire que leur taux d'introgession est inférieur ou égal à 20 %.

48 % (n=62) sont reconnues dans la sélection par la biométrie.

Donc, plus de 50 % des abeilles pures de lignée M ne sont pas repérées par la biométrie.

Résultats de la sélection par la biométrie : 73 abeilles répondent aux critères dont 62 pures

Les 73 abeilles retenues par la biométrie, c'est-à-dire dont l'indice cubital est inférieur ou égal à 2 et le décalage discoïdal inférieur ou égal 0, sont d'après les résultats des analyses ADN à 89 % (n=65) de la lignée M et à 85 % (n=62) pures génétiquement.

Dans une population où 3 abeilles sur 4 sont noires, la biométrie peut aider à identifier une petite partie des souches à reproduire. Toutefois, dans le cas d'élevage de reines par greffage, un œuf prélevé sur 10 en moyenne donnera naissance à une reine hybride.

Ainsi, **la biométrie classique**, telle que pratiquée en Seine maritime, aide à la sélection des *Apis mellifera mellifera* en vue de les reproduire avec une probabilité de 90 %.

Mais, elle **exclut de la sélection plus de la moitié des abeilles pures de la lignée M**. Elle ne permet donc pas de maintenir ou d'améliorer la diversité génétique, notamment dans la population conservatoire.

## INTRODUCTION

En Seine maritime, la morphométrie des abeilles est utilisée pour sélectionner les meilleures colonies d'abeilles noires à reproduire. Trois critères sont étudiés : la couleur de l'abdomen, notamment les taches de couleur plus ou moins jaunes sur le deuxième tergite ; les bandes pileuses du tomentum, précisément celle du quatrième tergite ; la mesure de certaines parties des ailes en vue de calculer à l'aide du logiciel Flügel-Index de Günther Pexa l'indice cubital, le décalage discoïdal et l'indice de Hantel.

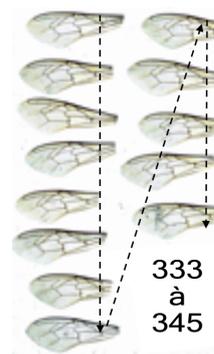
Afin de choisir les meilleures colonies, les limites retenues pour la couleur et les bandes pileuses sont celles définies par Hubert Guerriat sur le site <https://www.mellifica.be/a/reconnaitre-labeille-noire-au-rucher/>

L'objet de ce travail et la comparaison des résultats ne porteront que sur l'indice cubital et le décalage discoïdal.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

Dans le but d'étudier la génétique des populations, « un échantillonnage a été réalisé sur la base d'une abeille par colonie et concerne 203 colonies réparties dans 77 ruchers différents appartenant à 55 apiculteurs. Des tubes d'échantillonnages ont été envoyés par le laboratoire EGCE, et l'échantillonnage a été réalisé par les apiculteurs du CIVAM apicole des boucles de la Seine au niveau local. Une abeille a été prélevée par colonie et conservée de manière individuelle dans un tube Eppendorf de 2 ml contenant de l'alcool à 96% » [1].

Avant l'envoi des tubes au laboratoire, l'aile droite de chaque abeille a été prélevée et placée immédiatement sur un verre humidifié à l'alcool. Une fois terminé, le positionnement des ailes dans l'ordre des numéros de tube, un deuxième verre les a fixées dans leur position. Le montage type « diapositives » a été identifié avec le numéro de la première et de la dernière aile.



Les abeilles utilisées pour l'analyse mitochondriale et l'analyse nucléaire sont les mêmes que celles utilisées pour les mesures morphométriques.

Chaque diapositive a ensuite été scannée à l'aide du scanner à diapositives « Plustek OpticFilm 8100 » et du logiciel SilverFast 8 SEplus. Les images obtenues ont été chargées dans le logiciel de mesures Flügel-Index afin de placer 8 points sur les nervures des ailes et d'obtenir pour chaque abeille l'indice cubital, le décalage discoïdal et l'indice de Hantel.

Les résultats des mesures morphométriques sont présentés sur un diagramme « Indice cubital – Décalage discoïdal » établi par Flügel-Index.

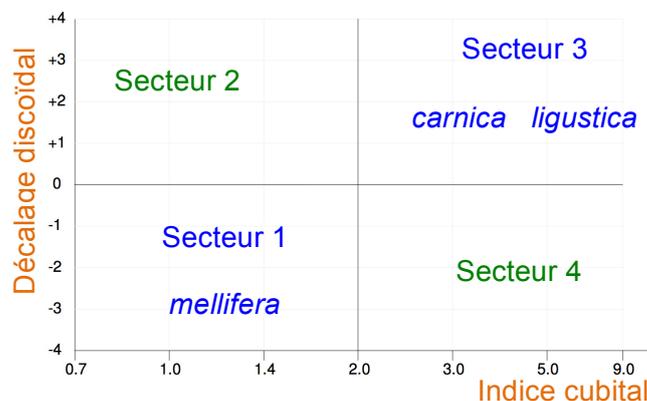


Illustration 1 : Diagramme de l'indice cubital et du décalage discoïdal présenté par le logiciel Flügel-Index

Ce diagramme se découpe en 4 secteurs : le secteur 1, typique de l'abeille noire, *Apis mellifera mellifera*. Le secteur 3 contient notamment les sous-espèces de la lignée C. Les mesures de l'aile fixées par le groupe Abeille noire de Seine maritime correspondent à un indice cubital inférieur ou égal à 2 et un décalage discoïdal inférieur ou égal à 0.

## RÉSULTATS

### 1. Répartition graphique des lignées

« Parmi les 203 colonies étudiées dans la population de la Seine Maritime, 75% ont des profils typiques [ADN] de la lignée M et respectivement 20% et 5% ont des profils mitochondriaux de type C et A » [1].

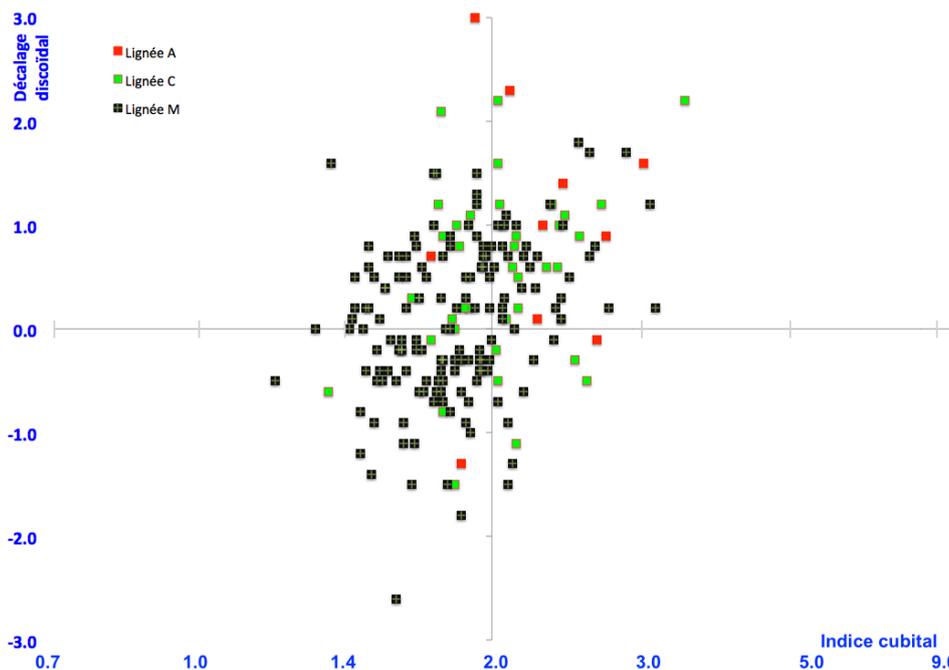


Illustration 2 : Indice cubital et décalage discoïdal mesurés par Flügel-Index et lignée définie par l'ADN mitochondrial. Chaque carré de couleur représente une abeille.

### 1.1 Répartition de la lignée M dans les 4 secteurs du graphique

Les 152 **abeilles noires** *Apis mellifera mellifera* représentées par les carrés noirs se répartissent principalement dans le **secteur 1, 43 %** (n = 65) d'entre elles, et dans le secteur 2, 32 % (n = 49).

Les 41 abeilles de la lignée C occupent à 46 % (n = 19) le secteur 3, et à 24 % le secteur 2 (n = 10).

Enfin, la lignée A se positionne à 60 % (n = 6) en secteur 3.

Secteur	Lignée A	Lignée C	Lignée M	Total
1	1	7	65	73
2	2	10	49	61
3	6	19	30	55
4	1	5	8	14
Total	10	41	152	203

Tableau 1 : nombre d'abeilles par secteur du diagramme « Indice cubital – Décalage discoïdal » et par lignée (IC<=2.0 DD<= 0).

**25 % des 152 abeilles noires**, lignée M identifiée par l'ADN mitochondrial, **ont un indice cubital supérieur à 2.0**, secteurs 3 et 4 ;

**52 % des abeilles noires ont un décalage discoïdal supérieur à 0**, secteurs 2 et 3.

### 1.2 Lignées présentes dans le secteur 1 du graphique

Les 73 abeilles présentes dans le secteur 1 sont d'après les résultats des analyses ADN à 89 % (n=65) de la lignée M

Secteur	Lignée A	Lignée C	Lignée M	Total
1	1	7	65	73
			89 %	

Tableau 2 : nombre d'abeilles du secteur 1 par lignée (IC<=2.0 DD<= 0).

### 1.3 Autres critères de biométrie

Si on choisit un indice cubital différent, par exemple < ou = 1.9 et un décalage discoïdal < ou = 0, les résultats sont moins bons. La part d'abeilles noires de lignée M reconnues par la biométrie tombe de 43 % à 37 % (n=56).

Secteur	Lignée A	Lignée C	Lignée M	Total
1	1	7	56	64
1	2%	11%	88%	100%
1	Part de lignée M		37 % des 152 AbN	

Tableau 3 : nombre d'abeilles par secteur du diagramme « Indice cubital – Décalage discoïdal » et par lignée (IC<=1.9 DD<= 0).

## 2. Répartition graphique des taux d'hybridation

« Le niveau d'introgression nucléaire correspond à la proportion d'allèles provenant d'autres lignées d'abeilles (C, A ou O). Il correspond au niveau d'hybridation des abeilles avec des souches d'importation. Dans le premier cas il représente le niveau d'hybridation général de la population. Ce niveau d'introgression nucléaire est estimé à 15% pour l'ensemble de la population du département de la Seine maritime ce qui est inférieur à l'estimation obtenu avec l'ADN mitochondrial ». [1]

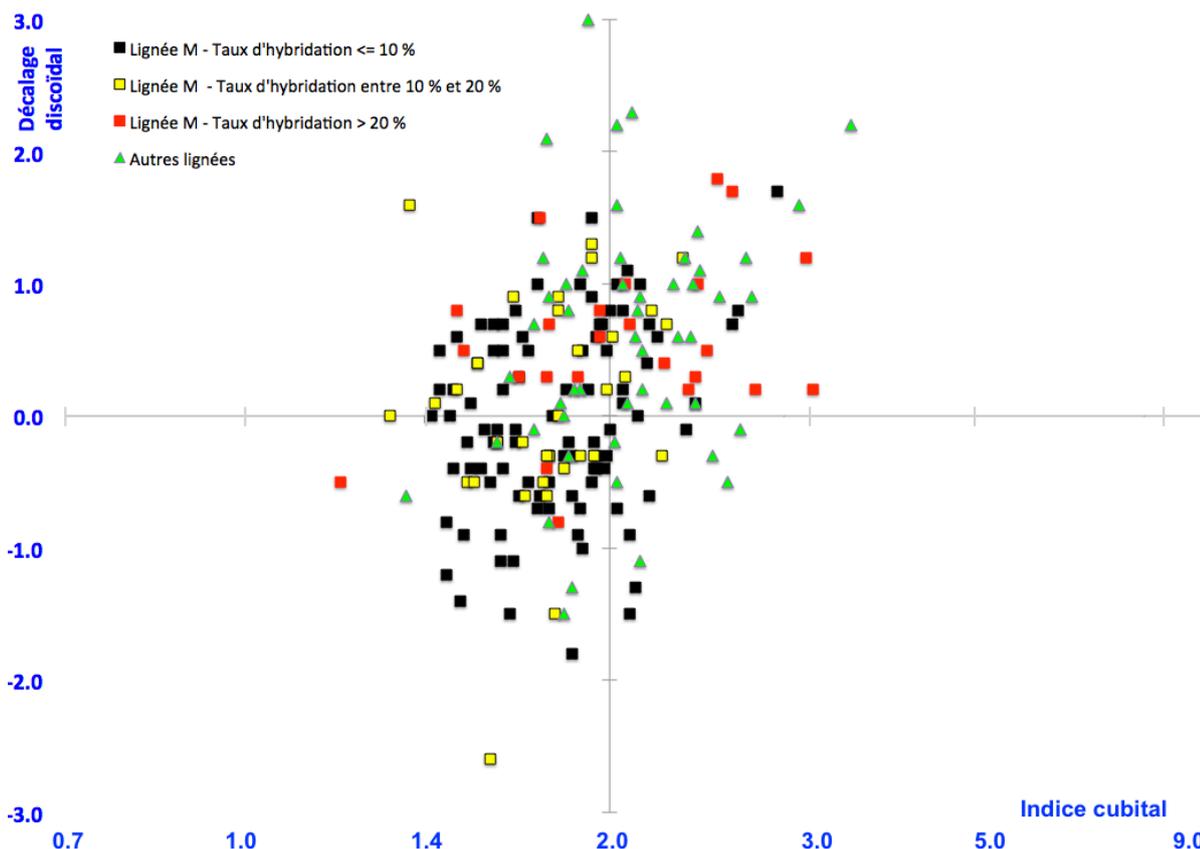


Illustration 3 : Indice cubital et décalage discoïdal mesurés par Flügel-Index et résultats des analyses génétiques de populations. Chaque carré ou triangle de couleur représente une abeille.

Ce second diagramme « Indice cubital-Décalage discoïdal » montre les mêmes 203 abeilles classées cette fois par leur taux d'hybridation symbolisé par une couleur.

En se référant au cahier des charges de la Fédération européenne des conservatoires de l'abeille noire (FEdCAN), le niveau de pureté de la population ne doit pas descendre en dessous de 80% estimé avec les marqueurs moléculaires. Les abeilles répondant à ce critère sont représentées par des carrés noirs ou jaunes.

### 2.1 Répartition des abeilles noires génétiquement pures dans les 4 secteurs du graphique

Comme dans le cas des lignées, les 128 abeilles pures à au moins 80 % se répartissent dans le **secteur 1, 48 %** (n = 62) et le secteur 2, 31 % (n = 40).

Secteur	Lignée M			Autres lignées	Total
	Taux d'hybridation				
	≤ 10 %	> 10 % et ≤ 20 %	> 20 %		
1	46	16	3	8	73
2	29	11	9	12	61
3	13	5	12	25	55
4	7	1	0	6	14
Total	95	33	24	51	203

Tableau 4 : Nombre d'abeilles par secteur du graphique « Indice cubital – Décalage discoïdal » et par taux d'hybridation de la lignée M ou autres lignées

**20 %** (n = 26) des 128 abeilles noires pures à au moins 80 % ont un **indice cubital supérieur à 2.0**, secteur 3 et 4 ; **45 %** (n = 58) ont un **décalage discoïdal supérieur à 0**, secteur 2 et 3.

## 2.2 Abeilles génétiquement pures dans le secteur 1 du graphique

Les 73 abeilles présentes dans le secteur 1 sont d'après les résultats des analyses ADN à 85 % (n=62) pures génétiquement.

Secteur	Lignée M			Autres lignées	Total
	Taux d'hybridation				
	<= 10 %	> 10 % et <= 20 %	> 20 %		
1	46	16	3	8	73
85 %					

Tableau 5 : Nombre d'abeilles du secteur 1 par taux d'hybridation de la lignée M ou autres lignées

## 2.3 Autres critères de biométrie

Il faudrait porter les limites des mesures morphométriques à 2.05 d'indice cubital et 1 de décalage discoïdal pour rassembler 80 % des *Apis mellifera mellifera* « pures », mais la probabilité de sélectionner une abeille noire dans le secteur 1 passe de 89 à 77 %.

IC <=	DD <=	Secteur	Taux d'hybridation			Autres lignées	Total
			<= 10 %	entre 10 et 20 %	> 20 %		
1.9	0	1	38	15	3	8	158
2.0	0	1	46	16	3	8	73
2.05	1	1	78	25	11	19	133
80 %							

Tableau 6 : Nombre d'abeilles du secteur 1, par valeur d'indice cubital et de décalage discoïdal

### 1. Abeilles avec anneau jaune

16 abeilles ont été repérées avec un anneau jaune : 2 sont de lignée A, 6 de lignée C et 8 de lignée M. La moyenne du taux d'hybridation des 16 abeilles est 0.25 ; celle des 8 abeilles M 0,18.

## DISCUSSION

Les abeilles noires sont attendues dans leur secteur typique du diagramme, le secteur 1.

Pourtant, la répartition des 152 *Apis mellifera mellifera* de cette étude est beaucoup plus étendue.

**25 % de la lignée M et 20 % des individus purs**, (taux d'hybridation < ou = à 80 %) ont un **indice cubital supérieur à 2,0**.

**52 % de la lignée M et 45 % des individus purs**, (taux d'hybridation < ou = à 80 %) ont un **décalage discoïdal supérieur à 0**.

Ainsi, seulement 48 % des abeilles noires figurent dans le secteur 1 alors que 52 % sont dans les autres secteurs du diagramme.

La répartition des *Apis mellifera mellifera* dans le diagramme hors du secteur 1 n'est pas nouvelle.

En 2009, Les données de l'étude de Martine Siller [3] proviennent de 192 abeilles autrichiennes.

L'analyse morphométrique a porté sur 3 mesures de l'aile (indice cubital, décalage discoïdal et indice de Hantel), le tomentum et la pilosité.

L'analyse ADN microsatellite a étudié 28 locus dont 24 ou 25 sont très fiables [4] dans le but de déterminer l'introgession de Carnica et / ou de Ligustica dans le génome Mellifera. Le résultat est exprimé en taux de pureté de chaque abeille. Une abeille est considérée de « race pure » en Autriche et en Suisse si le taux d'introgession est inférieur à 10 %, soit une pureté de **90 % minimum**.

L'analyse morphométrique de ces abeilles pures a abouti au diagramme suivant.

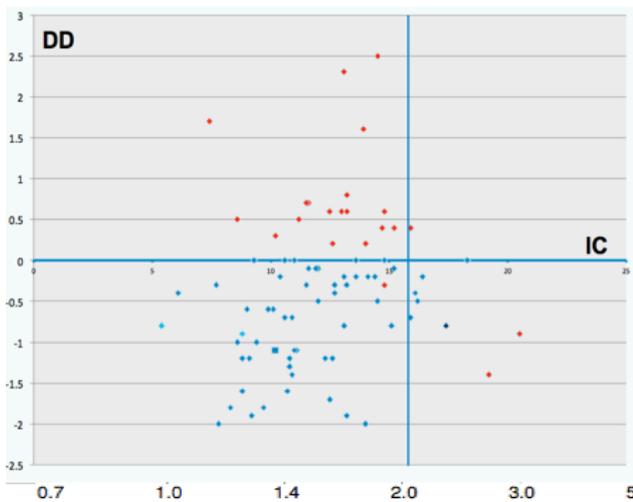
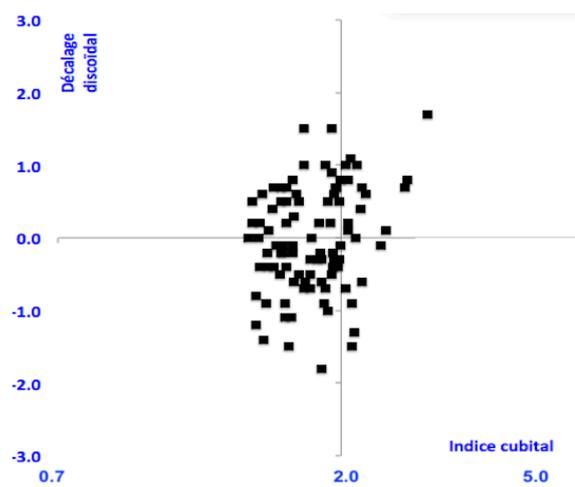


Illustration 4 : Diagramme Indice cubital – Décalage discoïdal des 84 abeilles pures de la collection Martina Siller.



Même diagramme : les 95 abeilles noires de Seine maritime pures à 90 %

Parmi ces 192 Abeilles, 84 répondaient à ce critère. Leur répartition dans les secteurs du diagramme est :  
Secteur 1 : 68 % (n = 57) ; Secteur 2 : 21 % (n = 18) ; Secteur 3 : 1 % (n = 1) ; Secteur 4 : 10 % (n = 8)

Des années plus tôt, Friedrich Ruttner a pu mesurer l'indice cubital et le décalage discoïdal de spécimens historiques datant du 19<sup>ème</sup>, 18<sup>ème</sup>, 13<sup>ème</sup> et 11<sup>ème</sup> siècle provenant de dépôts archéologiques d'York ou d'Oslo et de musées britanniques. Ces abeilles n'ont pas connu l'introggression de sous-espèces allochtones.

Les 81 abeilles les plus anciennes abeilles comptaient **12 % qui avaient un indice cubital supérieur à 2,0** avec un maximum de 2,18.

Parmi les 34 plus récentes, l'indice cubital maximum atteignait 2,09 et le décalage discoïdal maximum + 1,0.

Lieu	Aile avant (mm)		Indice cubital
Caractère	Long.	Largeur	C.I.
<b>a. York (vers l'an 1000)</b>			
n	15	4	51
x	9,565	2,916	1,731 (1,24 - 2,18) > 2,0 : 6
sd	0,133	0,072	0,217
<b>b. Oslo (vers 1200)</b>			
n	1	4	30
x	9,400	2,940	1,700 (1,22 - 2,05) > 2,0 : 4
sd	0,118	0,231	2,1
<b>c. Abeille noire actuelle.</b>			
n			240 abeilles (12 écha
x	9,409	3,112	1,643 (1,10 - 2,06)
sd	0,013	0,091	0,181

Table 4. Caractéristiques de l'aile avant d'abeilles trouvées dans des dépôts archéologiques à York (a) et à Oslo (b) comparées aux valeurs des 12 échantillons d'abeilles noires récents (c) (abeilles de pays du Nord-Ouest européen). n = nombre de spécimens; x = moyennes; sd = standard deviation = écart-type; dimensions de l'aile en mm.

Matériel	Nombre d'échantillons	CI	Ecart discoïdal (mm)	Pilosité (mm)
Ouvrières	16	1,79 (1,40 - 2,09) sd = 0,19	-2,87 (+1,0 - -5,0) sd = 1,72	0,459 (0,400 - 0,596) sd = 0,049
Mâles	15	1,45 sd = 0,26	-5,87 sd = 3,16	• •

Abeilles de Carl von Linné (spécimens collationnés avant 1758)

Abeille	Aile	CI	Ecart discoïdal (mm)	Pilosité (mm)
Abeille 1	aile gauche	1,61	-4,7	•
	aile droite	1,58	-2,5	•
Abeille 2	aile gauche	1,94	-4,5	•
	aile droite	•	-2,5	•
Abeille 3	aile gauche	1,91	-5,0	•
	aile droite	2,06	+1,0	•
Moyenne des six ailes		1,82	-3,33	•

Table 3. Indice cubital, écart discoïdal et pilosité de spécimens historiques de *A. m. mellifera* collectés avant 1850 et conservés dans les musées britanniques. Sd = standard deviation = écart-type.

Tableau 7 et 8 : Travaux de Ruttner et al. [2]

## CONCLUSION

Il faut **distinguer** ce que nous appelons **la pureté « morphométrique »** correspondant aux abeilles dont l'indice cubital est inférieur ou égal à 2, et le décalage discoïdal inférieur ou égal à 0, **de la pureté génétique** définie par un taux d'introggression ou d'hybridation inférieur ou égal à 20 %.

Ainsi, quand on choisit une abeille pure « morphométriquement », donc apparaissant dans le secteur 1 du diagramme « Indice cubital – Décalage discoïdal », la probabilité qu'elle soit une *Apis mellifera mellifera* « génétiquement » pure est de 0,85.

Le risque que cette abeille soit très introgressée ou d'une autre lignée n'est pas négligeable.

De plus, ne choisir que des abeilles du secteur 1 écarte de fait les 66 autres *Apis mellifera mellifera* « pures », soit plus de la moitié.

Ces données concernant des abeilles de différentes colonies. La suite de ce travail sera de comparer morphométrie classique (Flügel-Index par exemple), morphométrie géométrique (Apiclass par exemple) et analyse moléculaire au sein des colonies, colonie par colonie.

Il faut rappeler que si les marqueurs moléculaires nucléaires peuvent fournir un indice de pureté génétique, la morphométrie ne permet pas de définir le taux d'hybridation [5]. Elle ne donne qu'un indice de classement des colonies. Les outils de biométrie permettent de savoir si une zone comporte ou non des traces importantes d'hybridation sans pouvoir en estimer le niveau [6]. Ils deviennent limités dès lors qu'il s'agit d'identifier des abeilles métissées. Ils peuvent même conduire à des erreurs importantes car une abeille peut tout à fait présenter un phénotype très en faveur d'une race sans être de lignée pure voire même en étant assez métissée [5].

## RÉFÉRENCES

- [1] Garnery G (2020). Rapport d'expertise 2020 Projet Apinoire Normandie Analyses génétiques des populations d'abeilles de Seine Maritime Région. Normandie Département de la Seine Maritime
- [2] Ruttner † F., Milner E., Dews J. Traduction Van Dyck J-M. Abeille noire *Apis mellifica mellifica* Linnæus
- [3] Martina Siller, (2009) Données de thèse de master non publiées, université de Vienne, transmises par Balsler Fried, ancien président de l'association des amis suisses des abeilles *Mellifera*
- [4] Analyse moléculaire réalisée par Per Kryger de l'université d'Aarhus au Danemark, identique au protocole de Gabriel Soland en Suisse
- [5] Soland G (2019). Revue Info Reines n° 125 de mars 2019 page 16
- [6] Garnery L (2019). Revue Abeilles en liberté n° 6 : Comment sauver l'abeille noire et les races locales