



NOUVELLE-CALÉDONIE  
Centre de Promotion de  
l'Apiculture



Province des Iles  
Loyauté



## Rapport d'expertise 2017

### Analyses génétiques du cheptel d'abeilles de Lifou



Photographie  
Bahnfrend

Responsable scientifique :

L. Garnery

UMR 9191

Laboratoire Evolution Génomes Comportement et Ecologie

Bât 13, avenue de la terrasse

91198 Gif-sur-Yvette



**Mots clés:** *Apis mellifera* / biodiversité / structure génétique / introgressions génétiques / conservatoire génétique d'abeilles

## INTRODUCTION :

L'aire de répartition naturelle de l'abeille mellifère, *Apis mellifera*, s'étend à l'Afrique, à l'Europe et au Moyen-Orient. Dans son aire de distribution d'origine, 26 à 29 sous-espèces (ou races géographiques) ont été décrites sur la base de caractères morphologiques, écologiques et comportementaux. Cette espèce couvre donc une aire géographique très vaste et montre une variabilité morphologique et génétique très structurée. Une partie de la structuration observée correspond à des adaptations locales (climats, flores, parasites).

D'après des données de morphométrie et de paléogéographie, Ruttner *et al.* (1978, 1988) ont suggéré l'existence de 4 lignées évolutives chez l'abeille, chacune regroupant plusieurs races géographiques: la lignée M (races ouest-méditerranéennes), la lignée A (races africaines), la lignée C (races nord-méditerranéennes), et la lignée O (races proche et moyen-orientales).

Les résultats obtenus par l'analyse du polymorphisme de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ont confirmé la plupart des conclusions de Ruttner. La lignée M est limitée à l'Europe de l'Ouest, et ne comporte que deux races, *A. m. mellifera* (« l'abeille noire ») et *A. m. iberiensis* (Garnery *et al.*, 1992, 1995). *A. m. mellifera*, est trouvée partout en Europe au nord et à l'ouest de l'arc alpin, tandis que *A. m. iberiensis* est limitée à l'Espagne.

La race d'abeille indigène présente en France est *A. m. mellifera*.

D'autres races sont présentes autour de la France :

- en Espagne, *A. m. iberiensis* est une race proche de *A. m. mellifera*, dont elle a longtemps été considérée comme une forme locale (Goetze, 1964).

- en Italie, *A. m. ligustica* appartient à la lignée C, et s'hybride avec *A. m. mellifera* dans les vallées alpines (Sheppard and Berlocher, 1985).

- en Allemagne, *A. m. carnica*, qui appartient également à la lignée C, a été importée massivement il y a quelques dizaines d'années, et a pratiquement remplacé les populations endémiques d'*A. m. mellifera* (Kauhausen-Keller and Keller, 1994). La situation est quasiment identique en Suisse, et au Luxembourg, où les abeilles de la lignée synthétique Buckfast ont été particulièrement introduites ces dernières années.

Par ces frontières, la France est donc perméable, de façon naturelle, à des flux de gènes (liés à la migration naturelle) en provenance de colonies d'abeilles de la lignée C, appartenant aux races *ligustica* (dans le sud-est), *carnica* (dans l'Est) et Buckfast (au Nord-Est).

Sur son aire de répartition, la biodiversité génétique de l'abeille est structurée selon plusieurs facteurs incluant : l'histoire et la démographie des populations, l'adaptation aux conditions locales, les migrations naturelles, et dans certains cas la durée de leur isolement.

Au cours des millénaires, les populations locales d'abeilles se sont, en particulier, adaptées à des conditions climatiques ou aux cycles de floraisons d'espèces végétales particulières, caractéristiques de certaines régions mettant en place une diversité naturelle importante. L'exemple le mieux étudié sur le plan scientifique est l'écotype landais de l'abeille noire.

Certaines pratiques agricoles conduisant à une diminution de la biodiversité végétale, ou à l'utilisation inadaptée de certains pesticides, ainsi que certaines pratiques apicoles, telles que les importations de reines et la transhumance des colonies, peuvent à long terme entraîner la disparition de ces potentialités adaptatives locales. Il est donc particulièrement important, et urgent, de caractériser ces populations d'abeilles bien adaptées au moyen d'outils performants (moléculaires, morphométriques, comportementaux,...), avant d'envisager leur préservation.

Des associations d'apiculteurs, dans plusieurs régions françaises, conscientes de la richesse de leur patrimoine apicole, ont d'ailleurs créés des conservatoires d'abeilles, ou s'apprêtent à le faire.

L'aire de répartition naturelle de cette espèce couvrant l'Afrique, l'Europe et le Proche-Orient, ce sont les importations par l'homme qui ont ensuite conduit à sa présence, puis à sa dispersion en Amérique et en Océanie. Dans le cas de la Nouvelle Calédonie, les premiers essaims auraient été amenés en 1848 par les pères Maristes. L'abeille noire commune d'Europe aurait été installée sur l'Ile des Pins, Lifou et la grande terre.

Un bilan réalisé sur 25 colonies en 2008 sur Lifou et la grande terre fait état que l'essentiel des abeilles d'élevage a une forte dominante italienne (*Apis mellifera ligustica*, ou « abeille jaune » selon l'appellation locale). L'abeille italienne (*Apis mellifera ligustica*) a été introduite en Nouvelle-Calédonie par le Centre de Promotion d'Apiculture à partir de 1982 en provenance essentiellement d'Italie, d'Australie et de Nouvelle-Zélande. Les dernières importations ont eu lieu en 1995. L'hybride de l'abeille noire européenne et de l'abeille jaune italienne est l'abeille la plus fréquente sur la grande terre, l'Ile des pins et Maré (Centre de Promotion de l'Apiculture).

## Objectifs de l'étude :

Cette étude a plusieurs objectifs et s'inscrit dans le cadre général de l'analyse de la diversité morphologique et génétique des populations d'*Apis mellifera mellifera* (« abeille noire ») en France. A l'échelle nationale, le but est d'établir un bilan du cheptel français afin d'étudier l'impact de l'apiculture sur la structuration des populations d'abeilles afin de conserver au travers de la diversité des populations géographiques incluses dans le programme, le maximum de diversité naturelle observée. Cette étude sert donc de support scientifique à la création et au maintien de conservatoires génétiques d'abeilles. Dans le cas de ce travail, l'étude d'impact qui a été réalisée a pour objectif de caractériser la diversité de la population de l'Ile de Lifou. L'abeille noire a été introduite sur Lifou dans les années 1850, ce qui laisse supposer un temps d'acclimatation à son environnement depuis plus d'un siècle et demi. Cette population, ancienne, a donc eu le temps de s'adapter progressivement à son environnement et peut donc constituer un réservoir de gènes d'*Apis mellifera mellifera* qui pourrait servir à l'entretien de cette souche pour la production mais également comme base de formation d'hybrides de production pour d'autres régions si cela est nécessaire.

Ainsi, la collaboration engagée entre le Centre de Promotion de l'Apiculture, les apiculteurs de Lifou et le laboratoire EGCE, a pour objectif de réaliser une étude d'impact visant à (i) caractériser la diversité génétique de la population d'abeilles de l'Ile de Lifou, (ii) déterminer l'impact des pratiques apicoles sur la structuration de la diversité de la population, (iii) déterminer si ces populations sont encore suffisamment pures pour envisager la mise en place de conservatoire d'abeilles *Apis mellifera mellifera*, (iv) proposer un protocole de gestion de la diversité de cette population conservatoire.

La caractérisation de la structure génétique de cette population permettra d'estimer les paramètres de la conservation (estimateurs du niveau de variabilité naturelle de la population) et de caractériser le niveau d'introgression nucléaire et mitochondrial de la population d'abeilles. La connaissance de cette diversité permettra de mettre en place un protocole de gestion de la diversité génétique de cette population conservatoire, qui à terme pourra servir de réservoir de gènes d'origine locale, dans des programmes de sélection et de relance de l'utilisation de la souche locale d'abeilles.

L'équipe du laboratoire EGCE apportera ainsi une expertise qui permettra aux apiculteurs de l'Ile et au Centre de Promotion de l'Apiculture, de mettre en place un programme de gestion de la diversité de cette population afin de maintenir la diversité locale, en limitant les risques d'introgression liés à l'importation de reines ou à la transhumance de ruches et ainsi de mieux gérer le cahier des charges de ce conservatoire.

## Principe de l'étude :

Quand une association apicole régionale souhaite mettre en place un conservatoire d'abeilles, elle doit, d'une part, choisir la meilleure zone pour installer les colonies et d'autre part sélectionner les colonies à conserver.

Les apiculteurs réalisent donc des prélèvements d'abeilles dans plusieurs dizaines de colonies et les envoient à notre laboratoire pour analyses. Les analyses de l'ADN de ces abeilles que nous réalisons nous permettent de désigner les colonies qui ne sont pas, ou seulement peu, introgressées par des allèles en provenance des lignées C, O et A. Par ailleurs, si le choix de l'implantation du conservatoire n'a pas encore été fait par l'association, nos résultats permettent également de proposer d'installer le conservatoire dans la zone géographique où se trouve le plus faible niveau d'introggression.

Dans le cas présent la population analysée n'appartient pas à l'aire de répartition naturelle de l'espèce.

L'étude aura donc pour objectif de déterminer l'origine génétique de la population d'abeilles de Lifou et de déterminer l'impact des importations d'abeilles sur l'Ile, s'il y en a eu. Enfin, si la population d'abeilles est intéressante pour mettre en place un conservatoire, il s'agira de définir les paramètres de la conservation c'est à dire d'estimer le niveau de variabilité de la population.

## **1/ Principe de l'échantillonnage**

Afin de pouvoir analyser les résultats à l'échelle de la population, les ruchers échantillonnés doivent couvrir une zone comprise entre 7 et 15 kilomètres de rayon, dans laquelle sont prélevées 350 abeilles. Une abeille est prélevée par colonie, et l'échantillonnage est réalisé soit systématiquement ou bien de manière proportionnelle au nombre de colonies présentes chez les différents apiculteurs (si la densité de colonies dépasse l'effectif de l'échantillonnage). Ce mode de prélèvement ne permet évidemment pas de caractériser de manière précise chacune des colonies de la zone, mais il permet d'avoir une idée précise de la diversité et de la structure génétique d'une population locale.

## **2/ Principe de l'approche moléculaire**

### **Marqueurs moléculaires**

Deux types de marqueurs moléculaires complémentaires sont utilisés en routine pour étudier la diversité génétique de la population : l'ADN mitochondrial (région intergénique COI-COII) et l'ADN nucléaire (13 locus microsatellites).

L'analyse de l'ADN mitochondrial nous permet de déterminer l'origine maternelle des colonies, et de réaliser une première estimation du niveau d'introggression à l'échelle de la population. L'analyse de l'ADN nucléaire nous permet de déterminer les niveaux d'introggression dans la population et, par là même, de sélectionner des colonies faiblement introgressées pour la constitution de conservatoires génétiques.

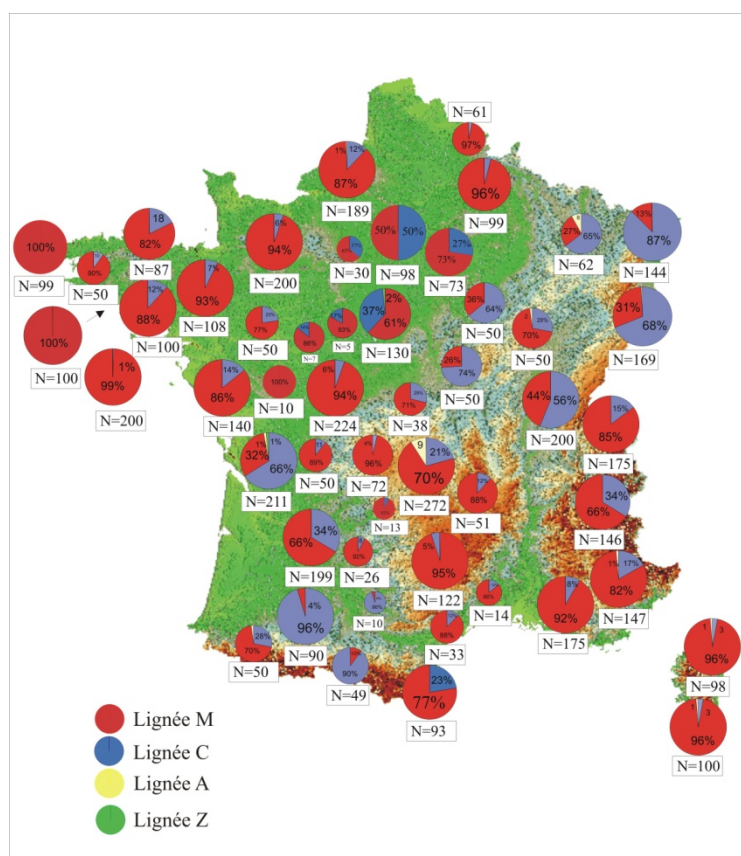
Etant donné que les analyses microsatellites sont très lourdes à réaliser puisqu'elles doivent être faites sur plus d'une dizaine de locus, elles ne sont généralement pas systématiquement réalisées sur toutes les abeilles. Par contre, lorsqu'il s'agit de déterminer précisément quelles colonies peuvent être intégrées dans un conservatoire d'abeilles, ou pour réaliser une analyse fine de la diversité génétique, le niveau d'analyse doit être beaucoup plus précis et l'estimation du niveau d'introggression de la population doit être réalisé avec les deux types de marqueurs. Dans ce dernier cas l'appartenance de la colonie à la race *mellifera* est validée à la fois par l'analyse mitochondriale et par l'analyse microsatellite. Au cours de cette étude les deux types de marqueurs ont été utilisés pour caractériser la diversité génétique de la population de l'Ile de Lifou.

### **L'ADN mitochondrial :**

Un exemple d'études d'impacts réalisées avec l'ADNmt à l'échelle de la France est présenté en figure 1. Celle-ci montre que la proportion des types mitochondriaux appartenant aux différentes lignées évolutives est très hétérogène en France.

Les abeilles ayant une origine maternelle appartenant à la race *mellifera* (lignée évolutive M) restent très prédominantes, et représentaient 73 % des abeilles échantillonnées en 2006. Les abeilles des lignées évolutives C et O en représentent ensemble 26 %, et celles de la lignée A, seulement 1 %. Compte tenu de l'augmentation du commerce des reines à l'échelle de l'Europe ces dix dernières années, les niveaux d'importation évoluent rapidement dans certaines populations françaises et risquent de conduire à la disparition de l'abeille endémique, ce qui montre l'urgence de la mise en place des conservatoires génétiques.

En dehors des zones de frontières, la lignée M est la lignée qui est naturellement présente en France. La présence des abeilles des lignées C et O représente par conséquent le résultat des importations de reines qui ont eu lieu depuis des dizaines d'années, en particulier des races *ligustica*, *caucasica* et *carnica*, et, plus récemment, de la lignée synthétique Buckfast. L'origine des abeilles de la lignée A n'est pas forcément due à des importations, mais à la présence d'abeilles venant naturellement d'Espagne où cette lignée mitochondriale est très présente (Smith *et al.* 1991, Garnery *et al.*, 1998a et b, De la Rua *et al.* 2004).



**Figure 1 :** Proportions des différentes lignées mitochondriales dans les régions françaises (lignée M, en rouge, lignées C et O en bleu, lignée A en jaune). Le nombre d'abeilles analysées est indiqué sous chaque camembert. Bilan du cheptel Français de l'abeille domestique (2004- 2006).

Cette analyse du cheptel français a également révélé que la diversité des haplotypes de la lignée ouest méditerranéenne est dans son ensemble importante et que la répartition de certains haplotypes M peut être différente selon les régions indiquant un début de différenciation à l'échelle nationale. Pour chacune

des régions étudiées, nous avons établi le profil génétique des origines maternelles des colonies et mis en évidence leurs caractéristiques particulières.

### **Les marqueurs microsatellites :**

En complément à cette étude, l'analyse des marqueurs microsatellites permet de déterminer le niveau de diversité génétique à l'échelle de la population, ainsi que le niveau d'introgession (hybridation) de la population et de chacune des abeilles. La cartographie géographique de la diversité génétique devrait nous amener à définir la structuration géographique de la diversité de la population d'abeilles et à trier les colonies qui éventuellement ne seraient pas représentatives de la diversité locale afin de les éloigner de la zone conservatoire.

L'utilisation de plusieurs marqueurs microsatellites (en général une dizaine) permet donc, pour chaque abeille de déterminer le génotype multilocus. A partir de ce typage, il est possible d'établir le niveau de variabilité de la population, en estimant d'une part les fréquences alléliques dans la population pour chaque locus et d'autre part le niveau de variabilité de la population qui est représenté par le niveau d'hétérozygotie (proportion d'hétérozygotes dans la population). Lorsque pour un locus les allèles sont différents entre différentes souches d'abeilles, celui-ci est qualifié de diagnostique et permet d'estimer les introgessions nucléaires (niveau d'hybridation).

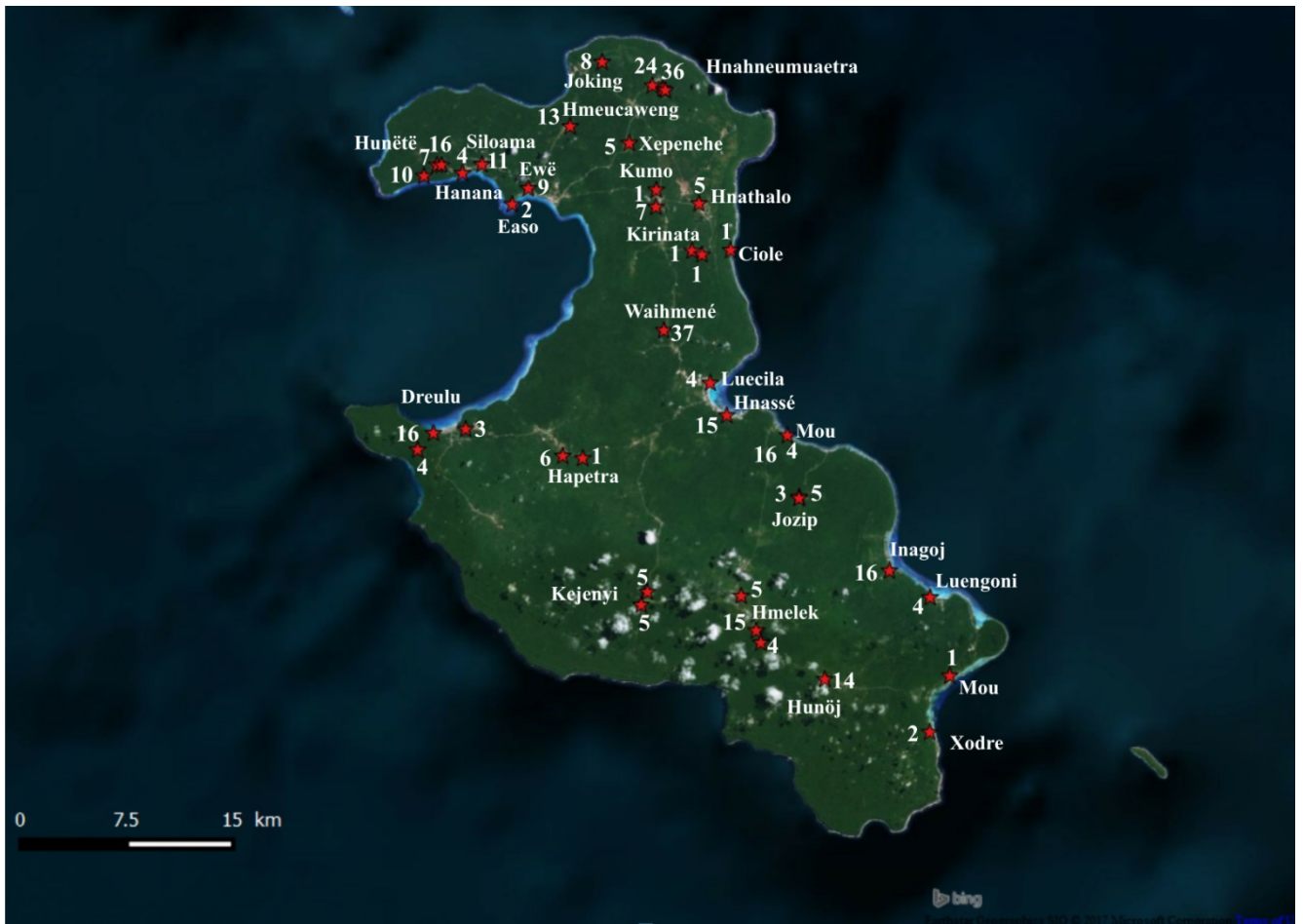
## **Matériels et Méthodes**

### **1/ Echantillonnage des colonies :**

#### ***1-1 / Echantillonnage de la population de Lifou***

Le CPA, assurant le suivi technique des apiculteurs de Lifou, a pu répertorier la plus grande partie des colonies connues de la zone d'étude. A partir de cet inventaire un échantillonnage a été réalisé sur la base d'une abeille par colonie pour environ la moitié des colonies répertoriées sur l'île. Ces abeilles sont conservées de manière individuelle dans un tube Eppendorf de 2 ml contenant de l'alcool à 96%. Après collecte, les différentes boîtes d'échantillons ont été envoyées au laboratoire EGCE du CNRS de Gif pour analyses, accompagnées de leurs feuilles d'échantillonnage respectives.

Un premier échantillonnage a été envoyé en décembre 2016 et comportait 135 colonies. Un échantillonnage complémentaire a été envoyé en juillet 2017. L'échantillonnage final porte sur 346 colonies, réparties dans 40 ruchers appartenant à 38 apiculteurs (figure 2).



**Figure 2** : Carte de répartition des échantillons collectés pour l'étude. Chaque étoile correspond à un rucher. Le nombre de colonies échantillonnées est indiqué pour chaque rucher. Les points de ruchers ont été cartographiés à l'aide du logiciel QGIS à partir des coordonnées GPS indiquées dans la feuille d'échantillonnage.

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

### 1-2/ Populations de référence des lignées M, C, O et A

Afin de replacer la population étudiée dans son contexte évolutif, les échantillons de Lifou ont été comparés à différentes populations de notre base de données. Ainsi, 17 populations appartenant à 12 races géographiques ont servi de référence pour les différentes analyses statistiques. Les populations de référence se répartissent de la manière suivante :

Lignée M (Ouest-Méditerranéenne) :

- Landes (1992) : *A.m.mellifera*, Sud-ouest France (Sabres), n = 45 abeilles
- Ouessant (2005) : *A.m.mellifera*, Conservatoire d'Ouessant ; n = 100abeilles
- Nord(1992) : *A.m.mellifera*, Nord (Valenciennes), n= 54 abeilles
- Charentes maritimes (1992) : *A.m.mellifera*, Ouest France, n = 29 abeilles

Lignée C (Nord-méditerranéenne)

- Slovénie (2005), *A.m.carnica*, n = 91 abeilles
- Bulgarie (1998), *A.m.carnica*, n = 50 abeilles
- N\_Grèce, 1992 ), *A.m.macedonica*, Grèce septentrionale (Chalkidiki), n = 30 abeilles
- S\_Grèce (2004), *A.m.cecropia*, Grèce péloponèse (Argos), n = 49 abeilles
- Italie (1993), *A.m.ligustica*, Italie (Forli), n = 30 abeilles

#### Lignée O (Orientale)

- Arménie (1993), *A.m.armeniaca*, Arménie (Erevan), n = 17 abeilles
- Caucase (1999), *A.m.caucasica*, Géorgie (Tbilissi), n = 23 abeilles
- Turquie (2004), *A.m.anatoliaca* Turquie(Mugla), n = 48 abeilles

#### Lignée A (Africaine)

- Maroc (1992), *A.m.major*, Maroc (Al Hoceima), n = 28 abeilles
- Algérie (2004), *A.m.intermissa*, Algérie (Annaba), n = 31 abeilles
- Guinée (1992), *A.m.adansoni*, Guinée (mont Nimba), n = 22 abeilles

#### Groupe Z (Proche-Orient)

- Syrie, *A.m. syriaca*, n = 96 abeilles

Lignée synthétique Buckfast, n = 25 abeilles

## **2/ Extraction des ADN totaux :**

Les ADN totaux de chaque individu ont été extraits à partir de la tête de chaque abeille provenant de chacune des colonies échantillonnées. Les extractions ont été réalisées en utilisant la méthode du chelex de Walsh *et al.* 1991, modifiées par Garnery *et al.* 1995. Après dissection, chaque tête est broyée individuellement dans 600 µl de solution Chelex à 10%. Les protéines sont éliminées par un traitement à la protéinase K pendant 1h30 à 50 °c. Ensuite la protéinase est dégradée par chauffage des tubes à 95°C pendant 15 minutes. Cette dernière opération est répétée deux fois.

Les tubes d'extraction sont ensuite centrifugés pendant 10 minutes à 12 000 rpm et stockés à -20°C avant leur utilisation pour l'amplification d'ADN. Cette méthode permet de garder le maximum d'ADN en particulier lorsque l'échantillon à amplifier n'en contient que peu.

Ces ADN extraits sont utilisés aussi bien pour caractériser la diversité mitochondriale que la diversité nucléaire.

## **3/ Marqueurs moléculaires utilisés:**

### ***3-1/Le Test mitochondrial***

L'ADN mitochondrial est une molécule circulaire contenue dans les mitochondries des cellules. Contrairement à l'ADN nucléaire, la transmission de cette molécule est uniquement maternelle. Chez l'abeille domestique, l'ADN mitochondrial a donc un très fort pouvoir de marqueur de colonie puisque toutes les ouvrières d'une même colonie ont la même mère.

Ainsi, l'étude d'une seule abeille suffit à caractériser la colonie. La transmission maternelle de la molécule en fait un marqueur particulièrement adapté à la détermination de l'origine maternelle d'une colonie et par conséquent de l'origine maternelle de la reine.

L'utilisation de l'ADN mitochondrial est basée sur le test COI – COII (Garnery *et al.* 1993). Un fragment de restriction présentant une variabilité de longueur en fonction de l'origine des lignées évolutives M (Ouest Méditerranéenne), A (Africaine), et C (Nord méditerranéenne) est utilisé en routine par notre équipe pour caractériser l'origine maternelle des colonies. Le test utilisé repose sur l'amplification de la région intergénique située entre les gènes des sous-unités I et II de la cytochrome oxydase, suivie de sa digestion par l'enzyme de restriction *DraI*. Ce test est particulièrement adapté aux estimations des introgressions maternelles dans la population (Garnery *et al.* 1995; 1998a; Franck *et al.* 1998, 2000, 2001; De la Rua *et al.* 1998).

Ce test permet de caractériser d'une part la lignée évolutive (M, A, C et O) d'origine de chaque colonie, mais également montre un polymorphisme intra-lignée, qui permet de déterminer, parmi l'ensemble des haplotypes observés, ceux qui peuvent éventuellement correspondre à des variants locaux. Ce test est

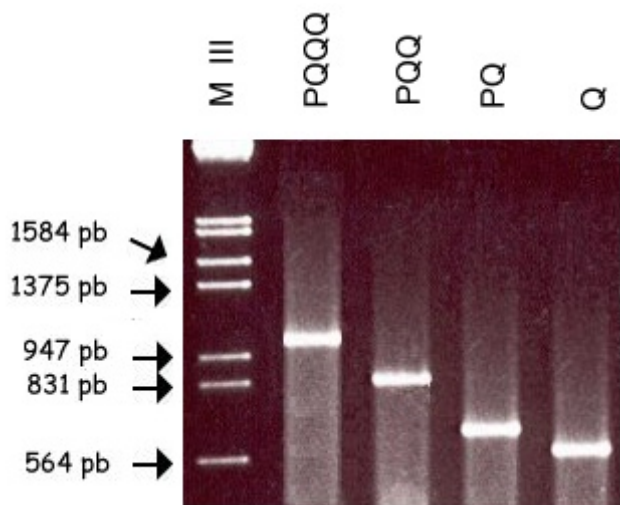


également un premier reflet des introductions actuelles et passées d'abeilles allochtones. Il est à noter que les abeilles de la lignée O ne sont pas distinguables de celles de la lignée C par le test mitochondrial, mais le sont par le test microsatellites.

Pour une population d'abeilles donnée, l'étude de l'ADNmt permet donc de déterminer le niveau général d'introgession maternelle de la population, qui est formulé à partir du pourcentage d'abeilles provenant de chaque lignée évolutive ( $x_1$  % de la lignée M,  $x_2$  % des C et O et  $x_3$ % de la lignée A).

### 3-1-1) Détermination de la taille de la région COI-COII

La région intergénique COI-COII de l'ADN mitochondrial (ADNmt) a été étudiée selon le protocole décrit par Garnery *et al.* (1993). La région intergénique, COI-COII est amplifiée par PCR (Polymerase Chain Reaction) en utilisant deux amorces (E2 et H2). Les produits de PCR sont ensuite déposés sur gel d'agarose 1.4% et sont soumis à une électrophorèse. La figure 4 montre les différents profils de migration obtenus après amplification de la région intergénique.



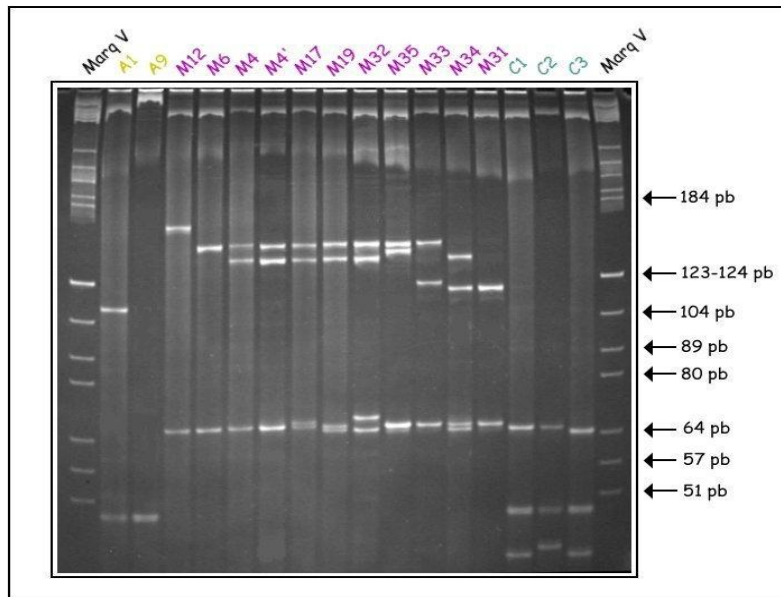
**Figure 3:** Profils de migrations sur gel d'agarose correspondant aux différentes longueurs de la région intergénique COI-COII.

- La longueur Q est caractéristique des lignées C et O.
  - Les fragments de taille PQ, PQQ et PQQQ sont caractéristiques de la lignée M.
  - Les structures PoQ et PoQQ sont confondues, sur gel d'agarose avec les PQ et PQQ mais caractérisent la lignée A.
- Les colonies Buckfast sont en général originaires de la lignée C.

Afin de distinguer les lignées M et A (dont la différence de taille P/P<sub>0</sub> n'est pas visible sur gel d'agarose), et de caractériser de manière plus précise les différents haplotypes présents dans une population, les amplifiats obtenus vont être soumis à une digestion par l'enzyme de restriction *DraI*

### 3-1-2) Détermination des haplotypes après digestion par l'enzyme *DraI* :

Après digestion de restriction par l'enzyme *DraI* les produits de digestion sont déposés sur gel polyacrylamide (figure 4). Ceci permet de révéler qu'il existe un polymorphisme important à l'intérieur des lignées, qui montrent différents types mitochondriaux (haplotypes).

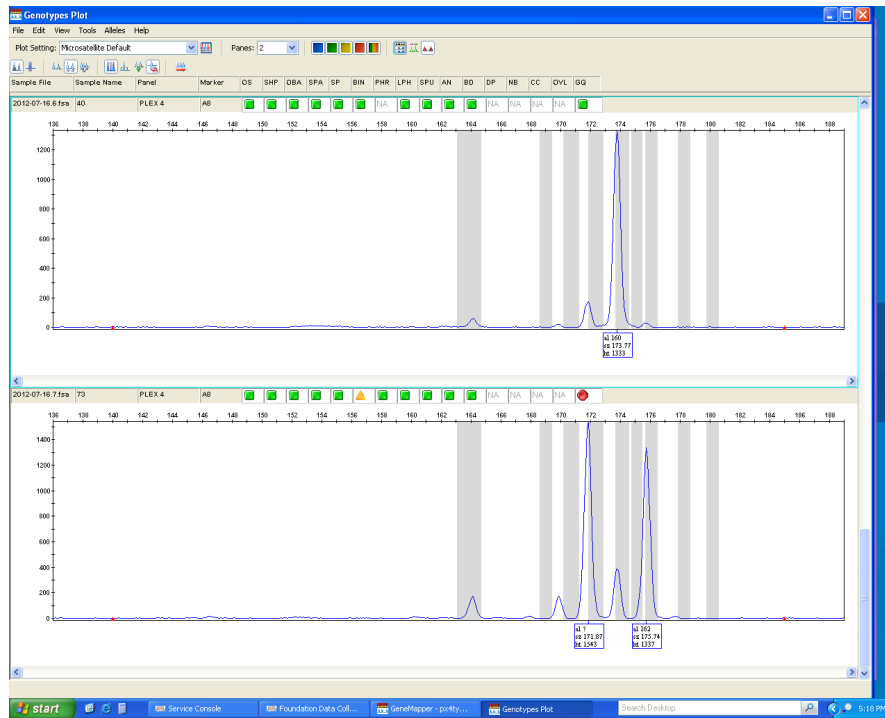


**Figure 4:** Exemple de profils de restriction de la région COI-COII après digestion par l'enzyme DraI (les lettres correspondent aux lignées évolutives, suivi du numéro d'haplotype dans la lignée). Les haplotypes sont codés en fonction de leur appartenance à une lignée et comportent chacun un numéro exprimant la diversité intra lignée (exemple M4 = haplotype 4 appartenant à la lignée M). Il est à noter que parmi les profils C, les haplotypes C1 et C3 sont les haplotypes rencontrés chez les abeilles carnica et constituent également la base maternelle de la lignée Buckfast du Frère Adam.

### 3-2/ Les marqueurs microsatellites :

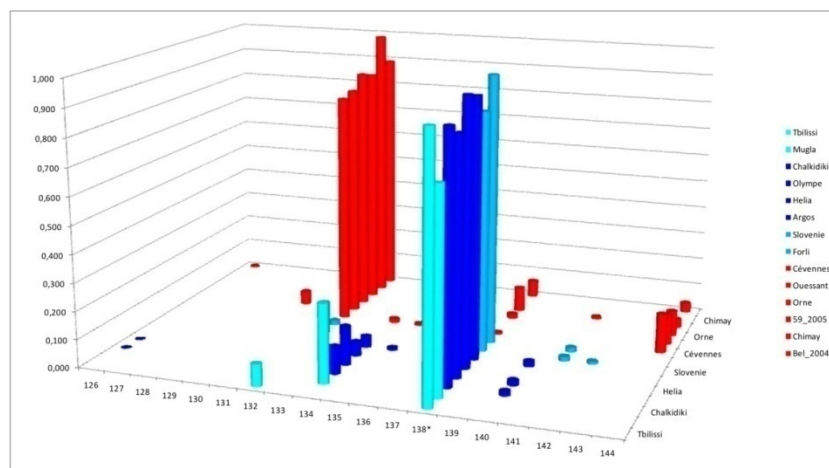
Les marqueurs microsatellites sont des marqueurs à hérédité biparentale. Ils sont composés de séquences répétées (*ie* : [CA]*n*) pour lesquels les formes alléliques sont liées au nombre de répétitions du motif. Le nombre de répétitions de chaque motif détermine la taille de l'allèle. Chaque allèle trouvé pour chacun des locus est donc caractérisé par une taille qui lui est propre, et c'est cette taille qui est analysée après passage au séquenceur automatique.

Chaque ouvrière (ou reine) possède deux allèles pour chaque locus, un provenant de la mère et l'autre provenant du père alors que les males haploïdes (issus d'œufs non fécondés) ne porteront que l'allèle d'origine maternelle. Les allèles peuvent être soit différents (l'abeille est alors qualifiée d'hétérozygote à ce locus), soit identiques (dans ce cas elle est homozygote à ce locus). La proportion d'hétérozygotes dans une population est un indice de la diversité génétique de la population. La figure 5 illustre le profil de 2 individus (ouvrières) au locus A8, le premier individu est homozygote pour l'allèle 160, le second est hétérozygote pour les allèles 158 et 162.



**Figure 5** : Exemples de profils de migration au séquenceur automatique de deux ouvrières génotypées au locus A8. Le premier individu est homozygote pour l'allèle 160 et le second, hétérozygote, porte les allèles 158 et 162.

Au cours de l'évolution d'une espèce, l'effectif des populations d'abeilles peut varier et entraîner des phénomènes de dérives génétiques, qui vont fixer des allèles dans certaines populations et des allèles différents dans d'autres populations. C'est ce qui s'est produit lors des glaciations du quaternaire dans les différentes zones refuges que constituaient la péninsule ibérique, l'Italie, la Grèce et le Caucase. La figure 6 illustre les fréquences alléliques observées au locus A28 dans différentes populations des lignées évolutives M, C et O. Il apparaît clairement sur cette figure que les allèles 132 et 144 sont spécifiques des populations de la lignée M, et que les allèles 134 et 138 sont spécifiques aux lignées C et O. C'est à l'aide de ces locus diagnostiques et de ces allèles spécifiques (allèles diagnostiques) que sont estimés les niveaux d'introgression.



**Figure 6** : histogramme des fréquences de 14 populations d'abeilles au locus A28. Le premier axe représente les différents allèles présents dans la population (représentés par leur taille), le second axe la fréquence de chacun des allèles et le troisième axe est celui des populations. Les populations des lignée O, C, et M sont représentées par des couleurs différentes : En bleu cyan pour la lignée O, en bleu foncé et bleu clair pour les populations de la lignée C (issues respectivement des refuges Grec et Italien) et en rouge pour la lignée M.

Dans les populations d'abeilles où les apiculteurs-éleveurs interviennent peu, les reines vierges et les mâles des ruchers environnants se fécondent naturellement, et les niveaux d'introgression évalués par chacune des deux méthodes (ADN mitochondrial et microsatellites) ne sont pas sensiblement différents.

Par contre, dans le cas où des élevages intensifs de reines d'une race déterminée sont réalisés, alors que des mâles de différentes races sont présents dans les ruchers environnants, il pourra y avoir une différence entre les niveaux d'introgression maternel (caractérisés avec l'ADN mitochondrial) et paternel (caractérisés avec les marqueurs microsatellites). Par exemple, si l'apiculteur élève des reines noires, et qu'elles sont fécondées dans la nature par un mélange de mâles noirs et de mâles *ligustica* (liés à la présence de ruchers d'abeilles italiennes à proximité de ses ruchers), l'analyse de l'ADNmt des ouvrières qui descendent de ces fécondations ne montrera aucune introgression (« pur noir »), alors que l'ADN nucléaire (microsatellites) montrera des niveaux d'introgressions supérieurs pour des abeilles provenant de la même colonie.

Dans cette étude 13 locus microsatellites (A124, A43, A88, A24, Ap33, A8, A113, Ap43, A7, A28, Ap55, Ap81 et Ap66) ont été utilisés. La plupart d'entre eux sont considérés comme particulièrement discriminants entre les lignées M et C (Garnery *et al.* 1998b).

Le protocole d'amplification de ces locus utilise les conditions générales décrites par Estoup *et al.* (1995), modifiées par Garnery *et al.* (1998b).

#### **4/ Analyses statistiques des données :**

Une population donnée appartient à une lignée particulière (M, C, A ou O) qu'il est possible de caractériser à partir des distances génétiques que l'on peut calculer entre cette population et des populations de « référence » appartenant à ces lignées. L'analyse de la matrice de distances entre populations nous permettra de déterminer la position de la population étudiée au sein de la diversité naturelle de l'espèce (représentée par les populations de référence).

Ce calcul de distance peut être réalisé d'une part entre toutes les populations pour connaître, la position de la population étudiée et d'autre part, entre tous les individus (colonies) de ces populations, ce qui permet de mettre en évidence une éventuelle hétérogénéité dans la zone étudiée et de caractériser la position de chaque abeille individuellement au sein de la diversité de l'espèce.

##### ***4-1/ Estimations des distances génétiques entre populations et entre individus :***

Les distances génétiques qui séparent les populations les unes des autres ont été calculées à l'aide du logiciel POPULATIONS (version 1.2.21, Langella, 1999). Les distances entre populations (i) ont été calculées à l'aide de la formule de Cavalli-Sforza et Edwards (1967) qui constitue, avec la distance  $DA$  de Nei, la meilleure estimation de distance génétique pour les études populationnelles (Takesaki et Nei, 1996). Les distances entre individus (ii) ont été calculées à partir de la distance des allèles partagés ou distance  $DAS$  (Shared Allele Distance; Chakraborty et Jin, 1993).

##### ***4-2/ Analyse hiérarchique des populations : les arbres de proximité***

La reconstruction des arbres de proximité génétiques a été réalisée à l'aide de l'algorithme du Neighbor-Joining (Saitou et Nei, 1987), et la visualisation des populations sur l'arbre a été réalisée avec le logiciel TREEMAKER (Cornuet *et al.*, 1999). Un regroupement de populations est validé par une valeur de bootstrap correspondant au pourcentage de chance de trouver ce regroupement à partir de 2000 tirages aléatoires effectués sur les individus.

##### ***4-3/Analyses en Coordonnées principales sur la matrice de distance entre populations:***

L'arbre phylogénétique ne permettant pas de déterminer l'importance de tous ces regroupements dans leur ensemble et les uns par rapport aux autres, il est utile de réaliser une analyse multivariée (ACP-Analyse en Coordonnées Principales). Cette analyse, complémentaire a été effectuée avec le programme NUES (version 0.8, Langella 2001) qui permet une visualisation rapide de l'emplacement des populations (ou des individus) les un(e)s par rapport aux autres grâce au logiciel graphique XGOBI (version 1.1).

#### 4-4/ Analyse de la structure génétique de la population :

La structuration géographique d'une population peut être d'origine naturelle (ie. sélection, migration) ou d'origine humaine (ie. importations, transhumance). Cette structuration est déterminée par les estimations des fréquences alléliques et/ou haplotypiques, de la diversité haplotypique et des niveaux d'hétérozygoties des populations. Ces derniers estimateurs ont été calculés respectivement à l'aide des formules de Nei & Tajima (1981) et Nei (1978). Afin d'obtenir l'ensemble de ces paramètres ainsi que celui du comportement reproducteur de la population, des tests exacts (équilibre de Hardy-Weinberg et déséquilibres de liaison) ont été réalisés à l'aide du programme GENEPOP (version 3; Raymond et Rousset, 1995).

Le classement des colonies a été obtenu à l'aide du logiciel GENECLASS (version 1.0.02; Cornuet *et al.*, 1999). Ce programme permet d'affecter les colonies à des populations de référence, c'est à dire de calculer des probabilités d'appartenance de chaque individu à un échantillon (race géographique, ou lignée évolutive), probabilités fondées à partir des méthodes fréquentielle (Paetkau *et al.*, 1995), ou Bayésienne.

Une analyse complémentaire de la structure génétique de la population consiste à déterminer sans *a priori* le nombre de groupes (K) génétiquement homogènes en utilisant un algorithme Bayésien implémenté dans le logiciel STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). L'analyse est effectuée sur un total de 1089 échantillons comprenant les échantillons de l'étude ainsi que les échantillons issus des populations de référence des lignées M ; A ; C ; O ; Z. Nous avons effectué 10 répliques pour chaque valeur de K comprise entre 1 et 10. Afin d'identifier le nombre de groupes génétiquement homogènes (choix du K le plus probable), nous calculons la statistique du  $\Delta K$  décrite par Evanno *et al.* (2005). Enfin, le logiciel DISTRUCT 1.1 (Rosenberg, 2004) permet de représenter graphiquement les résultats.

## Résultats :

### Caractérisation de l'origine maternelle des ouvrières:

#### 1) Détermination de la taille de la région COI-COII

Sur les 346 colonies échantillonnées, 346 colonies ont pu être amplifiées et analysées. Des exemples de gels de migration en agarose des produits de PCR sont présentés en annexe 1. Le tableau 1 présente un exemple de résultats obtenus avec le test mitochondrial. La totalité des résultats obtenus sur l'ensemble des colonies est présentée dans l'annexe3.

Echantillon	Longueur	Haplotype	
Lif 1	PQQ	M 4	*
Lif 2	PQQ	M 4	*
Lif 3	PQQ	M 4	*
Lif 4	PQQ	M 4	*
Lif 5	PQQQ	M 4'	*
Lif 6	PQQ	M 4	*
Lif 7	PQQ	M 4	*
Lif 8	Q	C 2	*
Lif 9	PQQ	M 4	*
Lif 10	PQQ	M 4	*
Lif 11	PQQ	M 4	*
Lif 12	PQQQ	M 4'	*
Lif 13	PQQ	M 4	*
Lif 14	PQQ	M 4	*
Lif 15	PQQQ	M 4'	*
Lif 16	PQQ	M 4	*

**Tableau 1** : Exemples de résultats de l'analyse mitochondriale. La première colonne correspond au numéro de l'échantillon. La seconde colonne à la longueur du fragment amplifié (organisation structurale de la région intergénique). La troisième colonne présente le numéro d'haplotype correspondant à un profil de migration particulier. Ce numéro d'haplotype est précédé par une lettre correspondant à la lignée évolutive d'origine.

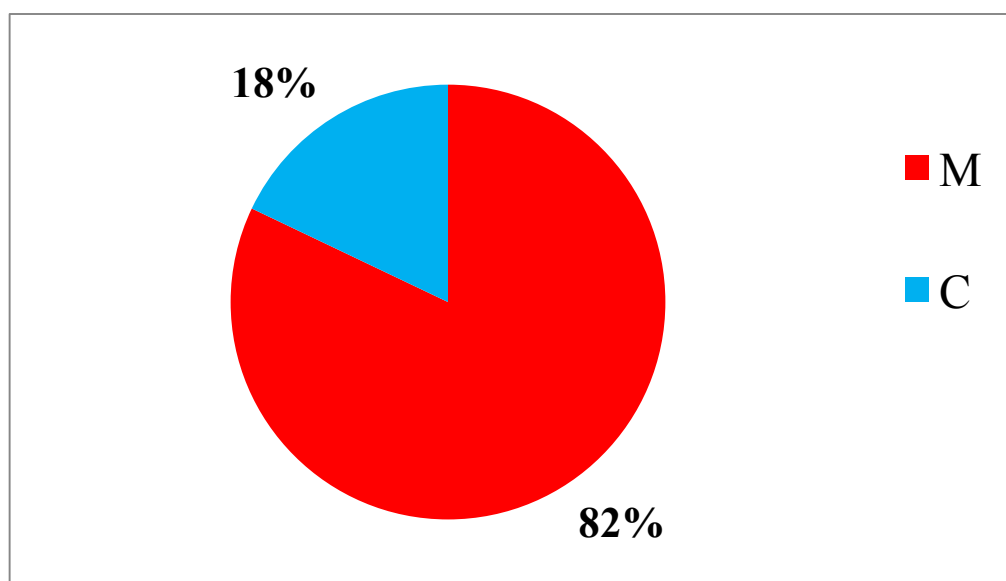
## 2) Détermination des haplotypes après digestion par l'enzyme *DraI*

Des exemples de gels de migration en poly-acrylamide, après digestion du produit de PCR par l'enzyme *DraI*, sont présentés en annexe 2. Des exemples d'interprétations des profils de migration sont présentés en troisième colonne du tableau 1. Dans cette colonne la lettre indique la lignée d'origine de l'échantillon (M, A ou C) et le numéro correspond au numéro d'haplotype dans la lignée.

L'analyse de la population de Lifou a permis de révéler la présence de 5 haplotypes (profils de migration) différents appartenant à deux lignées évolutives différentes. Parmi ces haplotypes, 3 appartiennent à la lignée Ouest méditerranéenne (M) et 2 sont originaires de la lignée Nord méditerranéenne (C).

Il est à noter qu'aucun haplotype originaire des lignées A et Z n'a été détecté dans la population.

Parmi les 346 colonies étudiées sur l'île de Lifou, 82% ont des profils typiques de la lignée M et 18% ont des profils mitochondriaux de type C (figure 7). Le tableau 2 présente les fréquences de chacun des haplotypes dans la population échantillonnée.



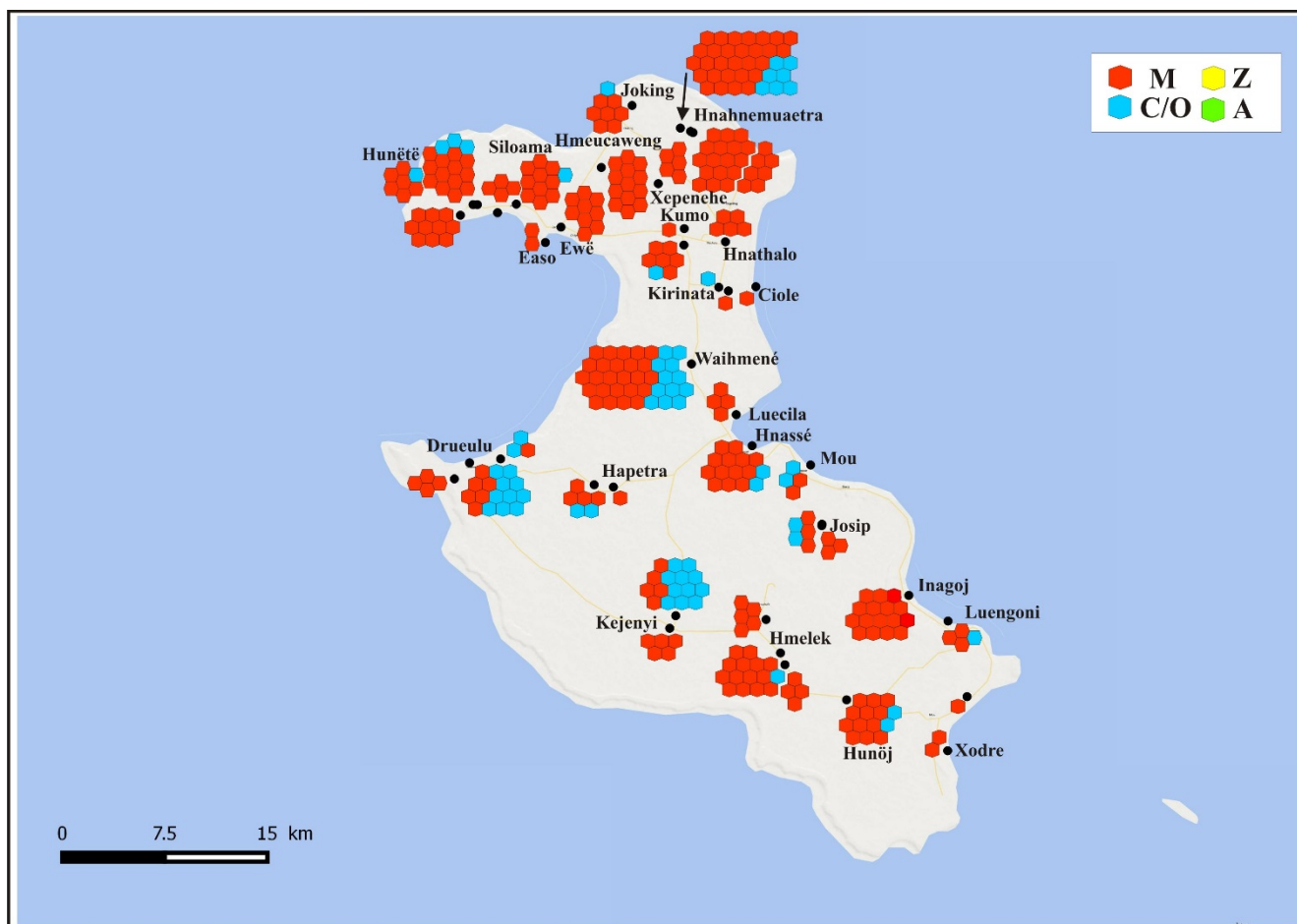
**Figure 7** : Diagramme des fréquences des différentes lignées dans la population.

Haplo.	Freq.
C 1	0,0667
C 2	0,113
M 4	0,639
M 4'	0,176
M 9'	0,006

**Tableau 2** : Fréquence des différents haplotypes observés dans la population.

La figure 8 montre la répartition géographique des haplotypes dans la zone échantillonnée et par rucher. Sur cette figure chaque colonie échantillonnée est représenté par un hexagone. Les haplotypes de la lignée M sont en rouge, ceux de la lignée C en bleu.

On constate une certaine hétérogénéité dans la composition des différents ruchers. Par exemple, la plupart des ruchers sont composés essentiellement de colonies appartenant à la lignée M (Inagoj, Hnathalo, Easo, Ewé, Hmeucaweng) alors que d'autres montrent un mélange d'haplotypes M et C (Waihmené, Drueulu, Hnahnemuaetra).



**Figure 8** : montrant la localisation des haplotypes M et C dans la zone échantillonnée. La répartition des types mitochondriaux est représentée en fonction des différents ruchers (hexagones collés). Le types mitochondriaux d'origine M sont en rouge, les types C (Nord-méditerranéens) en bleu, le types A (africains) en vert et Z (proche-orient) en jaune (ces deux derniers types sont absents de l'étude).

#### Diversité des haplotypes C :

La population de Lifou est composée de 18% de colonies appartenant à la lignée C.

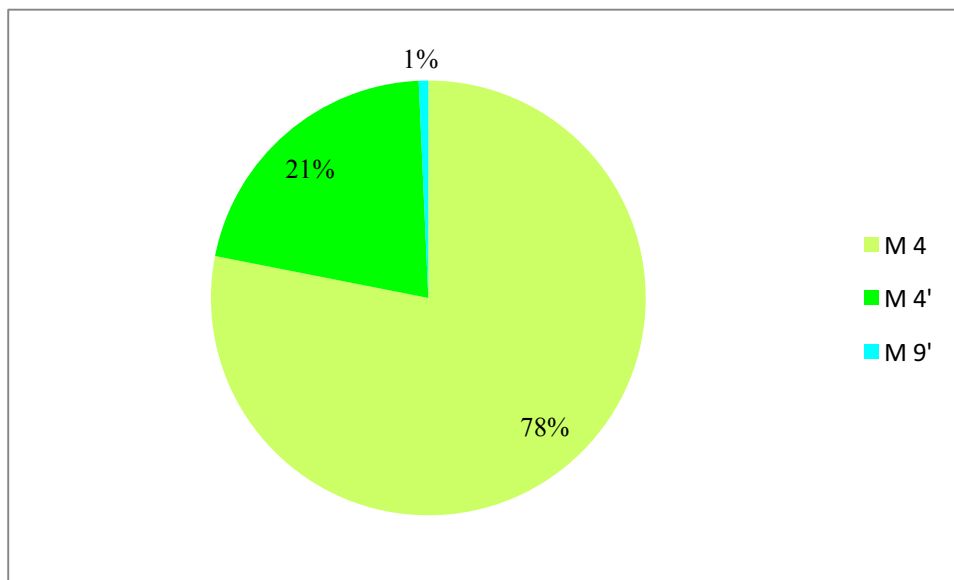
Parmi les types C, on observe 2 variants. Ces deux haplotypes, C 1 et C 2 montrent des fréquences respectives de 6,7% et 11,3%.

L'haplotype C1 occupe une aire de répartition importante dans sa lignée d'origine puisqu'il est observé depuis le nord de l'Italie jusqu'au Caucase. Il peut donc correspondre à des importations d'*A.m. carnica*, d'*A.m. cecropia*, ou encore d'*A.m. caucasica*. Il est donc peu informatif quant à son origine. Cet haplotype représente 6,7 % des échantillons de l'Ile de Lifou.

L'haplotype C2 est uniquement observé en Italie ce qui montre une origine Italienne des importations. Ce type mitochondrial représente 11,3% des colonies qui portent cet haplotype d'origine Italienne.

#### Diversité des haplotypes M :

La figure 9 présente les fréquences des différents haplotypes M dans la population étudiée. L'analyse de la population de Lifou met en évidence la présence de 3 haplotypes appartenant à la lignée mitochondriale M.



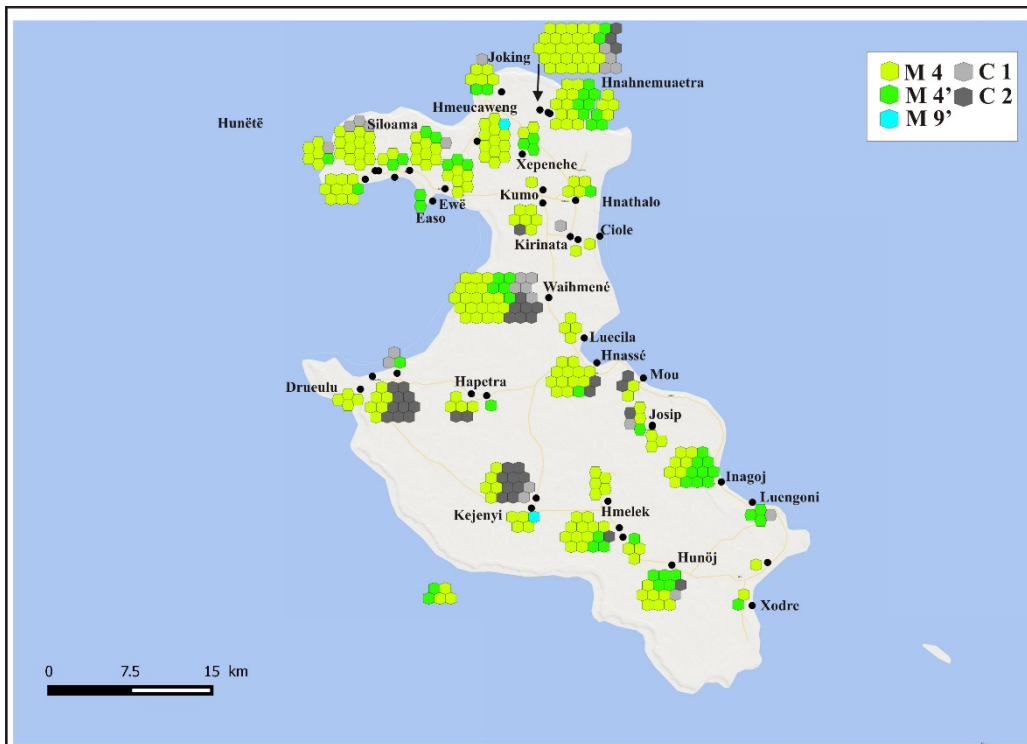
**Figure 9 :** Diagramme présentant les fréquences des 3 différents haplotypes M dans la population de Lifou (après avoir exclu les haplotypes C).

L'haplotype M le plus fréquent est le M 4, et représente 64 % des haplotypes de la population échantillonnée et 78 % des haplotypes M. Il correspond à l'haplotype le plus commun observé en France métropolitaine, avec les haplotypes M 4' (représentant ici 21% des haplotypes M) et M 6 (non observé dans cette étude). L'haplotype M 9' représente moins de 1% des haplotypes M (seulement deux observations). Ces trois haplotypes correspondent à des haplotypes locaux de la métropole.

#### Répartition géographique des haplotypes de la lignée M:

La figure 10 illustre la répartition géographique des haplotypes M observés dans la zone d'étude. Comme dans le cas précédent chaque colonie échantillonnée est représentée par un hexagone. Une couleur est affectée pour chacun des haplotypes de la lignée M. Les haplotypes de la lignée C sont représentés en tons de gris.





**Figure 10** : Cartographie de la diversité mitochondriale intra-lignée. Chaque haplotype est représenté par une couleur différente. Les haplotypes de la lignée M sont représentés en couleur, ceux de la lignée C en niveaux de gris.

On constate une certaine hétérogénéité dans la composition des différents ruchers. Par exemple, certains ruchers sont composés essentiellement d’haplotypes M 4 (Joking, Hmeucaweng) alors que d’autres montrent une proportion plus importante d’haplotypes M 4’ (Inagoj, Hnahnemuaetra). Cette structure hétérogène à l’échelle de la population est sans doute à mettre au compte des pratiques apicoles telles que l’élevage de reine ou la division de colonies, suivi d’échanges de colonies ou de récupérations d’essaims.

### Diversités haplotypiques

L’indice de diversité haplotypique est un paramètre important en matière de conservation. Sa valeur est comprise entre 0 (0 montrant l’absence de diversité) et 1 (le maximum de diversité). Il permet d’estimer la diversité mitochondriale observée à l’échelle d’une population ou d’un rucher à un instant t. Il s’agit d’un des paramètres que l’on estime lors de l’étude d’impact et qui sera important de suivre afin de vérifier l’efficacité de la conservation (en cas de perte de diversité cet indice risque de diminuer). Dans le cas de populations ayant subi des importations cet indice est estimé de deux manières différentes :

Le niveau de *diversité haplotypique brute* de la population est représentatif de la diversité totale comprenant la diversité des haplotypes locaux et la diversité des haplotypes importés par l’apiculture (diversité artificielle). Il a donc tendance à surestimer le niveau de diversité originelle de la population lorsque des importations ont été réalisées de manière importante. Ce paramètre est estimé à **0,545** pour la population de l’île de Lifou dans sa totalité.

Dans le cadre de conservation de la diversité locale, il est préférable de raisonner sur l’indice de diversité haplotypique corrigée correspondant essentiellement à la diversité locale de la population (les haplotypes d’importation sont éliminés du calcul). Si l’on considère que des abeilles de lignée M ont initialement été introduites sur Lifou, les haplotypes C1, et C2 ont été éliminés du calcul car ils sont considérés comme introgressants pour la population initiale. La diversité haplotypique corrigée est ainsi estimée à **0,349**.

La figure 11 présente les indices de diversités haplotypiques corrigés estimés à l’échelle de chacun des ruchers de l’étude. Dans ce dernier cas, il est évident qu’il faut faire attention à l’interprétation de ces

données car les effectifs de certains ruchers sont trop faibles pour que les résultats soient interprétables d'un point de vue statistique.



**Figure 11** : Diversités haplotypiques corrigées des différents sites de l'étude. Ces niveaux de diversité sont représentés par des couleurs allant du blanc au brun. Les plus faibles diversités étant en blanc et les plus fortes en brun. Chaque site est représenté par un cercle dont le diamètre est proportionnel au nombre de ruches le composant.

Pour conclure sur la diversité mitochondriale, la population de l'Ile de Lifou échantillonnée montre donc 82% de types mitochondriaux appartenant à la lignée M.

Les haplotypes considérés comme importés par rapport à la population originelle se répartissent comme suit :

- 11,3 % d'abeilles Italiennes (haplotypes C2)
- 6,7 % d'abeilles de la lignée Nord méditerranéenne (*carnica*, *cecropia*) ou O (*caucasienne*) (types C1).

**Cette population exprime donc un niveau d'introgession mitochondrial par des abeilles de la lignée C de 18%.**

Ainsi les principaux résultats obtenus avec l'ADNmt montrent que :

- i) les abeilles ayant une origine maternelle appartenant à la lignée M sont encore en proportion importante mais non exclusive sur l'Ile et représentent 82 % des colonies.
- ii) une diversité haplotypique corrigée parmi les plus faibles en France.

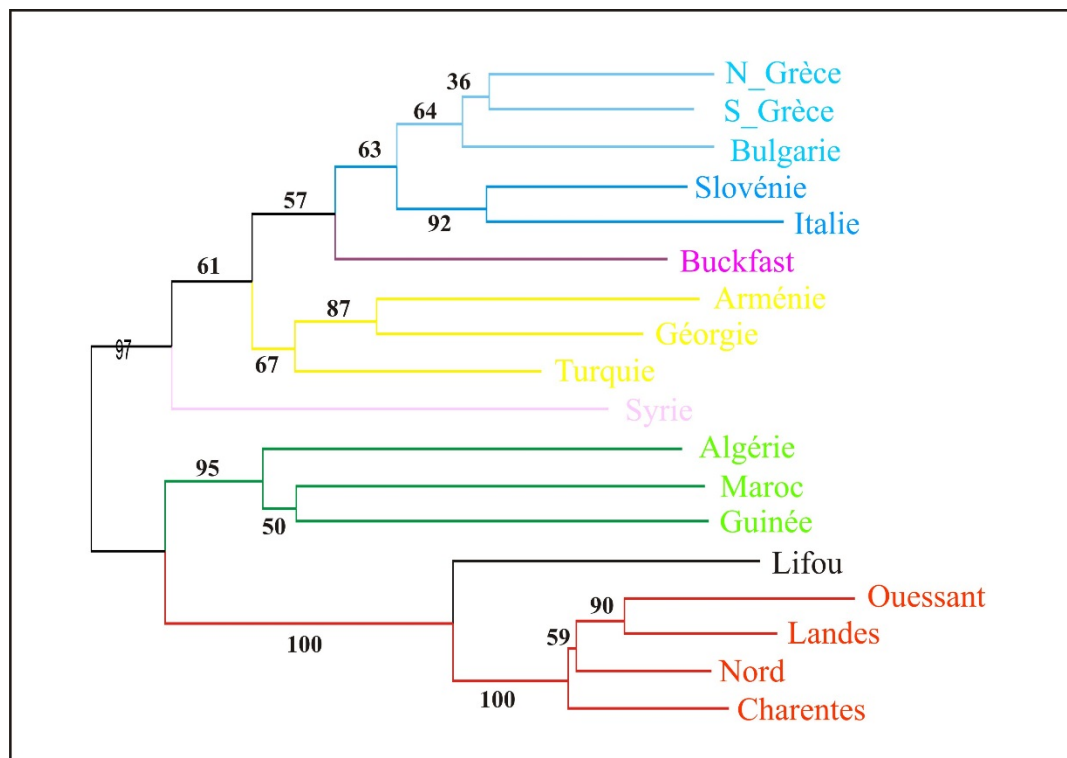
## Diversité des marqueurs nucléaires (microsatellites)

Comme dans le cas de l'ADN mitochondrial, les résultats ont été analysés dans un premier temps dans un contexte global (à l'échelle de l'espèce) afin de replacer la population étudiée au sein de la diversité de l'espèce. Dans un second temps, les résultats ont été analysés dans le contexte local, c'est à dire à l'échelle de la population, afin de déterminer les paramètres importants pour la conservation de la diversité génétique et la gestion de la diversité de la population de Lifou.

### 1/ Analyse globale :

#### 1-1/ Place de la population de Lifou dans l'arbre de proximité génétique :

Afin de replacer la population de Lifou dans le contexte de diversité à l'échelle de l'espèce, une matrice de distance a été calculée à partir des données des marqueurs microsatellites entre l'ensemble des populations de l'étude (Lifou et populations de référence des différentes lignées). La figure 12 présente le résultat de l'analyse hiérarchique de ces populations (Neighbor-Joining sur les distances inter-populations).



**Figure 12:** Arbre de classification hiérarchique calculé à partir des distances de Cavalli-Sforza et Edwards (1967) et de 13 loci microsatellites. Les valeurs de « Bootstrap », notées en pourcentages, ont été obtenues avec 2000 itérations d'un ré-échantillonnage aléatoire des individus (Garnery et al., 1995).

Cette figure montre clairement que les populations de référence se répartissent dans 5 groupes correspondant aux 5 grands groupes évolutifs :

- La lignée M : représentée par les populations des Landes, d'Ouessant, du Nord, et des Charentes pour *Apis mellifera mellifera*
- La lignée C : représentées par les populations d'Italie, de Slovénie, de Bulgarie, et de Grèce.
- La lignée A : représentée par les populations de Guinée, d'Algérie et du Maroc.
- La lignée O : représentée par les populations de Turquie, d'Arménie et du Caucase (Géorgie).

- Le groupe Z (voir Alburaki *et al.* 2011): représenté par la population de Syrie qui sort à la base des lignées C et O.

Un échantillonnage d'abeilles de la lignée synthétique Buckfast a été ajouté à l'étude et vient se placer en position intermédiaire entre les lignées C et O.

Les lignées M, A et l'ensemble C et O sont en général bien distinguées entre elles avec des valeurs de bootstrap comprises entre 90 et 100. Le groupe Z est situé à la base de l'ensemble C/O.

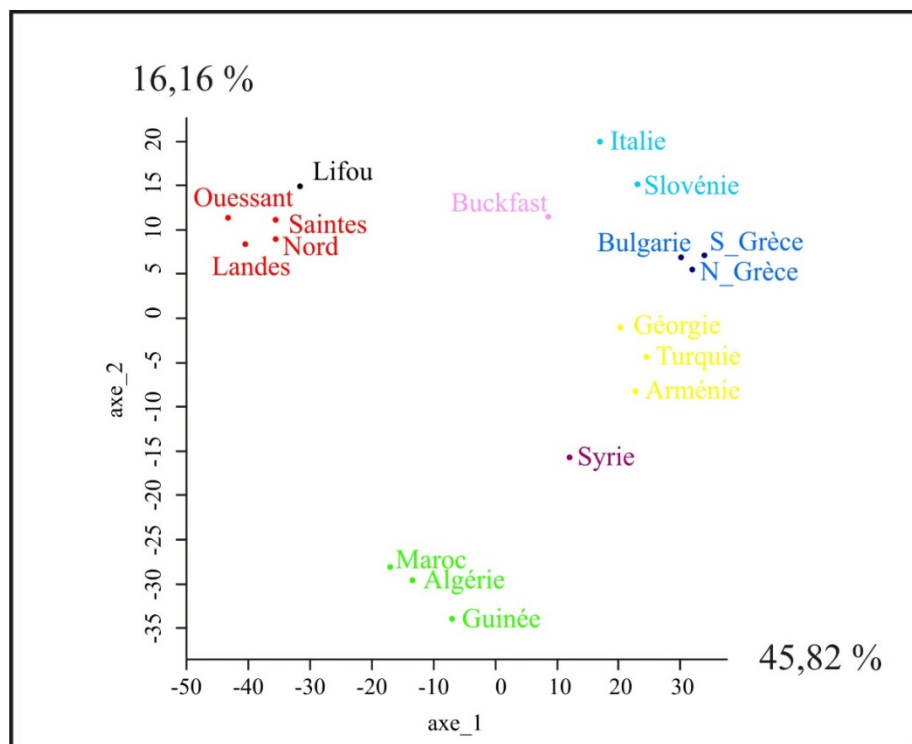
L'étude hiérarchique montre clairement que la population de l'Île de Lifou a une position intermédiaire dans l'arbre et vient se placer à la base de la lignée M mais très séparée de celle-ci. Les valeurs de bootstrap situées sur les branches en amont et en aval de l'arbre sont de 100% ce qui vient renforcer la position de la population dans l'arbre.

Cette population se distingue donc bien des populations de référence A, C, O et Z mais ne forment pas un groupe cohérent avec les populations de référence M.

### 1-2/ Analyse des données inter-populations

Les projections des populations issues de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée sur la matrice des distances de Cavalli-Sforza comprenant la population de Lifou et les populations de référence est représentée en figure 13.

Les deux premiers axes de l'ACP absorbent 62 % de la variance génétique totale ce qui est important dans la représentation de la diversité génétique dans un espace comprenant 17 dimensions. Le premier axe de l'ACP qui représente 45,8% de la variance exprimée, oppose les populations de références C, O, Z et Buckfast situées à droite de la figure, aux populations références de la lignée M (situées à gauche). Ce premier axe montre très clairement que 45,8 % de la variabilité génétique totale exprimée est lié à une séparation entre les populations de référence M (Landes, Nord, Belgique, etc...) et les populations de référence Z, O et C (Grèce, Italie, Buckfast, etc.). Sur ces deux premiers axes, l'ensemble des populations de la lignée M forme un groupe compact. L'échantillon représentant la population de Lifou est situé en bordure de ce groupe M et bien séparé des populations des autres lignées évolutives.

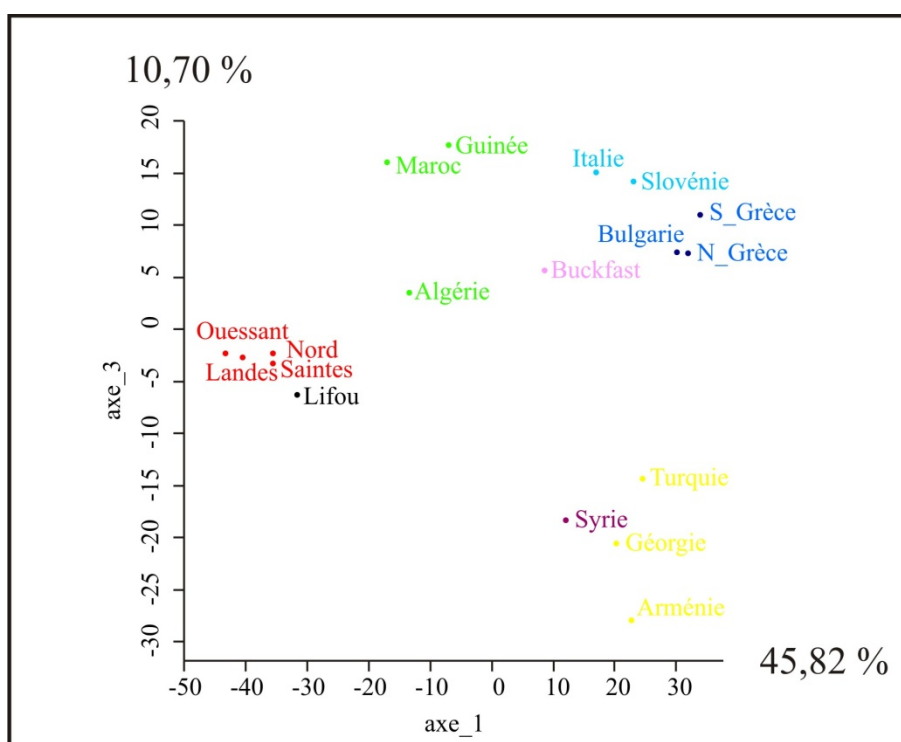


**Figure 13** : Projection selon les axes 1 et 2 de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) des populations de références des lignées M (en rouge : Nord\_1992, Ouessant\_2005, Landes\_1992 et Saintes\_1992), C (en Bleu : Nord\_Grèce, Sud\_Grèce, Bulgarie, Slovenie et Italie), A (en Vert : Algérie, Maroc, et Guinée), O (en Jaune :

Turquie Arménie et Géorgie), Z (en violet : Syrie) et d'une population de lignée Buckfast (en rose : multi-hybride sélectionné). La population de Lifou est représentée par un point noir.

Le deuxième axe, exprime environ 16% de la variance totale du système. Les projections des populations selon cet axe opposent clairement les populations africaines (lignée A) aux autres lignées évolutives. La position très haute sur le graphique de la population de Lifou sur cet axe montre clairement qu'il n'y a pas d'influence notable des populations africaines qui sont plutôt positionnées en bas de l'axe 2

Le troisième axe de l'analyse (figure 14), qui représente 10,7 % de la variance du système, oppose clairement les populations O (Turquie, Arménie et Caucase) et Z (Syrie) aux populations C et A. Les populations de référence de la lignée M forment un groupe cohérent restant au centre de l'axe. La position de la population d'abeilles de Lifou reste très proche des populations de la lignée M sur cet axe, et montre que l'influence d'importations potentielles provenant des lignées O et Z a été faible voire négligeable.



**Figure 14** : Projection selon les axes 1 et 3 de l'analyse en Coordonnées Principales (ACP) des populations de références des lignées M (en rouge : Nord 1992, Ouessant 2005, Landes 1992 et Saintes 1992), C (en Bleu : Nord\_Grèce, Sud\_Grèce, Bulgarie, Sloveenie et Italie), A (en Vert : Algérie, Maroc, et Guinée), O (en Jaune : Turquie Arménie et Géorgie), Z (en violet : Syrie) et d'une population de lignée Buckfast (en rose : multi-hybride sélectionné). La population de Lifou est représentée par un point noir.

## 2/ Analyse à l'échelle locale : structure génétique de la population

### 2-1/ Diversité génétique de la population

Les fréquences alléliques pour chacun des 13 loci sont présentées dans le tableau 3. Dans ce tableau, chaque cadre entouré de traits épais représente un locus. Pour chaque locus la première colonne représente le nom du locus, la seconde colonne donne la taille des allèles observés dans plusieurs populations et la troisième colonne exprime la fréquence de chacun de ces allèles dans la population de Lifou. Les colonnes suivantes donnent, à titre comparatif, les fréquences alléliques observées dans deux populations de la lignée C (Argos, ssp *cecropia* ; Sloveenie, ssp *carnica*) et dans quatre populations françaises d'abeilles noires (Bayonne, Sabres, Ouessant et Valenciennes). Les deux dernières lignes de chaque cadre représentent respectivement l'hétérozygotie observée ( $H_o$ ) et l'hétérozygotie calculée sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg ( $H_c$ ) qui correspondent aux paramètres de diversité génétique.

Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.	Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.
Ap43	(pb)	(n= 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n= 100)	(n = 58)	Ap33	(pb)	(n = 345)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n= 100)	(n = 58)
	135	0,006	0,071		<b>0,195</b>	<b>0,200</b>	0,100	<b>0,345</b>		225	0,001						
	136				0,012	0,020				227	0,013		0,033	<b>0,451</b>	<b>0,220</b>	0,046	0,138
	137	<b>0,828</b>	0,041	0,110	<b>0,695</b>	<b>0,750</b>	<b>0,900</b>	<b>0,552</b>		229	0,001		0,027	0,037	0,020		
	139	0,001	0,020		0,049	0,010		0,052		231		0,051	0,088	0,012			
	143*	0,036	<b>0,224</b>	<b>0,352</b>				0,017		233			0,027				
	145*	0,108	<b>0,367</b>	<b>0,434</b>	0,012	0,020		0,034		235	0,015	0,082	0,115	0,012	0,010		0,017
	147*		0,082	0,082						237	0,004	0,122	<b>0,302</b>	0,024	0,040		0,034
	149	0,007	0,031	0,022						239	0,026	<b>0,214</b>	0,187	0,085	0,070	0,056	0,017
	151	0,012								241	0,007	<b>0,214</b>	0,071	0,098	0,100	0,092	0,034
	159		0,010							243	<b>0,878</b>	0,112	0,088	0,085	0,150	0,260	<b>0,172</b>
	163				0,012					245	0,052	0,082	0,016	0,037	0,090	<b>0,296</b>	<b>0,172</b>
	165		0,010							247	0,001	0,031	0,038	0,049	0,140	0,219	0,138
	167		0,010		0,012					249		0,020	0,005	0,085	0,130	0,005	0,121
	171		0,020							251		0,041		0,024	0,030	0,026	0,086
	173		0,082							253							0,052
	175		0,010							257							0,017
	177	0,001	0,010							261		0,020					
	185		0,010							263		0,010					
	187				0,012				Ho		0,235	0,837	0,813	0,805	0,820	0,800	0,828
Ho		0,321	0,796	0,648	0,415	0,500	0,180	0,759	Hc		0,225	0,870	0,840	0,768	0,875	0,771	0,890
Hc		0,302	0,800	0,672	0,483	0,401	0,181	0,583									
Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.	Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.
A28	(pb)	(n= 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n= 100)	(n = 58)	Ap66	pb	(n= 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 98)	(n = 100)	(n = 56)
	130						0,065			84	0,004						
	132	<b>0,864</b>		0,115	<b>0,817</b>	<b>0,880</b>	<b>0,840</b>	<b>0,966</b>		92	0,004	0,010					
	134		0,041			0,010				94	0,077	<b>0,867</b>	<b>0,896</b>	0,061	0,010		
	135		0,010		0,024					100	<b>0,915</b>		0,060	<b>0,451</b>	<b>0,490</b>	0,250	<b>0,554</b>
	138*	0,126	<b>0,929</b>	<b>0,857</b>	0,049	0,030	0,010	0,034		101				0,378	0,418	<b>0,635</b>	0,393
	140		0,020							102				0,073	0,051	0,025	
	141			0,016						103			0,011	0,012	0,031	0,090	0,036
	142			0,011						104		0,020					
	144				0,110	0,080	0,085			105				0,024			
	148	0,006								112		0,102	0,011				0,018
	152	0,004								114			0,022				
Ho		0,234	0,143	0,264	0,341	0,240	0,240	0,069	Ho		0,156	0,265	0,209	0,585	0,490	0,480	0,464
Hc		0,238	0,137	0,253	0,333	0,220	0,284	0,068	Hc		0,158	0,239	0,195	0,652	0,587	0,528	0,547
Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.	Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.
A7	(pb)	(n= 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n= 100)	(n = 56)	A113	(pb)	(n= 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n = 100)	(n = 58)
	105			0,088						181						0,005	
	107	0,015		0,005	0,049	0,070		0,018		200						0,005	
	108				0,012					202	0,059		0,005	0,122	0,100	0,035	0,172
	109			0,005	0,049					208	0,001			0,012			
	110		0,122		0,024					212				0,012	0,030		
	111	0,949		0,176	<b>0,805</b>	<b>0,810</b>	<b>0,995</b>	<b>0,893</b>		214*	0,017	<b>0,827</b>	<b>0,736</b>		0,010		0,034
	112		0,031							216		0,020	0,005				
	113			0,011	0,049	0,090		0,054		218					0,020		
	114		0,031	0,011						220	0,095	0,051	0,192	<b>0,707</b>	<b>0,680</b>	<b>0,950</b>	<b>0,724</b>
	116*	0,043	<b>0,633</b>	0,445			0,005	0,018		222				0,073	0,040		0,017
	118*	0,012	0,184	0,192		0,020		0,018		224	0,007				0,060		
	120*	0,009		0,049	0,012					226		0,092	0,005				0,034
	126*			0,005						228	0,006		0,027		0,030	0,005	0,017
	130*	0,007								230	<b>0,773</b>		0,011	0,024	0,020		
	132*			0,005						232	0,029			0,037			
	134	0,001								234		0,010	0,005	0,012	0,010		
	136			0,005		0,010				236	0,012		0,005				
	146	0,003								238			0,005				
Ho		0,092	0,510	0,725	0,268	0,280	0,010	0,143	Ho		0,382	0,286	0,407	0,415	0,580	0,100	0,483
Hc		0,098	0,555	0,727	0,348	0,334	0,010	0,203	Hc		0,389	0,308	0,422	0,483	0,525	0,097	0,451

Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.	Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.
A88	(pb)	(n= 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n = 100)	(n = 58)	Ap81	pb	(n= 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 80)	(n = 94)	(n = 100)	(n = 58)
	143	0,016	0,061	0,005		0,010	0,010			128	<b>0,973</b>		0,038	<b>0,913</b>	<b>0,936</b>	<b>0,965</b>	<b>0,931</b>
	146	0,915	0,010	0,071	<b>1,000</b>	<b>0,960</b>	<b>0,945</b>	<b>0,983</b>		130			0,038				
	149			0,011						134	0,001						
	152*	0,001	<b>0,510</b>	0,066			0,010			136	0,023	<b>0,878</b>	<b>0,890</b>	0,025	0,032		0,069
	154*	0,068	0,408	<b>0,835</b>		0,030	0,005	0,017		138	0,003	0,092	0,071			0,035	
	155		0,010				0,030			140		0,031					
	156			0,011						144					0,011		
Ho		0,124	0,510	0,297	0,000	0,080	0,070	0,034		146					0,021		
Hc		0,159	0,575	0,294	0,000	0,078	0,106	0,034		148			0,013				
Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.		150			0,013				
B124	(pb)	(n = 333)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n = 100)	(n = 58)	Ho		0,055	0,245	0,198	0,175	0,128	0,070	0,138
	210			0,005					Hc		0,054	0,223	0,202	0,167	0,123	0,068	0,131
	212		0,061						Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.
	214		0,010	0,077		0,010			B24	(pb)	(n = 345)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n = 100)	(n = 58)
	216		<b>0,316</b>	<b>0,511</b>		0,010		0,034	98		<b>0,932</b>	0,010	0,115	<b>0,841</b>	<b>0,910</b>	<b>0,985</b>	<b>0,810</b>
	218	0,060	0,214	0,253	0,012	0,020		0,017	104						0,010		
	220	0,005	0,173	0,060	0,183	0,080	0,025	<b>0,241</b>	106		0,009	<b>0,245</b>	<b>0,462</b>	0,146	0,090	0,005	0,138
	222	<b>0,829</b>	0,020	0,044	0,098	0,090		0,086	108*		0,059	<b>0,735</b>	<b>0,423</b>	0,012			0,052
	224		0,122	0,038	0,146	<b>0,290</b>	<b>0,235</b>	0,155	110			0,010					
	226	0,102	0,041	0,005	<b>0,159</b>	0,110	0,010	0,017	Ho		0,130	0,408	0,538	0,195	0,140	0,010	0,276
	228	0,002	0,020		0,073	0,070	0,030	0,086	Hc		0,128	0,404	0,598	0,274	0,165	0,030	0,327
	230				0,061	0,100	0,250	0,069	Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.
	232	0,003			0,098	0,040	0,070	0,086	A43	(pb)	(n = 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n = 100)	(n = 58)
	234				0,037	0,080	0,250	0,069	126			0,082	0,165				
	236				0,073	0,030	0,050	0,069	127*		0,001		0,082				
	238		0,020		0,037	0,020	0,125	0,017	128		<b>0,415</b>		0,055	<b>0,817</b>	<b>0,800</b>	<b>0,680</b>	<b>0,804</b>
	240				0,012	0,030		0,034	140		<b>0,507</b>			0,146	0,180	0,320	0,143
	242			0,005	0,012	0,020		0,017	141*		0,046	<b>0,816</b>	<b>0,731</b>	0,037	0,020		0,054
Ho		0,315	0,878	0,648	0,829	0,900	0,755	0,828	143		0,030	0,092	0,016				
Hc		0,299	0,810	0,666	0,894	0,872	0,819	0,893	149			0,010					
Locus	allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.	Ho		0,575	0,347	0,418	0,317	0,340	0,380	0,321
Ap55	pb	(n= 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 80)	(n = 98)	(n = 100)	(n = 56)	Hc		0,568	0,322	0,434	0,313	0,331	0,437	0,337
	101			0,005					Locus	Allele	Lifou	Argos	Slovenie	Bayonne	Sabres1	Ouessant	Valenc.
	107			0,005					A8	(pb)	(n = 346)	(n = 98)	(n = 182)	(n = 82)	(n = 100)	(n = 100)	(n = 58)
	147	0,001							148		<b>0,883</b>		0,082	<b>0,927</b>	<b>0,910</b>	<b>0,975</b>	<b>0,793</b>
	173	0,022	<b>0,306</b>	<b>0,247</b>		0,010		0,036	150		0,007						
	175	0,026	<b>0,602</b>	<b>0,456</b>		0,050		0,054	154								0,017
	177	0,007	0,010	0,104	0,113	0,112	0,035	0,107	156		0,023	0,051	0,011	0,037	0,070	0,025	0,138
	179	<b>0,291</b>	0,041	0,104	<b>0,525</b>	<b>0,398</b>	0,745	<b>0,536</b>	157								
	181	<b>0,364</b>			<b>0,175</b>	<b>0,286</b>	0,135	<b>0,125</b>	158*		0,009	0,184	0,011	0,024			
	183	0,269	0,010	0,005	0,088	0,143	0,020	0,071	159								
	185	0,003	0,010	0,033	0,075			0,036	160*		0,006	<b>0,592</b>	<b>0,571</b>	0,012	0,020		0,017
	187	0,016		0,005	0,025		0,065		161								
	191		0,010	0,016				0,036	162*		0,059	0,092	0,104				0,017
	195	0,001	0,010						163								
	197			0,005					164*		0,013	0,071	0,198				0,017
	199			0,011					166*			0,010	0,022				
Ho		0,694	0,653	0,648	0,675	0,735	0,430	0,786	Ho		0,217	0,592	0,604	0,122	0,140	0,050	0,414
Hc		0,710	0,547	0,711	0,676	0,732	0,423	0,686	Hc		0,216	0,606	0,619	0,141	0,168	0,049	0,357

Tableau 3 : présentant les paramètres de variabilité de la population de Lifou pour chacun des 13 loci étudiés.

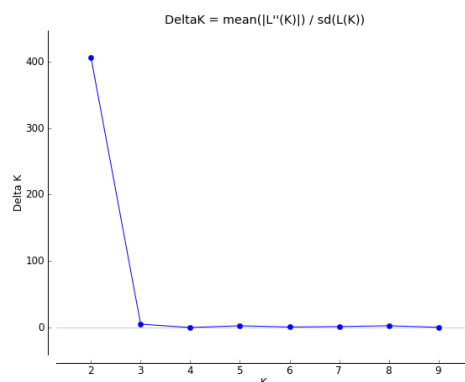
Le nombre moyen d'allèles par locus observé est de 6.3 et l'hétérozygotie moyenne par locus est de 0,271.

## 2-2/ Structuration génétique de la population:

Les tests exacts de l'équilibre de Hardy Weinberg montrent que les 346 colonies échantillonnées sur l'île de Lifou forment une population panmictique ( $p = 0.14$ ). L'analyse des déséquilibres de liaisons entre locus vient confirmer cette observation puisque la population totale montre que seuls 7 couples de locus, sur les 78 couples comparés, sont en déséquilibres de liaison.

Il semble donc que la reproduction se réalise de manière panmictique sur l'ensemble de l'île, et qu'il n'y ait pas d'obstacle à la reproduction entre les colonies de l'île.

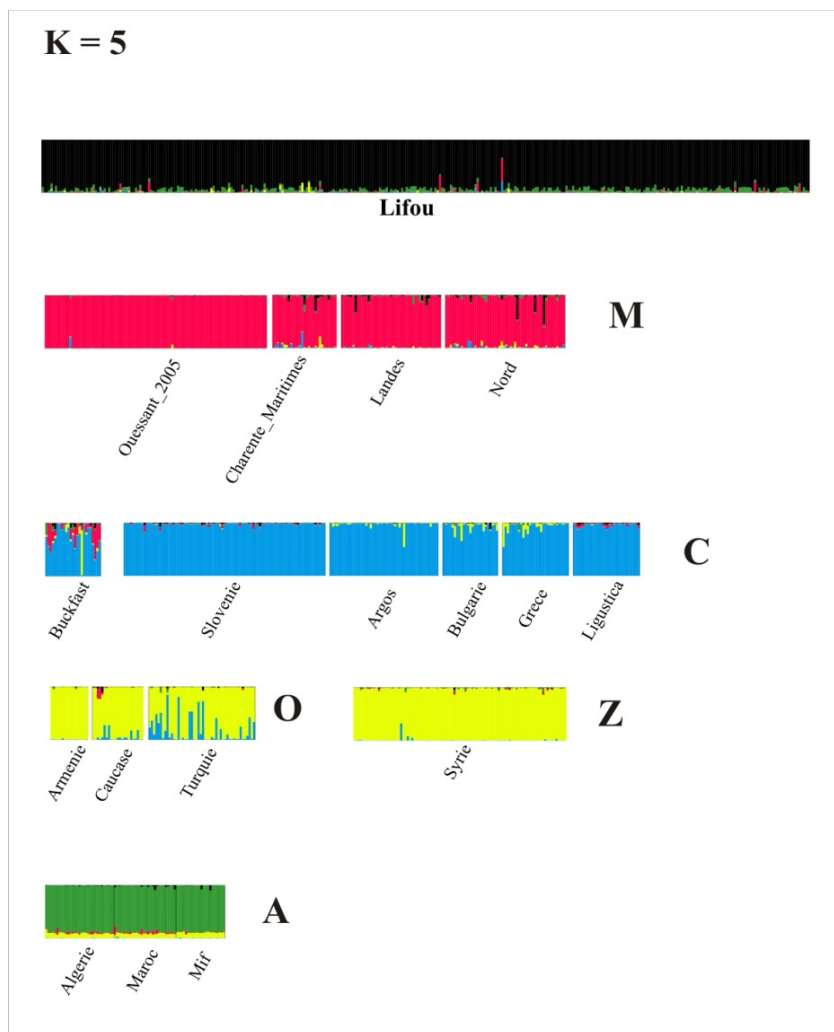
L'analyse complémentaire de la structure génétique de la population a permis de déterminer sans *a priori* le nombre de groupes (K) à l'aide du logiciel STRUCTURE (figure 15). Les résultats des classements sont représentés en figure 17.



**Figure 15 :** Calcul de la statistique du  $\Delta K$  d'après Evanno et al. (2005), permettant de définir sans *a priori* le nombre de groupe parmi les échantillons étudiés (Lifou et groupes de référence).

La statistique du  $\Delta K$  suggère que la différenciation est optimale pour 2 groupes. Ceci est cohérent avec l'analyse en coordonnées principales qui exprime une forte différenciation selon le premier axe entre la lignée M et l'ensemble des autres lignées. Nous avons toutefois opté pour une représentation des résultats en 5 groupes correspondant aux 5 lignées évolutives (figure 16).





**Figure 16** : Représentation des probabilités de classement de chaque individu de la population de Lifou pour  $K = 5$  groupes. Dans cette figure, un groupe est représenté par une couleur. A chaque échantillon (barre verticale) est affecté un pourcentage de classement pour chacun des  $K$  groupes.

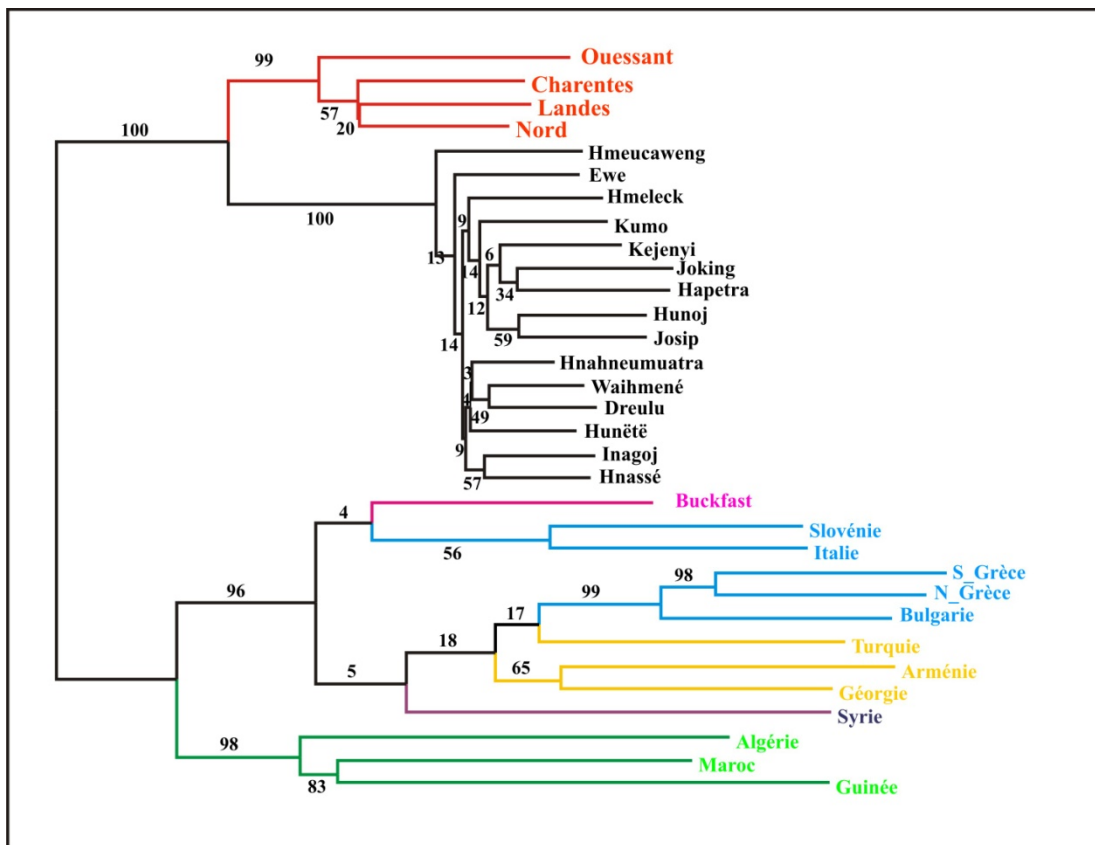
En considérant 5 groupes génétiquement homogènes, on s'attend à retrouver les 5 lignées évolutives connues chez l'abeille (Alburaki *et al.*, 2013). L'analyse permet ici d'individualiser la lignée M (rouge), la lignée C (bleu) et la lignée A (vert), l'ensemble O-Z formant un groupe génétiquement homogène (jaune) au profit de l'apparition d'un nouveau groupe constitué par la population de Lifou (noir). Ces résultats suggèrent donc une différenciation entre les échantillons de référence de la lignée M et les échantillons de notre étude. Cette différenciation peut s'expliquer par un effet de fondation qui implique la mise en place d'une population à partir d'un échantillon non représentatif de l'intégralité de la diversité de la population d'origine.

### 2-3/ Classification hiérarchique des ruchers

L'analyse hiérarchique des différents ruchers (Neighbor Joining sur les distances inter-ruchers) vient confirmer celle réalisée sur la structure génétique des populations (figure 17).

Lorsque l'on subdivise la population en différentes zones, regroupant les ruchers de faibles effectifs en fonction de leur proximité géographique, toutes les zones étudiées sont retrouvés ensemble sur l'arbre. Leurs positions viennent confirmer l'arbre réalisé sur la population totale. Ils sont tous séparés des populations références de la lignée M, par une branche de taille importante et portant une valeur de bootstrap de 100 %. Ces zones sont séparées entre elles par des branches très courtes portant des valeurs

de bootstrap très faibles confirmant l'absence de sous-structuration et la structure panmictique de la population de l'Ile.



**Figure 17 :** Arbre phylogénétique représentant la population d'abeilles de Lifou séparée en zones et leurs positions par rapport aux populations de références. Les ruchers des différentes zones ont été regroupés en fonction de leur proximité géographique du fait du faible effectif en colonies.

### 3/ Analyse à l'échelle des individus : choix des colonies pour la constitution du conservatoire

#### 3-1/ Niveaux d'introgession nucléaires et classements des individus :

Le niveau d'introgession 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 cas de la population de Lifou, compte tenu du fait que nous sommes en dehors de l'aire de répartition naturelle de l'espèce, la population considérée comme locale correspondra à la population d'origine hypothétique, c'est-à-dire l'abeille noire de la lignée Ouest-méditerranéenne. L'estimation des niveaux d'introgession est donc réalisée en calculant la proportion d'allèles diagnostiques originaire des autres lignées évolutives (C, A et O) qui sont présents au niveau du génotype multi-locus de chaque abeille. Le niveau d'introgession peut être estimé à partir de l'ensemble des échantillons de la population, pour chaque rucher et par individu. Dans le premier cas il représente le niveau d'hybridation général de la population. Ce **niveau d'introgession est estimé à 8,22%** pour l'ensemble de la population de Lifou ce qui est inférieur à l'estimation obtenue avec l'ADN mitochondrial. Les marqueurs que nous utilisons sont en moyenne diagnostiques de l'ordre de 5%. La population de Lifou dans son ensemble exprime donc **un très faible niveau d'introgession**. Il est à noter qu'à l'heure actuelle il est même assez rare de trouver un niveau d'hybridation aussi faible dans l'aire de répartition originelle.

Ce pourcentage d'introgression est présenté en détail pour chaque échantillon (colonie) en colonne 2 de l'annexe 4. Le pourcentage d'introgression pour chaque zone est présenté en figure 18.

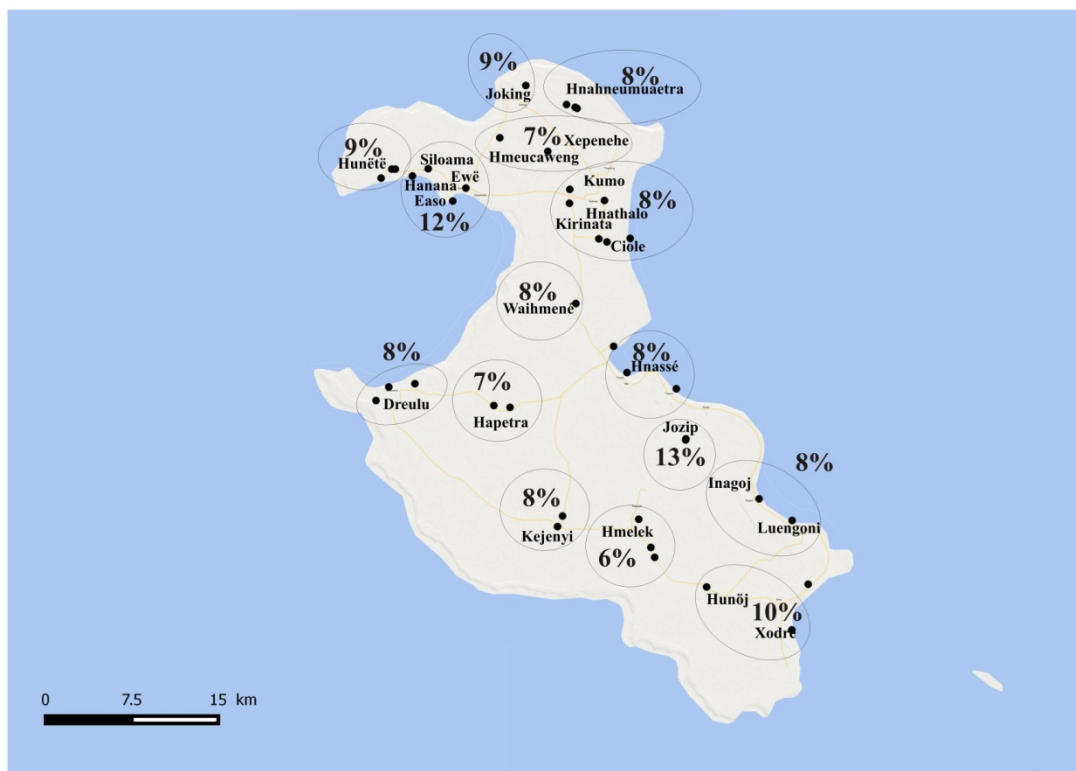


Figure 18 : pourcentage d'introgression par zone pour l'ensemble des ruchers de l'étude.

Toutes les zones de l'île sont touchées par les hybridations. Le pourcentage d'introgression est compris entre 6% (Hmelek) et 13% (Jozip). Bien que l'ensemble de l'île montre des traces d'introgression, les valeurs d'introgression observées sont relativement faibles compte tenu du fait que les marqueurs utilisés ne sont pas totalement diagnostiques (diagnostiques à 95%). Cette population apparaît donc comme l'une des populations les plus pures en abeilles noires.

### 3-2/ Test d'assignation à une lignée évolutive

Les tests d'assignation des colonies à des populations de référence d'origine M, C, A ou O nous permettent de déterminer une probabilité d'appartenance d'un échantillon à l'une de ces lignées évolutives. Il est utilisé en parallèle avec les estimations des pourcentages d'introgression et les visualisations des individus sur les figures des analyses en coordonnées principales réalisées sur les individus pour pouvoir trier les colonies correspondant à des colonies locales de celle qui devront être exclues de la population conservatoire.

Les résultats des tests d'assignation sont présentés en annexe 4 pour chacune des abeilles étudiées. Cette annexe présente les résultats des estimations des niveaux d'introgressions nucléaires (méthode des allèles diagnostiques) ainsi que les probabilités de classement dans une des 13 races représentée dans notre base de données en utilisant la méthode Bayésienne. Ce classement a été réalisé a priori en utilisant les colonies de référence des 13 races géographiques répertoriées dans notre base de données. Sur les 354 abeilles étudiées, seules 2 abeilles ne se classent pas dans la référence de l'abeille noire *Apis mellifera mellifera* au premier rang. Toutefois ces deux abeilles sont classées au premier rang dans la race iberiensis qui appartient à la lignée Ouest méditerranéenne. Pour la plupart des abeilles les probabilités de classement sont proches de 100% à l'exception de quelques individus (ie. Lif\_220, Lif\_290).

### 3-2/ Résultats des ACP inter-individuelles :

#### 3-2-2/ Projections selon les axes 1 et 2 de l'analyse :

La matrice d'une Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée sur la matrice de distances inter-individuelles présente l'intérêt de définir des nuages de points correspondant à des ensembles d'individus appartenant à une population de référence donnée. Dans la perspective de trier des colonies pour la constitution d'un conservatoire d'abeilles de souche M, il est alors aisé de sélectionner les individus des colonies d'intérêt en ne prenant que ceux compris dans le nuage de points correspondant à la lignée M, et en excluant ceux qui n'étaient pas compris dans ce nuage de points.

Compte tenu de l'hétérogénéité de la structure de la population observée avec l'ADN mitochondrial, et du nombre d'individus à projeter dans ce type de graphique, les projections des individus ont été réalisées en regroupant parfois différents ruchers en fonction de leur proximité géographique. Il est important de noter que ce type d'analyse est réalisée de manière globale en utilisant l'ensemble des échantillons de l'étude (populations de référence et échantillonnage de Savoie) sans aucun a priori quant à l'appartenance à une lignée ou à une population.

Sur les graphiques de projections, les populations de références des lignées M, A, C, O et Z ainsi que l'échantillonnage de référence de la souche Buckfast sont représentées par les contours de chacune des populations. Ces contours sont représentés respectivement en rouge, vert, Bleu, jaune et Violet. Le contour d'échantillons de la lignée synthétique Buckfast est de couleur mauve.

Chaque abeille collectée sur l'île de Lifou est représentée de manière individuelle par un signe noir ou coloré (en fonction des ruchers) accompagné du numéro d'échantillon correspondant. Les projections d'individus appartenant à différents ruchers sont présentés en figures 19 (a : j).

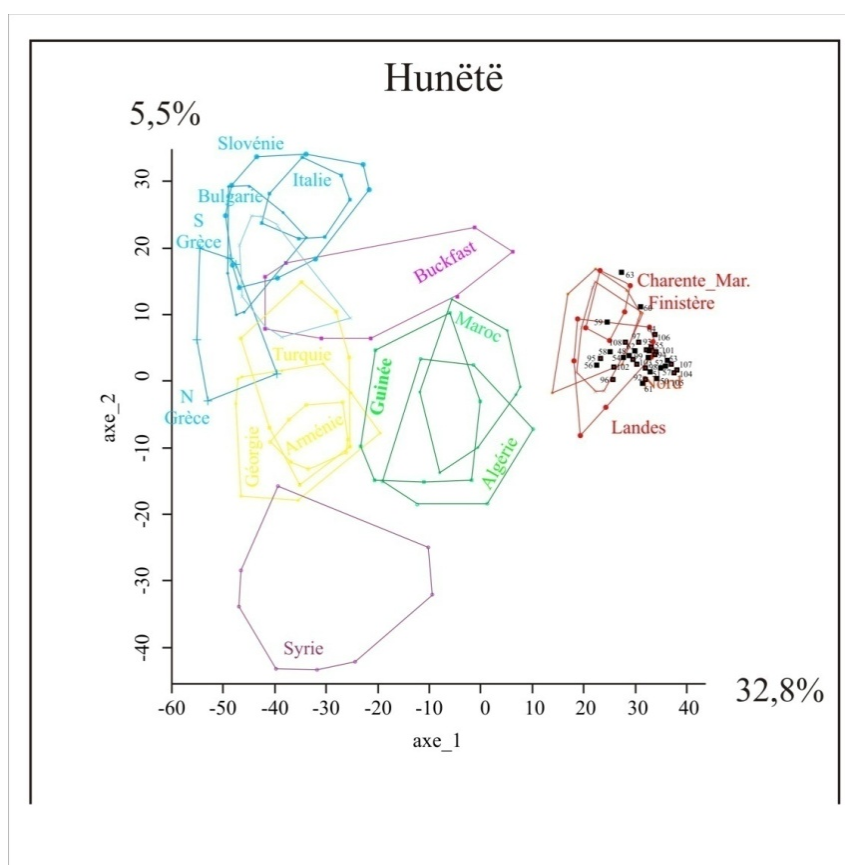


Figure 19a : Projections des individus des ruchers d'Hunëtë (carrés noirs) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les contours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

En ce qui concerne les Rucher d'Hunët : La plupart des individus sont inclus dans les contours représentant la répartition des individus appartenant à la lignée M. Onze individus (ie. 51, 61, 95, 104, 105, 107) sont même situés à droite des références de la lignée, ce qui est probablement le résultat du Bottleneck (plus faible variabilité que les populations de référence). Aucun individu ne sort en intermédiaire entre les populations de référence M et celles des autres lignées. Le niveau d'introgression de ce rucher est estimé à 9%.

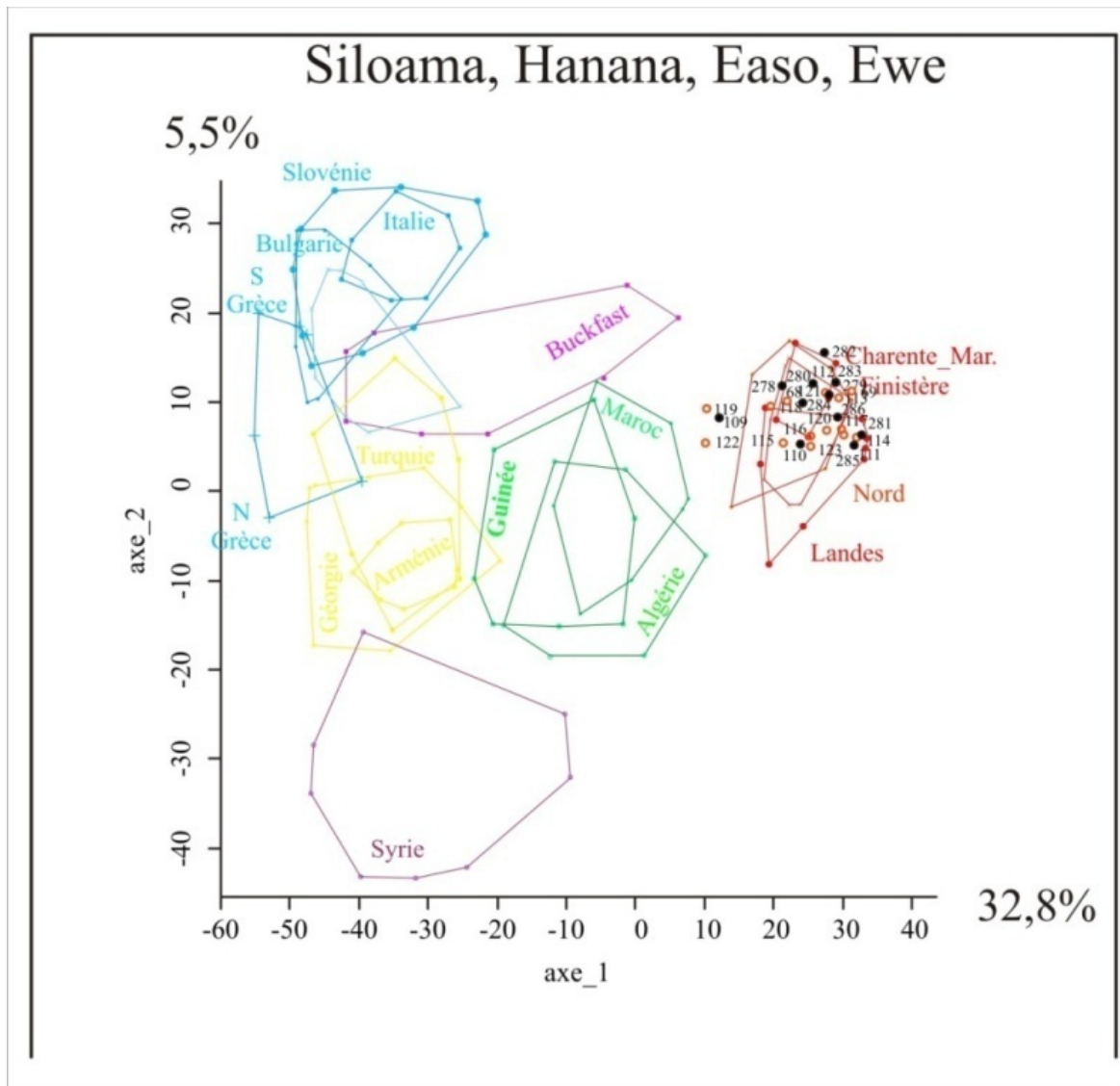


Figure 19b : Projections des individus des ruchers Siloama (cercles rouges) , Hanana, Ewe (cercles noirs) et Easo (points noirs) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

En figure 19b, la très grande majorité des individus des Ruchers Hanana, Ewe et Eao sont inclus dans les contours de la lignée M. Les individus de ce rucher semblent former un groupe cohérent qui couvre une bonne partie de la diversité de la lignée M, à l'exception de 3 individus (ie. 109, 119, et 122) qui sortent des surfaces occupées par les populations de référence M. Ces trois individus montrent respectivement des niveaux d'introgression par la méthode des allèles diagnostiques de 27%, 32% et 32%. Le niveau d'introgression pour l'ensemble de ces ruchers est estimé à 12%.

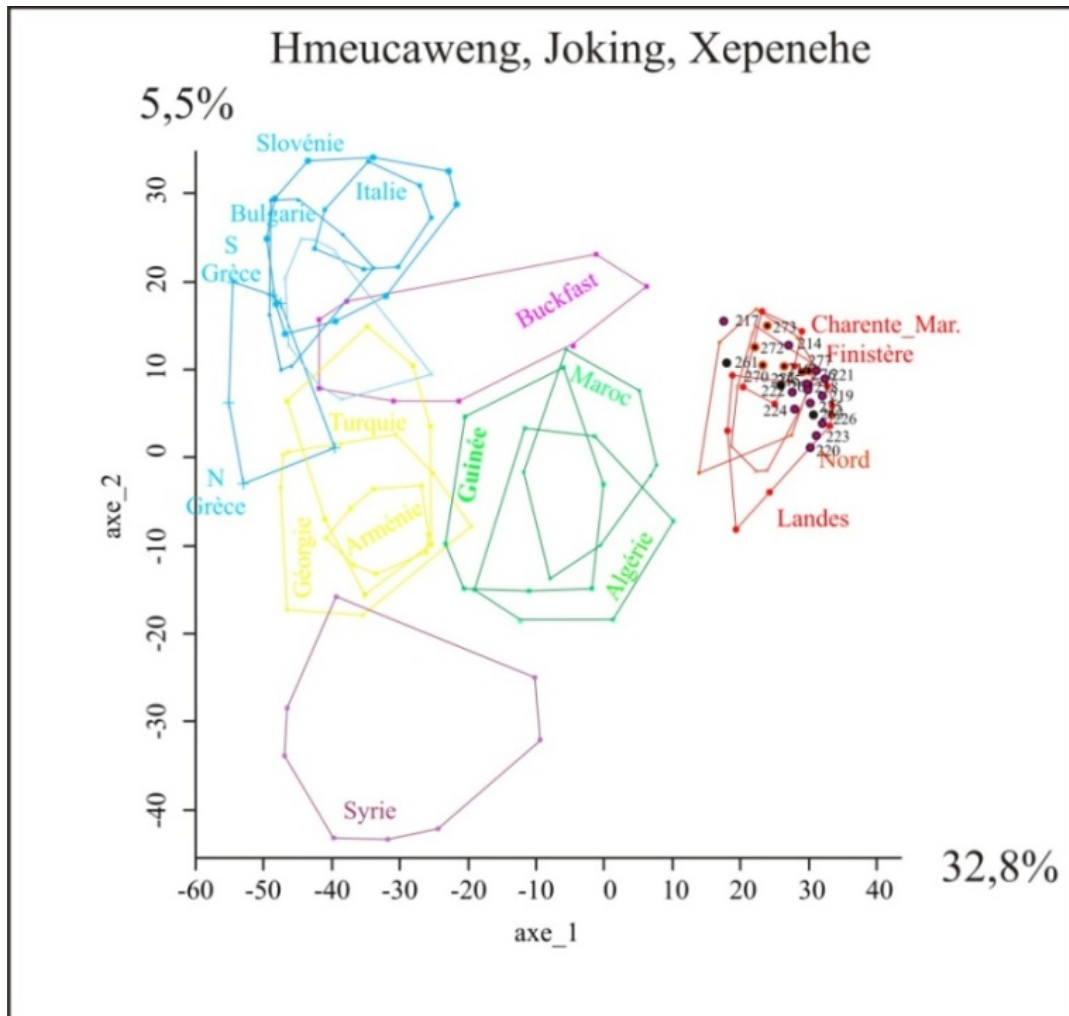


Figure 19c : Projections des individus des ruchers Hmeucaweng (points noirs et bleus), Joking (points noirs et oranges) et Xepenehe (points noirs) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

Les abeilles des ruchers Hmeucaweng, Joking et Xepenehe (figure 19c) sont comme dans le cas précédent en grande majorité situées dans la zone des populations de référence de l'abeille noire. Seul les échantillons 217 et 260 sont en bordure de ces références et montrent des niveaux d'hybridation respectifs de 20 et 18%. Le niveau d'hybridation de ces ruchers est de 7%.

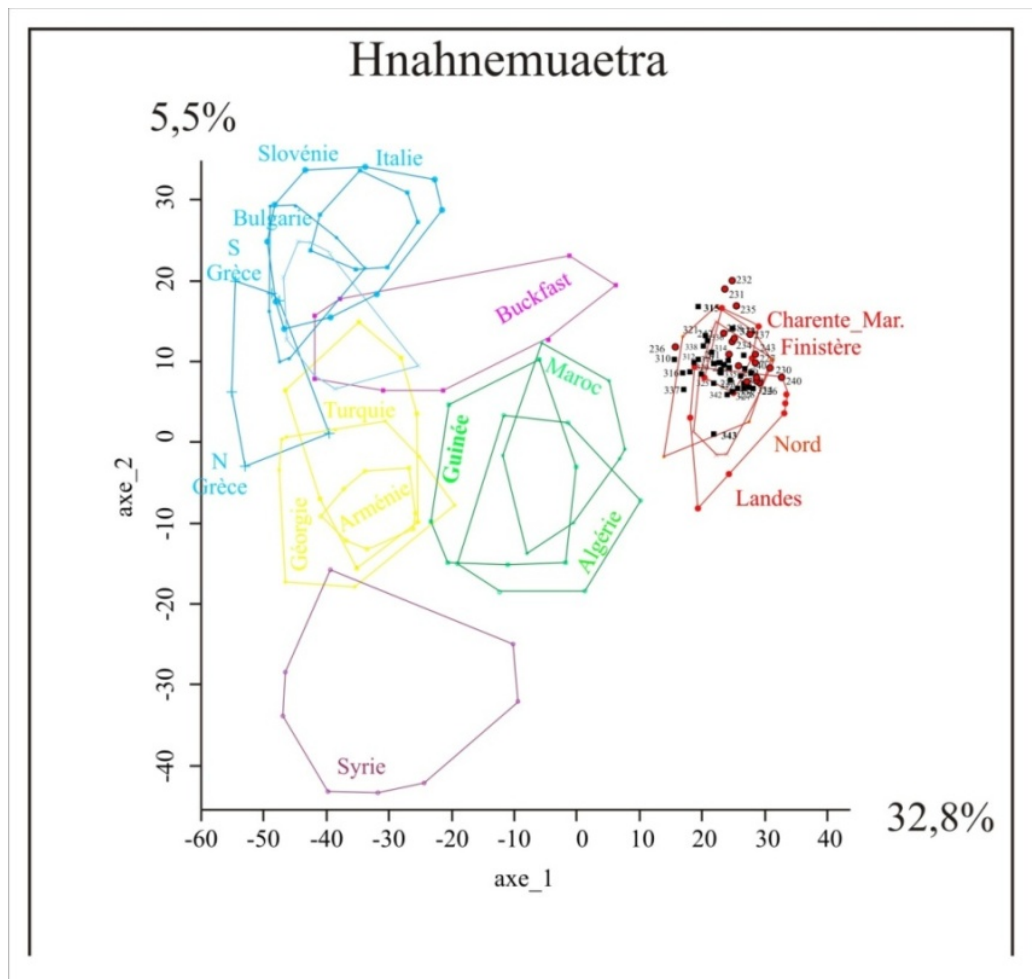


Figure 19d: Projections des individus des rucher Hnahnemuaetra (carrés noirs et cercles rouges) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

La plupart des individus du rucher Hnahnemuaetra sont situés dans la zone de référence des populations d'abeille noires. Seuls quelques individus sont à la limite des contours des populations de référence M, sans pour autant montrer de niveau d'introgression important (maximum 14%). Ces ruchers peuvent, par conséquent comme les précédents, être considérés comme des ruchers d'abeilles noires. Le niveau d'introgression de ces ruchers est de 8%.

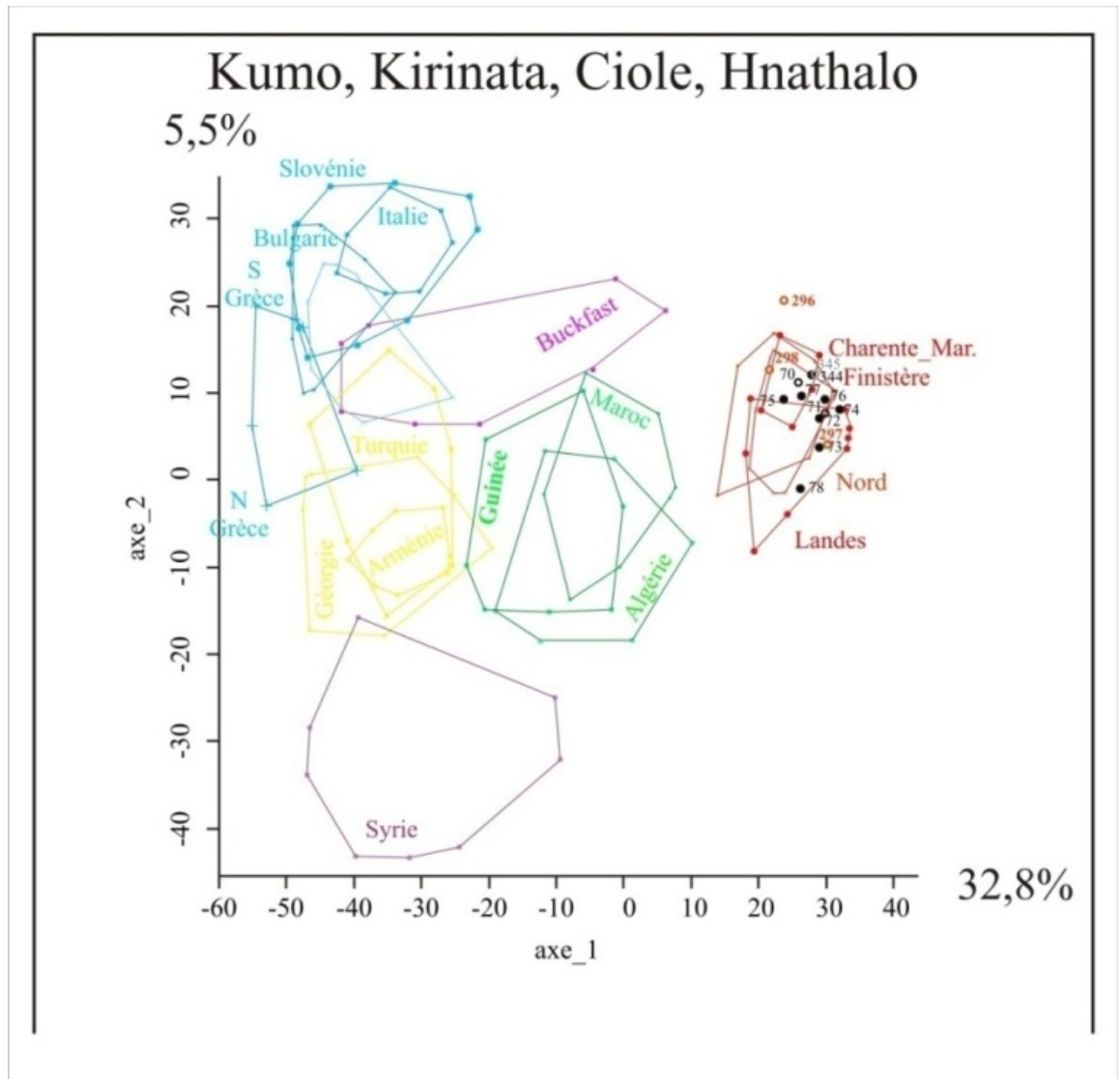


Figure 19e : Projections des individus des ruchers Hnathalo (cercles rouges), Kumo (points noirs), Kirinata (cercle noirs) et Ciole (cercle gris) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

Sur la figure 19e, tous les individus sont localisés dans la zone de référence de l'abeille noire. Seul l'individu 296 en sort vers le haut du graphique. La position de cet individu est probablement lié au fait qu'il montre un niveau d'hétérozygotie assez faible. Ces ruchers sont donc également composés d'abeilles noires. Le niveau d'introggression de ces ruchers est de 8%.



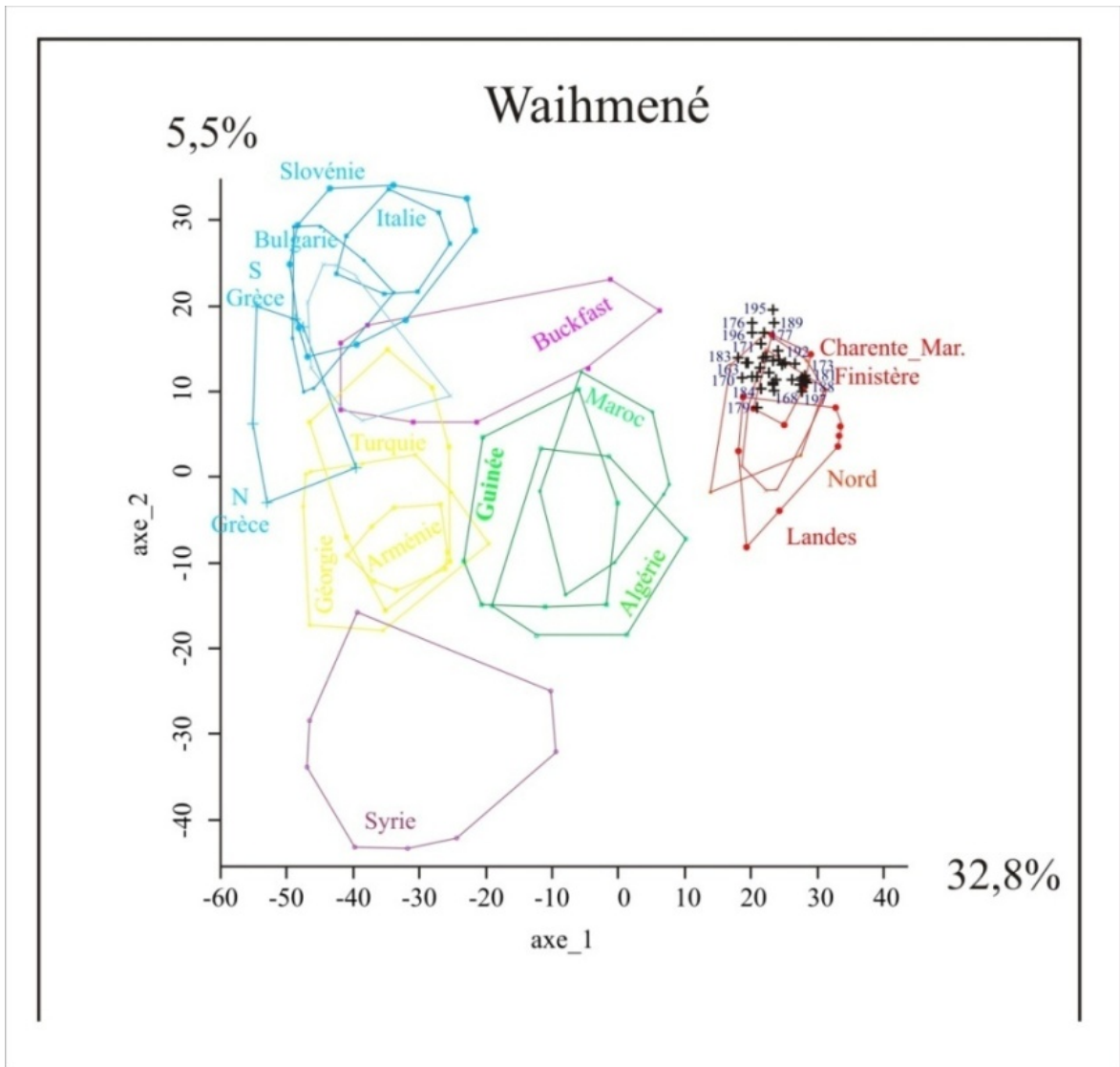


Figure 19f : Projections des individus du rucher de Waihmené (croix noires) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

Comme dans le cas précédent la plupart des individus appartenant au Rucher Waihmené sont tous situés en dans la zone de référence de la lignée M. Le nuage de point constitué par ce rucher est plutôt localisé vers le haut des références d'abeilles noires. Ceci est probablement lié à un niveau d'homozygotie important de ce rucher. Les abeilles de ce rucher sont toutefois bien représentatives de l'abeille noire. Le niveau d'introggression de ces ruchers est de 8%.

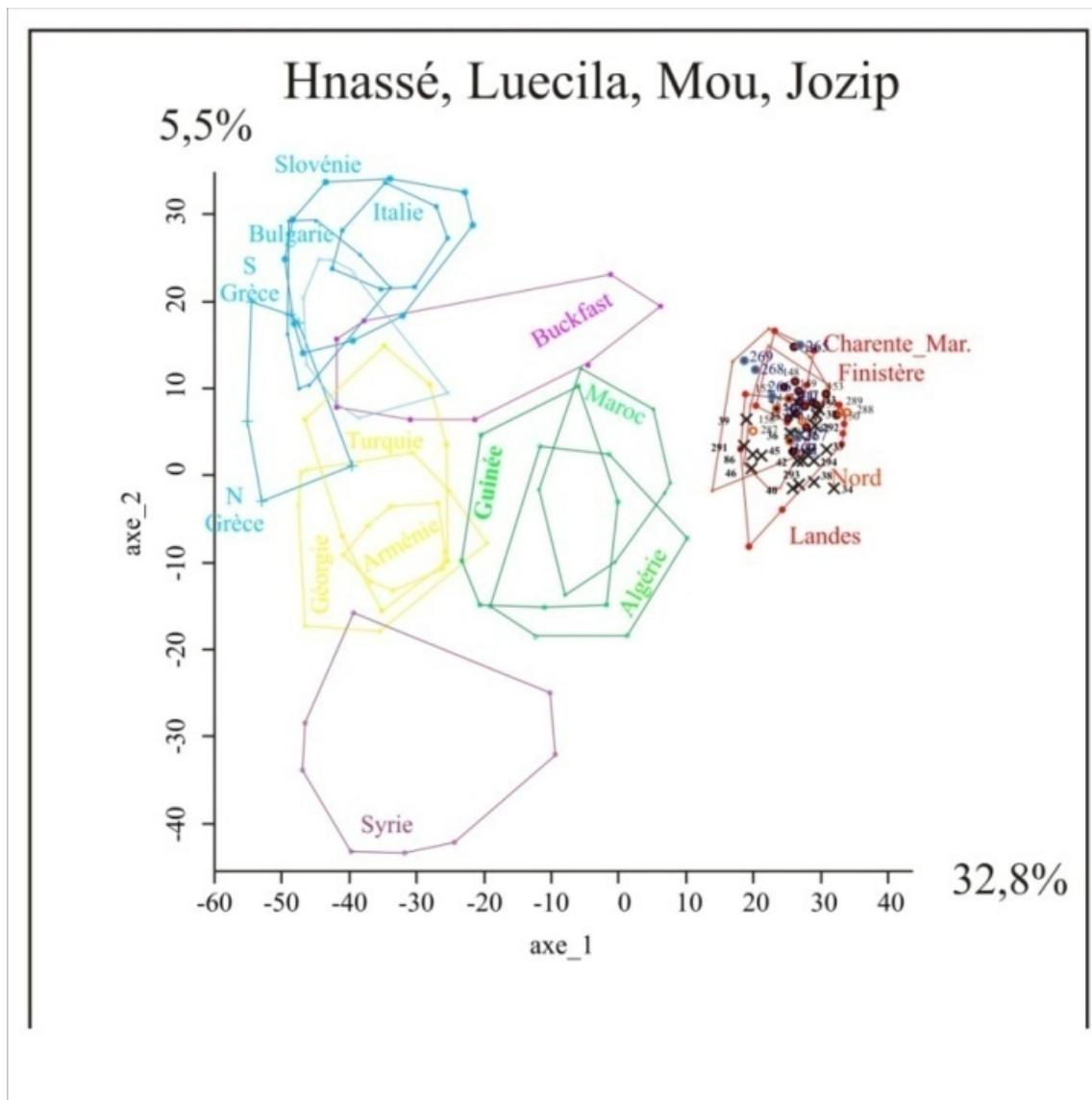


Figure 19g : Projections des individus des ruchers de Hnassé (points noirs), Lucila (cercles rouges), Mou et Josip (croix noires) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

Les abeilles des ruchers Hnassé, Lucila, Mou et Josip sont toutes localisées dans la zone des références des populations de la lignée M.

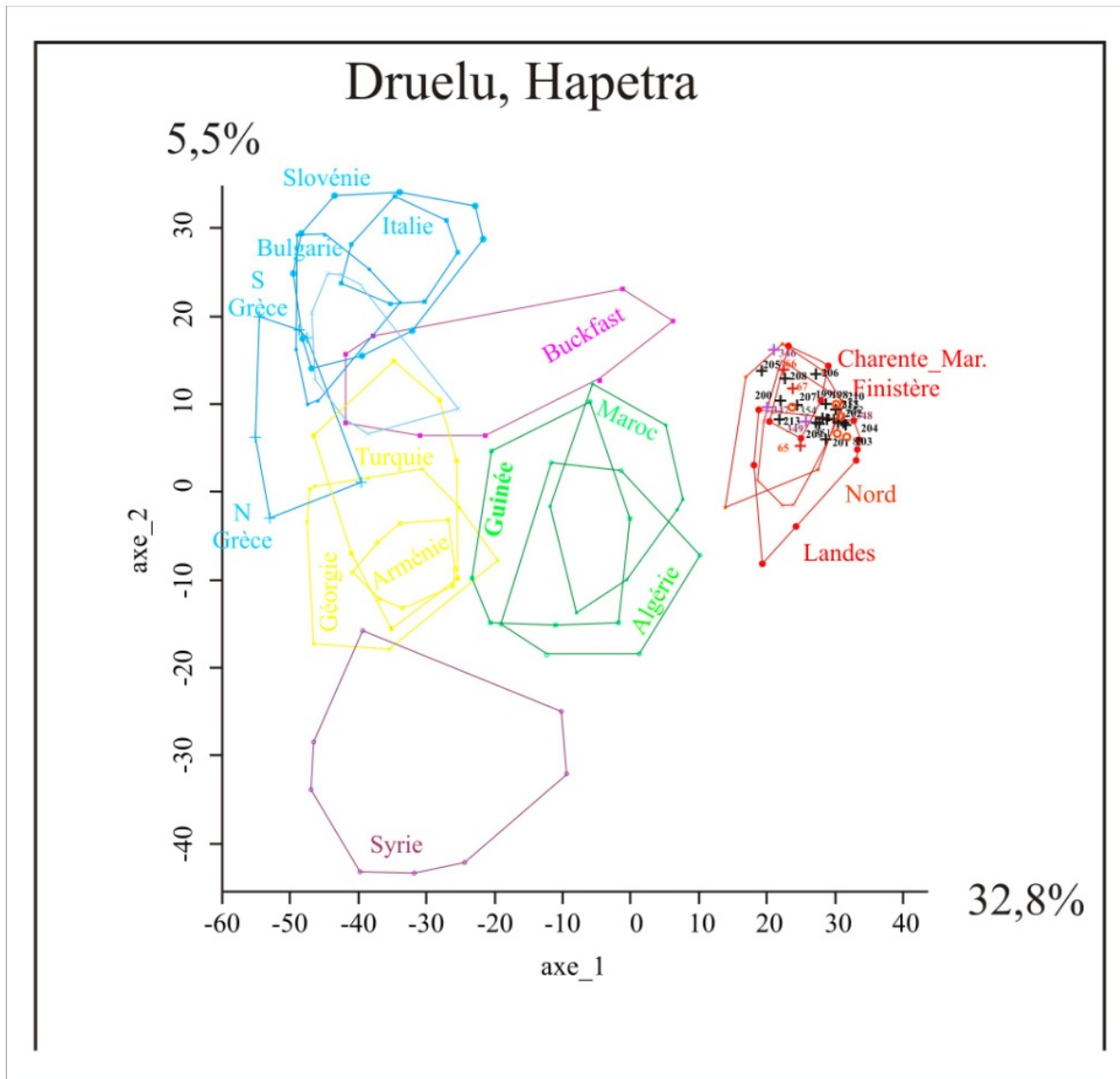


Figure 19h : Projections des individus des ruchers Druelu (croix noires et colorées) et hapetra (cercles noirs et colorés) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

Concernant les ruchers de Druelu et Hapetra, tous les échantillons sont localisés dans les limites des références M. Comme dans le cas des ruchers de Waihmené le groupe de point est plutôt situé en haut de la distribution des populations de référence M, et montrent probablement un niveau d'hétérozygotie plus faible.

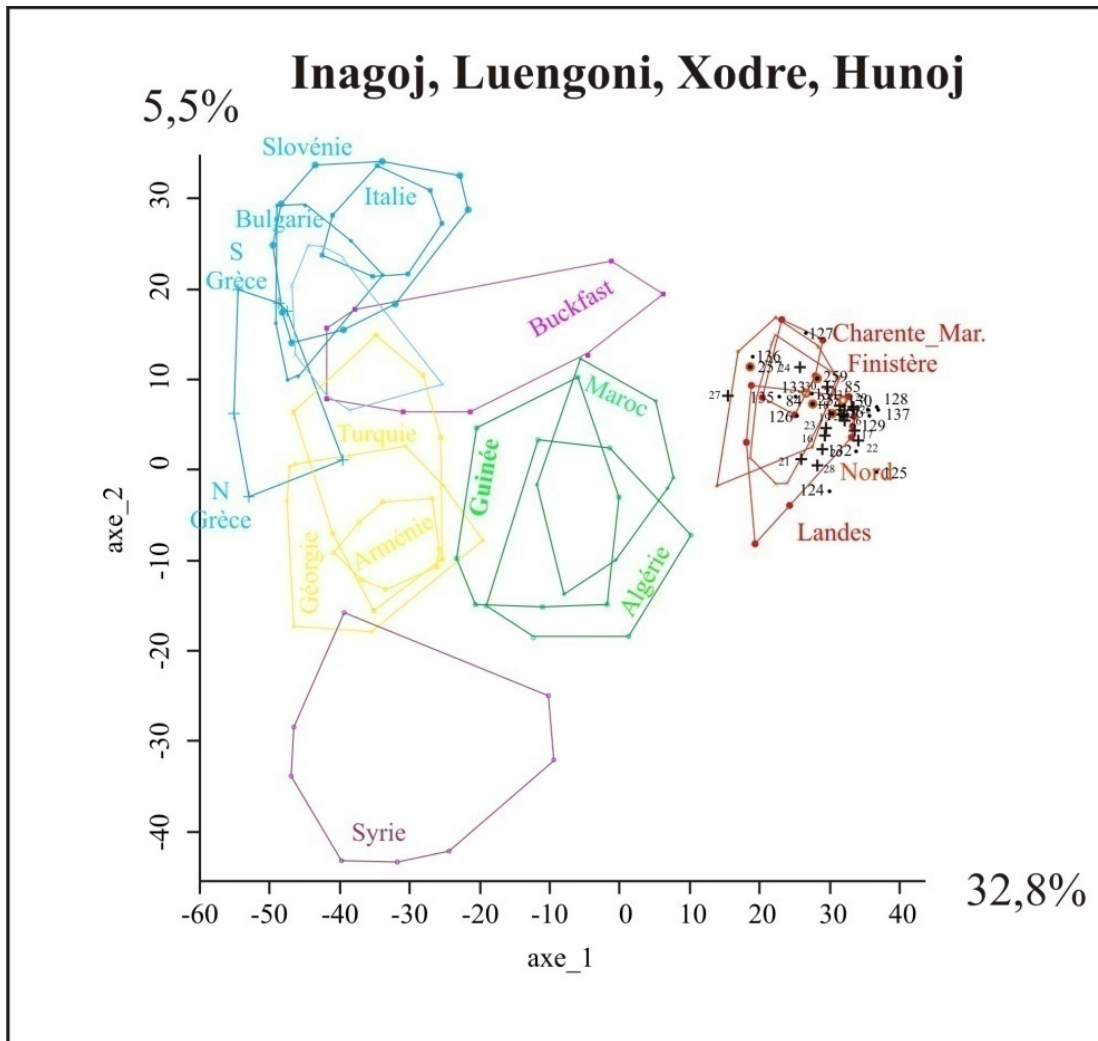


Figure 19i : Projections des individus des ruchers de Inagoj (+ noir), Luengoni (point rouge), Xodre (cercle rouge) et Hunoj (point noirs) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

Figure 19i comme dans le cas de la plupart des ruchers de l'île, les échantillons des ruchers de Inagoj, Luengoni, Xodre et Hunoj sont pour une grande majorité localisés dans les contours des populations de référence M. Seul l'individu Lif\_27 sort à droite de cette référence. Cet individu montre un niveau d'hybridation de 23%.

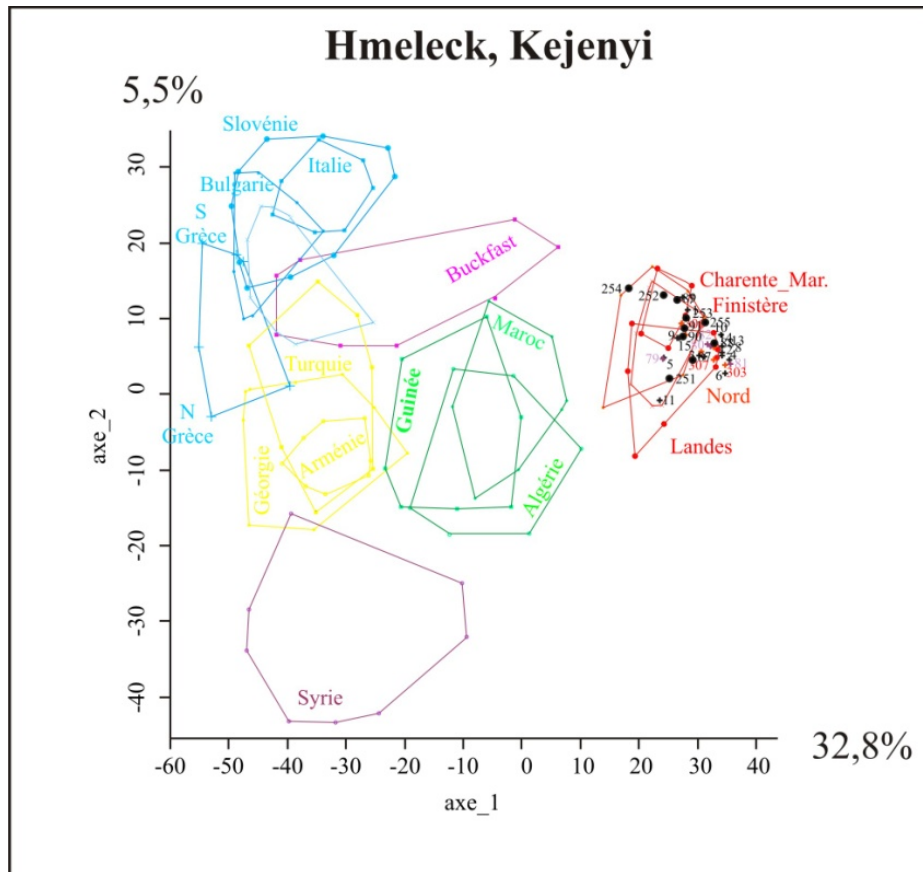


Figure 19j : Projections des individus des ruchers Hmeleck (croix mauves) et Kejenyi (points noirs) sur les deux premiers axes de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés.

Les individus des ruchers Hmeleck et Kejenyi sont également inclus dans la répartition de l'abeille noire.

### 3-2-2/ Projections selon les axes 1 et 3 de l'analyse :

Les projections des individus de l'Ile de Lifou et des populations de référence selon les axes 1 et 3 de l'analyse en coordonnées principales (figure 20) viennent confirmer les résultats de l'analyse de structuration de la population. En effet, il apparaît que selon l'axe 3 de l'analyse, qui représente 4,7 % de la variance des données, que la population de Lifou s'individualise clairement de l'ensemble des autres populations, et plus particulièrement de la lignée M. Ceci vient confirmer l'observation faite avec l'analyse réalisée avec le programme structure qui montrait que lorsque l'on prend 5 groupes de populations de référence, la population de Lifou forme un groupe à part entière. La population de l'Ile de Lifou bien que très proche génétiquement de l'abeille noire (*Apis mellifera mellifera*), montre selon cet axe, une différenciation génétique par rapport aux autres populations de cette race qui pourrait être représentative d'un particularisme insulaire.

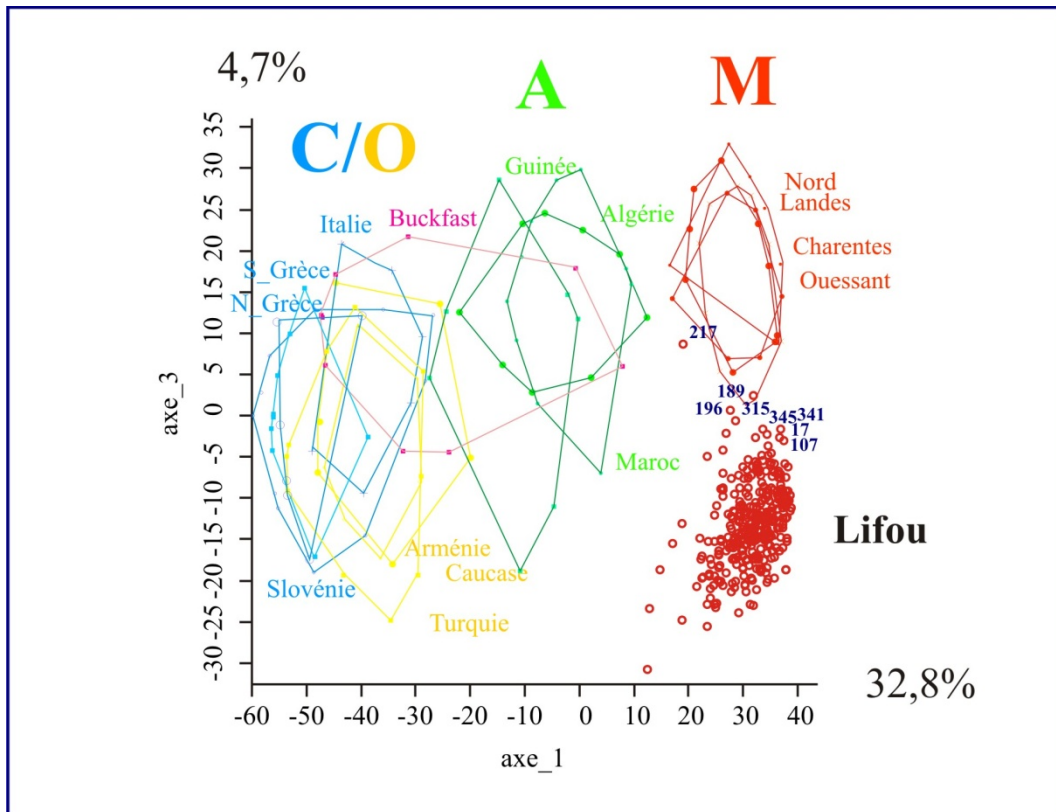


Figure 20 : Projections des individus de la population d'abeilles de Lifou (cercles rouges) selon des axes 1 et 3 de l'Analyse en Coordonnées Principales (ACP) réalisée avec la matrice des distances inter-individuelles. Seuls les pourtours des nuages de points, représentant l'ensemble des individus de chaque population de référence, ont été représentés. Les lignées évolutives d'appartenance des populations de références sont indiquées par les lettres M, A C et O.

# **CONCLUSION / PRECONISATIONS**

## **Des caractéristiques génétiques de l'abeille noire :**

La population d'abeilles mellifères de l'île de Lifou apparaît en position intermédiaire dans l'arbre portant les populations pures de références des lignées M, A, C et O et forme une branche isolée séparée des ces 4 lignées évolutives. Cette branche est située à la base de la lignée M (portant les populations de références de l'abeille noire) mais s'en distingue nettement par une branche de taille importante et un indice de validité de cette branche de 100%. Le résultat de l'Analyse en Coordonnées Principales réalisée sur la matrice de distances inter-populations, montre que la population de l'île est génétiquement proche des populations de la lignée M et que la population n'a pas été perturbée par des apports de la lignée africaine et que l'influence par la lignée orientale (caucasienne) est nulle ou de faible importance. La même analyse réalisée sur la matrice de distance entre individus confirme la proximité génétique des abeilles de Lifou avec *Apis mellifera mellifera*. En effet les projections des individus de Lifou sont retrouvés au milieu de la répartition des populations de références des populations de la lignée M selon les axes 1 et 2 de l'analyse.

## **Un faible niveau d'hybridation ou d'introgession :**

Les estimations des niveaux d'introgession réalisées avec l'ADN mitochondrial montrent la présence de 18% d'haplotype mitochondrial de la lignée C. L'utilisation des marqueurs microsatellites montrent que la population de Lifou présente un niveau d'introgession moyen de 8%, ce qui est très inférieur à celui observé avec l'ADN mitochondrial. La différence d'estimation des introgessions est sans doute à mettre au compte des pratiques apicoles. En effet des colonies d'abeilles italiennes ont été introduites sur l'île de Lifou entre 2004 et 2007 (présence de l'haplotype C 2), mais probablement en petite quantité. L'entretien des lignées maternelles (par entretien des lignées de reines) a permis le maintien sur l'île de ces types mitochondriaux (transmis maternellement) et la fréquence de cet haplotype a augmenté probablement en relation avec la multiplication de ces souches par division simple ou soit par élevage de reine. Les fécondations ayant lieu de manière naturelle, les allèles du génome nucléaire (à hérédité biparentale) importés de la lignée C sont restés quand à eux dans des proportions probablement proches des proportions initiales et ce sont dilués dans la population au cours du temps. C'est probablement ceci, qui explique le plus faible niveau d'introgessions entre le marqueur mitochondrial et les marqueurs microsatellites. Dans tous les cas, ce niveau d'introgession est inférieur à celui préconisé pour les conservatoires génétiques d'abeilles noires. En effet, le cahier des charges des conservatoires de la Fédération des conservatoires d'abeilles noire (FEEDCAN) préconise d'avoir un niveau d'introgession inférieur à 20% avec les marqueurs moléculaires.

Le niveau d'introgession estimé avec les marqueurs microsatellites est celui qu'il faut observer et est à l'heure actuelle l'un des plus faibles observé pour les populations d'abeilles noires.

## **Un fonctionnement reproducteur de la population proche du naturel :**

L'analyse des paramètres de génétique des populations, montre que l'ensemble des colonies de l'île se reproduit en panmixie et qu'il n'y a pas de sous-structuration détectée sur l'île. La population d'abeilles ne semble donc pas particulièrement perturbée par les pratiques apicoles appliquées sur l'île et se comporte comme une métapopulation.

## **Un particularisme insulaire ?**

Jusqu'à présent l'analyse des populations d'abeilles noires sur le continent ne montrait pas de différenciation des populations avec les marqueurs microsatellites. Lorsqu'une légère différenciation apparaissait, elle était plus particulièrement à mettre au compte de l'hétérogénéité des introgressions. Dans le cas de l'Ile de Lifou, le niveau d'introgression est faible et de même ordre de grandeur que certaines des populations de références M. Ces introgressions sont homogènes sur l'Ile et les différences d'estimation par zone sont probablement liées à l'échantillonnage. Pourtant le troisième axe de l'analyse en coordonnées principale montre clairement que la grande majorité des individus de Lifou forment un groupe homogène bien distinct des populations continentales. Cette différenciation représente 4% de la variance totale observée. Ceci se manifeste également par la caractérisation d'un groupe supplémentaire avec l'analyse de structuration des populations dans lequel les individus de Lifou se classent avec de fortes probabilités (voir annexe 4, colonne 7).

Cette différenciation est sans aucun doute liée à l'origine de la mise en place de la population initiale sur l'Ile. Le nombre de colonies apportées sur l'Ile lors de la constitution de la population a certainement été faible au départ ce qui a contribué à différencier cette population par effet de fondation de premier ordre. Cet effet de fondation de premier ordre a réduit la diversité de la population de Lifou, par tirage aléatoire d'une petite partie de la diversité de la population originelle. Cet événement a ensuite été suivi d'une période de dérive génétique qui a probablement contribué à augmenter la différenciation jusqu'à la mise en place d'une population de grand effectif (population actuelle). Cet effet de fondation, qui réduit la diversité génétique, peut encore être mis en évidence lorsque l'on compare les hétérozygoties moyennes par locus entre la population de Lifou ( $H_c = 0,27$ ) et les populations continentales ( $0,43 > H_c > 0,40$ ). On retrouve cet effet de fondation sur une autre population en France dans l'exemple de l'Ile d'Ouessant ( $H_c = 0,29$ ). Cet effet de fondation apparaît également lorsque l'on compare la fréquence des allèles à différents locus. Il est particulièrement visible pour le locus A113 et l'allèle 230 qui a une fréquence de 77% à Lifou alors que sa fréquence n'est que de 2% dans les populations continentales.

Mis en évidence sur quelques gènes du génome à partir des marqueurs microsatellites, cet effet de fondation a sans aucun doute eu lieu sur l'ensemble du génome. Ceci a mis en place sur l'Ile des combinaisons de gènes particulières qui ont été soumises à des pressions de sélection naturelle locales et a sans doute contribué à mettre en place un particularisme insulaire qu'il serait intéressant d'étudier sur le plan de l'éco-éthologie.

## **Conclusion :**

La population de Lifou trouve bien son origine génétique dans la population d'abeilles noires d'Europe de l'Ouest (*Apis mellifera mellifera*). Cette origine reste encore prédominante, malgré l'introduction plus récente d'abeilles Italiennes, qui a été ponctuelle et de faible importance ne laissant que quelques traces d'introgressions dans les populations. La population de l'Ile est bien une population d'abeilles noires qui présente toutefois un particularisme insulaire liée à l'histoire de cette population. Cette population semble homogène sur le plan génétique et par conséquent la totalité de l'Ile peut servir de conservatoire ou de réservoir de gènes pour *Apis mellifera mellifera*. Il est à noter que la sélection naturelle ayant eu l'occasion d'œuvrer pendant près de 150 ans, la population est sans doute maintenant adaptée à un environnement particulier de climat et de flore tropical. Elle sera donc particulièrement intéressante comme conservatoire d'abeille noire et pour servir de réservoir de gène pour l'utilisation de cette souche en Nouvelle Calédonie.



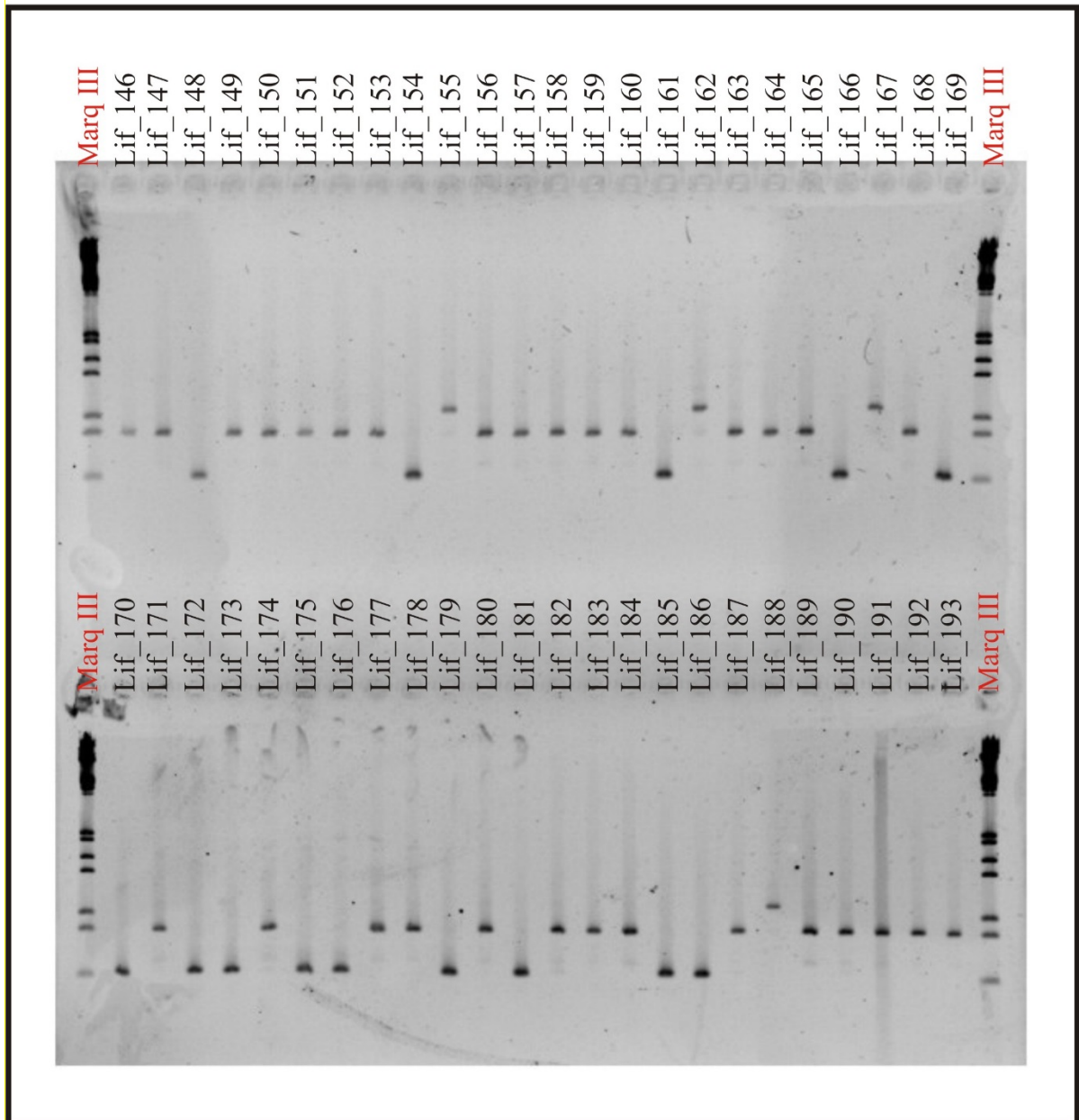
## Références bibliographiques

- Alburaki M, Bertrand B, Legout H, Moulin S, Alburaki A, Sheppard WS, Garnery L (2013). A fifth major genetic group among honeybees revealed in Syria. *BMC Genetics*, **14**: 117.
- Cavalli-Sforza L. L., Edwards A. W. F., 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures, *Am. J. Hum. Genet.* 19, 233-257.
- Chakraborty R., 1993. Jin L., A unified approach to study hypervariable polymorphism : statistical considerations of determining relatedness and population distances, in Pena S. D. J
- Cornuet *et al.* 1999 : logiciel GENECLASS (version 1.0.02;).
- Cornuet et Piry 2000: logiciel treemaker (version 1.0.1) A windows program for making NJ dendrograms and assigning a bootstrap value between the nodes. Computer software distributed by the authors.
- De la Rúa P., Serrano J., Gallià J., 1998. Mitochondrial DNA variability in the Canary Islands honeybees (*Apis mellifera* L.), *Mol. Ecol.* 7, 1543-1547.
- De la Rúa P., R. Hernandez-Garcia, B.V. Pedersen, J. Gallià J., and J. Serrano (2004) Molecular diversity of the honeybee *Apis mellifera iberica* L. (Hymenoptera: Apidae) from western Andalusia. *Arch. Zootec.* 53: 195-203
- Estoup A., Garnery L., Solignac M., Cornuet J-M., 1995. Microsatellite variation in honey bees (*Apis mellifera*) populations: hierarchical genetic structure and test of infinite and stepwise mutation models. *Genetics* 140, 679-695.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* **14**: 2611-2620.
- Franck P, L. Garnery, M. Solignac and J.-M. Cornuet, 1998. The origin of West European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): new insights from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution* 52, 1119-1134.
- Franck P, L. Garnery, G. Celebrano, M. Solignac, J.M. Cornuet, 2000. Hybrid origins of the Italian honey bee (*Apis mellifera ligustica* and *A. m. sicula*). *Mol. Ecol.* 9, 907-921.
- Franck P, L. Garnery, A. Loiseau, B.P. Oldroyd, H.R. Hepburn, M. Solignac and J.-M. Cornuet (2001) Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity* 86: 420-430
- Garnery L., J.M. Cornuet, and M. Solignac, 1992. Evolutionary history of the honeybee (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mol. Ecol.* 3, 145-154.
- Garnery L., M. Solignac, G. Celebrano, and J.M. Cornuet, 1993. A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L.: *Experientia* 49:1016-1021.
- Garnery L., E.H. Mosshine and J.M. Cornuet, 1995. Mitochondrial DNA variation in Moroccan and Spanish honey bee populations. *Mol. Ecol.* 4:465-471.
- Garnery L., P. Franck, E. Baudry, D. Vautrin, J.M. Cornuet, et M. Solignac, (1998a) Genetic biodiversity of the West european honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*) I: Mitochondrial DNA. *Gen. Sel. Evol.* 30 (1): 31-47.
- Garnery L., P. Franck, E. Baudry, D. Vautrin, J.M. Cornuet, et M. Solignac, (1998b) Genetic biodiversity of the West european honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*) II: Microsatellite loci. *Gen. Sel. Evol.* 30 (1): 49-74.
- Goetze G., 1964. Die Honigbiene in natürlicher und künstlicher Zuchtauslese, Parey, Hamburg

- Langella, 1999 logiciel POPULATIONS (version 1.2.21).
- Langella, 2001 logiciel TREEPLOT (version 0.6) .
- Langella 2001 programme NEEES (version 0.8).
- Nei M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, *Genetics* 47, 253-259.
- Nei M., Tajima F., 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases, *Genetics* 97, 145-163.
- Paetkau D., Calvert W., Stirling I., Strobeck C., 1995. Microsatellite analysis of population structure in canadian polar bear., *Mol. Ecol.* 4, 347-354.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**: 945-959.
- Raymond M., Rousset F., 1995. Genepop (Version 1.2) : population genetics software for exact test and ecumenism, *J. Hered.* 86, 248-250.
- Rosenberg NA (2004). DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Mol Ecol Notes* 4: 137-138
- Ruttner F., Tassencourt L., Louveaux J., Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. *Apidologie* 9 (1978): 363-381
- Ruttner F., 1988. Biogeography and taxonomy of honey bees, Springer-Verlag, Berlin, pp 284
- Saitou N., Nei M., 1987. The neighbor-joining method : a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol. Biol. Evol.* 4, 406-425.
- Takezaki N, Nei M., 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA, *Genetics* 144, 389-399.
- Walsh P.S., Metzger D.A., Higushi R. (1991) Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR based typing from forensic material. *Biotechniques* 10: 506-513

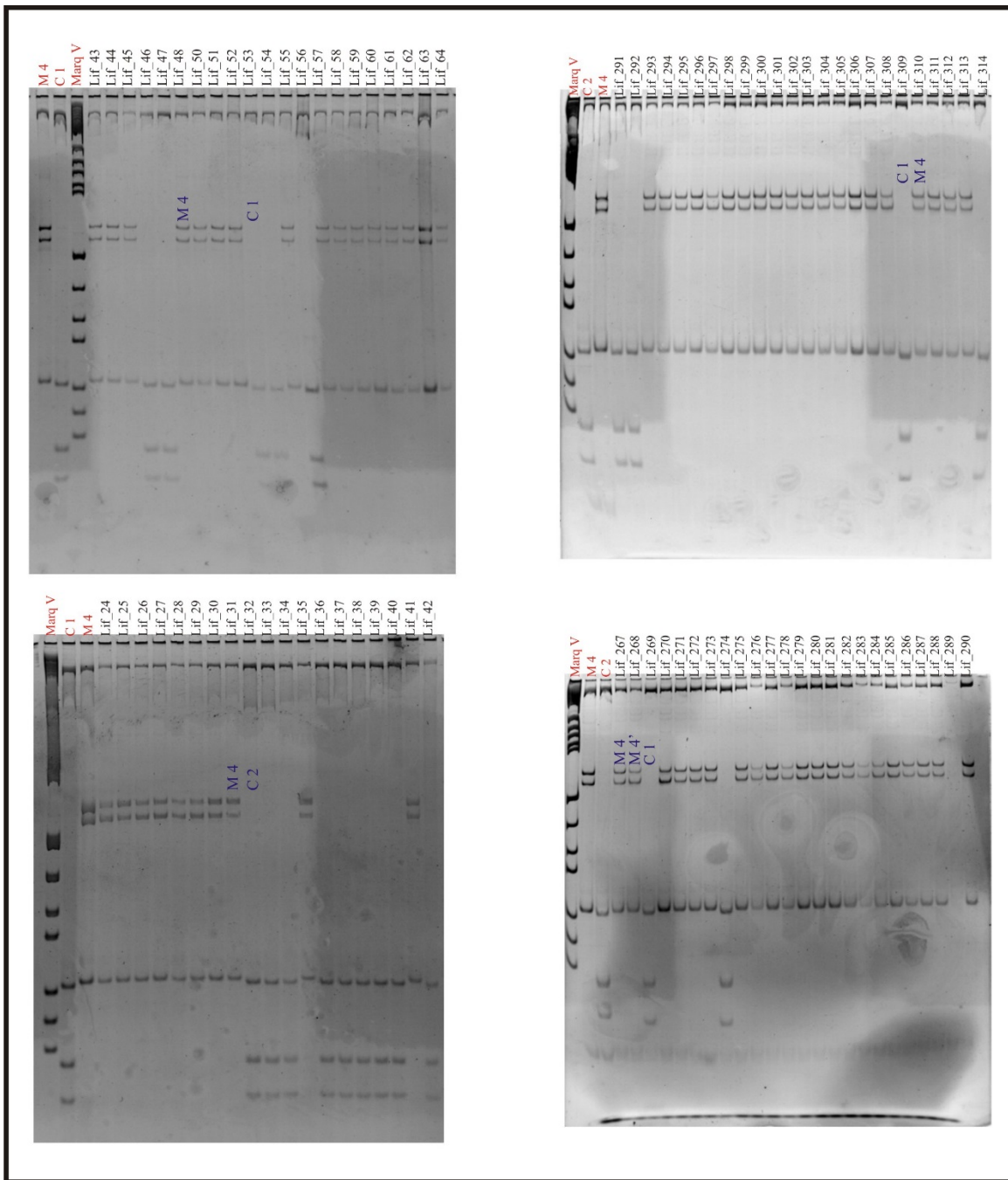
# ANNEXES

# Annexe 1



Annexe 1 : Exemple de profil de migration en gel d'agarose des produits d'amplification de la région intergénique COI-COII. Chaque gel comporte un marqueur de taille (Marq III). Chaque individu correspond à un puits de dépôt (ligne verticale). On distingue sur les gels 3 tailles différentes de produits d'amplification. Le type ultra-court de structure Q (*ie* : Lif\_148, Lif\_154, Lif\_161, Lif\_170, Lif\_171 et Lif\_172). Des fragments moyens de structure PQQ (Lif\_146, Lif\_147, Lif\_171, et Lif\_174), des fragments longs de structure PQQQ (Lif\_155, Lif\_162, Lif\_167 et Lif\_188).

## Annexe 2



Annexe 2 : Exemple de profils de migration en gels poly-acrylamide des produits d'amplification de la région intergénique COI-COII après digestion par l'enzyme *Dra* I. Chaque gel comporte un marqueur de taille (MarqV) et des témoins dont le profil est connu M4 et C1 ou C2. Des haplotypes différents sont indiqués sur les gels (*ie* C1, C2, M4 et M4')

## Annexe 3

Résultats totaux obtenus avec le test mitochondrial pour chacun des individus de l'étude. La première colonne correspond au numéro de l'échantillon. La seconde colonne indique la structure de la région intergénétique et la troisième colonne la lignée et le n° d'haplotype de l'échantillon.

	Long	Haplot		Long	Haplot		Long	Haplot
Lif_1	PQQ	M 4	Lif_44	PQQ	M 4	Lif_88	PQQ	M 4
Lif_2	PQQ	M 4	Lif_45	PQQ	M 4	Lif_89	PQQ	M 4
Lif_3	PQQ	M 4	Lif_46	Q	C 1	Lif_90	PQQ	M 4
Lif_4	PQQ	M 4	Lif_47	Q	C 1	Lif_91	PQQQ	M 9'
Lif_5	PQQQ	M 4'	Lif_48	PQQ	M 4	Lif_92	PQQ	M 4
Lif_6	PQQ	M 4	Lif_50	PQQ	M 4	Lif_93	PQQ	M 4
Lif_7	PQQ	M 4	Lif_51	PQQ	M 4	Lif_94	PQQ	M 4
Lif_8	Q	C 2	Lif_52	PQQ	M 4	Lif_95	PQQ	M 4
Lif_9	PQQ	M 4	Lif_53	Q	C 1	Lif_96	PQQ	M 4
Lif_10	PQQ	M 4	Lif_54	Q	C 1	Lif_97	PQQ	M 4
Lif_11	PQQ	M 4	Lif_55	PQQ	M 4	Lif_98	PQQ	M 4
Lif_12	PQQQ	M 4'	Lif_56	Q	C 1	Lif_99	PQQ	M 4
Lif_13	PQQ	M 4	Lif_57	PQQ	M 4	Lif_100	PQQQ	M 4'
Lif_14	PQQ	M 4	Lif_58	PQQ	M 4	Lif_101	PQQ	M 4
Lif_15	PQQQ	M 4'	Lif_59	PQQ	M 4	Lif_102	PQQ	M 4
Lif_16	PQQ	M 4	Lif_60	PQQ	M 4	Lif_103	PQQ	M 4
Lif_17	PQQQ	M 4'	Lif_61	PQQ	M 4	Lif_104	Q	C 1
Lif_18	PQQ	M 4	Lif_62	PQQ	M 4	Lif_105	PQQ	M 4
Lif_19	PQQQ	M 4'	Lif_63	PQQ	M 4	Lif_106	PQQ	M 4
Lif_20	PQQ	M 4	Lif_64	PQQ	M 4	Lif_107	PQQQ	M 4'
Lif_21	PQQ	M 4	Lif_65	PQQQ	M 4'	Lif_108	PQQ	M 4
Lif_22	PQQQ	M 4'	Lif_66	Q	C 1	Lif_109	PQQ	M 4
Lif_23	PQQQ	M 4'	Lif_67	Q	C 1	Lif_110	PQQ	M 4
Lif_24	PQQQ	M 4'	Lif_68	PQQQ	M 4'	Lif_111	PQQQ	M 4'
Lif_25	PQQ	M 4	Lif_69	PQQQ		Lif_112	PQQQ	M 4'
Lif_26	PQQQ	M 4'	Lif_70	Q	C 1	Lif_113	PQQ	M 4
Lif_27	PQQQ	M 4'	Lif_71	PQQ	M 4	Lif_114	PQQ	M 4
Lif_28	PQQQ	M 4'	Lif_72	Q	C 2	Lif_115	PQQ	M 4
Lif_29	PQQQ	M 4'	Lif_73	PQQ	M 4	Lif_116	PQQ	M 4
Lif_30	PQQ	M 4	Lif_74	PQQ	M 4	Lif_117	PQQ	M 4
Lif_31	PQQ	M 4	Lif_75	PQQ	M 4	Lif_118	PQQQ	M 4'
Lif_32	Q	C 2	Lif_76	PQQ	M 4	Lif_119	Q	C 1
Lif_33	Q	C 2	Lif_77	PQQ	M 4	Lif_120	PQQ	M 4
Lif_34	Q	C 2	Lif_78	PQQ	M 4	Lif_121	PQQQ	M 4'
Lif_35	PQQ	M 4	Lif_79	PQQQ	M 4'	Lif_122	PQQ	M 4
Lif_36	Q	C 2	Lif_80	PQQ	M 4	Lif_123	PQQ	M 4
Lif_37	Q	C 2	Lif_81	PQQ	M 4	Lif_124	PQQ	M 4
Lif_38	Q	C 2	Lif_82	PQQ	M 4	Lif_125	PQQ	M 4
Lif_39	Q	C 2	Lif_83	PQQQ	M 4'	Lif_126	PQQ	M 4
Lif_40	Q	C 2	Lif_84	PQQQ	M 4'	Lif_127	PQQ	M 4
Lif_41	PQQ	M 4	Lif_85	PQQ	M 4	Lif_128	Q	C 1
Lif_42	Q	C 2	Lif_86	PQQ	M 4	Lif_129	PQQQ	M 4'
Lif_43	PQQ	M 4	Lif_87	PQQ	M 4	Lif_130	PQQ	M 4

	Long	Haplot		Long	Haplot		Long	Haplot
Lif_131	Q	C 2	Lif_182	PQQ	M 4	Lif_225	PQQ	M 4
Lif_132	PQQQ	M 4'	Lif_183	PQQ	M 4	Lif_226	PQQ	M 4
Lif_133	PQQQ	M 4'	Lif_184	PQQ	M 4	Lif_227	PQQ	M 4
Lif_134	PQQ	M 4	Lif_185	Q	C 2	Lif_228	PQQ	M 4
Lif_135	PQQQ	M 4'	Lif_186	Q	C 2	Lif_229	PQQ	M 4
Lif_136	PQQQ	M 4'	Lif_187	PQQ	M 4	Lif_230	PQQQ	M 4'
Lif_137	PQQ	M 4	Lif_188	PQQQ	M 4'	Lif_231	PQQQ	M 4'
Lif_146	PQQ	M 4	Lif_189	PQQ	M 4	Lif_232	PQQ	M 4
Lif_147	PQQ	M 4	Lif_190	PQQ	M 4	Lif_233	PQQ	M 4
Lif_148	Q	C 2	Lif_191	PQQ	M 4	Lif_234	PQQ	M 4
Lif_149	PQQ	M 4	Lif_192	PQQ	M 4	Lif_235	PQQ	M 4
Lif_150	PQQ	M 4	Lif_193	PQQ	M 4	Lif_236	PQQ	M 4
Lif_151	PQQ	M 4	Lif_194	PQQQ	M 4'	Lif_237	PQQ	M 4
Lif_152	PQQ	M 4	Lif_195	PQQQ	M 4'	Lif_238	PQQQ	M 4'
Lif_153	PQQ	M 4	Lif_196	PQQ	M 4	Lif_239	PQQQ	M 4'
Lif_154	Q	C 2	Lif_197	PQQ	M 4	Lif_240	PQQQ	M 4'
Lif_155	PQQQ	M 4'	Lif_198	Q	C 2	Lif_241	PQQ	M 4
Lif_156	PQQ	M 4	Lif_199	Q	C 2	Lif_242	PQQ	M 4
Lif_157	PQQ	M 4	Lif_200	Q	C 2	Lif_243	PQQQ	M 4'
Lif_158	PQQ	M 4	Lif_201	Q	C 2	Lif_244	PQQQ	M 4'
Lif_159	PQQ	M 4	Lif_202	PQQ	M 4	Lif_245	PQQ	M 4
Lif_160	PQQ	M 4	Lif_203	PQQ	M 4	Lif_246	PQQQ	M 4'
Lif_161	Q	C 1	Lif_204	PQQ	M 4	Lif_247	PQQ	M 4
Lif_162	PQQQ	M 4'	Lif_205	Q	C 2	Lif_248	PQQ	M 4
Lif_163	PQQ	M 4	Lif_206	Q	C 2	Lif_249	PQQQ	M 4'
Lif_164	PQQ	M 4	Lif_207	Q	C 2	Lif_250	PQQ	M 4
Lif_165	PQQ	M 4	Lif_208	PQQ	M 4	Lif_251	PQQ	M 4
Lif_166	Q	C 2	Lif_209	Q	C 2	Lif_252	PQQ	M 4
Lif_167	PQQQ	M 4'	Lif_210	Q	C 2	Lif_253	PQQQ	M 4'
Lif_168	PQQ	M 4	Lif_211	Q	C 2	Lif_254	PQQQ	M 4'
Lif_169	Q	C 2	Lif_212	PQQ	M 4	Lif_255	PQQ	M 4
Lif_170	Q	C 2	Lif_213	PQQ	M 4	Lif_256	PQQQ	M 4'
Lif_171	PQQ	M 4	Lif_214	PQQ	M 4	Lif_257	PQQQ	M 4'
Lif_172	Q	C 1	Lif_215	PQQ	M 4	Lif_258	PQQQ	M 4'
Lif_173	Q	C 1	Lif_216	PQQ	M 4	Lif_259	Q	C 1
Lif_174	PQQ	M 4	Lif_217	PQQ	M 4	Lif_260	PQQQ	M 4'
Lif_175	Q	C 1	Lif_218	PQQ	M 4	Lif_261	PQQ	M 4
Lif_176	Q	C 2	Lif_219	PQQQ	M 9'	Lif_262	PQQ	M 4
Lif_177	PQQ	M 4	Lif_220	PQQ	M 4	Lif_263	PQQQ	M 4'
Lif_178	PQQ	M 4	Lif_221	PQQ	M 4	Lif_264	PQQQ	M 4'
Lif_179	Q	C 1	Lif_222	PQQ	M 4	Lif_265	Q	C 2
Lif_180	PQQ	M 4	Lif_223	PQQ	M 4	Lif_266	PQQ	M 4
Lif_181	Q	C 2	Lif_224	PQQ	M 4	Lif_267	PQQ	M 4

	Long	Haplot		Long	Haplot		Long	Haplot
Lif_268	PQQQ	M 4'	Lif_298	PQQ	M 4	Lif_327	PQQ	M 4
Lif_269	Q	C 1	Lif_299	PQQ	M 4	Lif_328	PQQ	M 4
Lif_270	PQQQ	M 4'	Lif_300	PQQ	M 4	Lif_329	PQQ	M 4
Lif_271	PQQ	M 4	Lif_301	PQQ	M 4	Lif_330	PQQ	M 4
Lif_272	PQQ	M 4	Lif_302	PQQ	M 4	Lif_331	PQQ	M 4
Lif_273	PQQ	M 4	Lif_303	PQQ	M 4	Lif_332	PQQ	M 4
Lif_274	Q	C 1	Lif_304	PQQ	M 4	Lif_333	Q	C 2
Lif_275	PQQ	M 4	Lif_305	PQQ	M 4	Lif_334	PQQ	M 4
Lif_276	PQQQ	M 4'	Lif_306	PQQ	M 4	Lif_335	PQQ	M 4
Lif_277	PQQ	M 4	Lif_307	PQQ	M 4	Lif_336	PQQ	M 4
Lif_278	PQQQ	M 4'	Lif_308	PQQQ	M 4'	Lif_337	PQQ	M 4
Lif_279	PQQ	M 4	Lif_309	Q	C 1	Lif_338	PQQ	M 4
Lif_280	PQQ	M 4	Lif_310	PQQ	M 4	Lif_339	PQQ	M 4
Lif_281	PQQ	M 4	Lif_311	PQQ	M 4	Lif_340	PQQ	M 4
Lif_282	PQQ	M 4	Lif_312	PQQ	M 4	Lif_341	Q	C 2
Lif_283	PQQQ	M 4'	Lif_313	PQQ	M 4	Lif_342	PQQ	M 4
Lif_284	PQQQ	M 4'	Lif_314	Q	C 1	Lif_343	PQQ	M 4
Lif_285	PQQ	M 4	Lif_315	PQQ	M 4	Lif_344	PQQ	M 4
Lif_286	PQQ	M 4	Lif_316	PQQ	M 4	Lif_345	PQQ	M 4
Lif_287	PQQ	M 4	Lif_317	PQQ	M 4	Lif_346	PQQ	M 4
Lif_288	PQQ	M 4	Lif_318	PQQ	M 4	Lif_347	PQQ	M 4
Lif_289	PQQ	M 4	Lif_319	PQQ	M 4	Lif_348	PQQ	M 4
Lif_290	PQQ	M 4	Lif_320	Q	C 1	Lif_349	PQQ	M 4
Lif_291	Q	C 2	Lif_321	PQQ	M 4	Lif_350	PQQ	M 4
Lif_292	Q	C 2	Lif_322	Q	C 2	Lif_351	Q	C 2
Lif_293	PQQ	M 4	Lif_323	PQQQ	M 4'	Lif_352	PQQ	M 4
Lif_294	PQQ	M 4	Lif_324	Q	C 1	Lif_353	PQQ	M 4
Lif_295	PQQ	M 4	Lif_325	PQQ	M 4	Lif_354	Q	C 2
Lif_296	PQQ	M 4	Lif_326	PQQ	M 4	Lif_355	PQQ	M 4
Lif_297	PQQQ	M 4'						



## Annexe 4

Annexe 4 : Résultats des différentes méthodes d'estimations des introgressions à partir des données microsatellites. En première colonne est indiqué le n° de l'échantillon. La seconde colonne correspond au pourcentage d'introgression (hybridation) estimé par la méthode des allèles diagnostiques. Les colonnes 3 à 6 correspondent aux probabilités d'appartenance de chaque individu à une race géographique selon la méthode bayésienne (colonnes 7 à 10). Pour ce test, les deux premières colonnes indiquent respectivement le classement de rang 1 et sa probabilité de classement et les deux suivantes le classement de second rang. Les colonnes 7 à 11 indiquent la probabilité de classement dans un des 5 groupes déterminés à partir du programme Structure. Pour ce dernier traitements la population de Lifou apparait comme un groupe à part entière et la probabilité de classement en tient compte dans les calculs.

Echantillon	%age introg	rang 1	score %	rang 2	score %	Structure (K = 5)				
						Lifou	M	C	O	A
Lif 1	14%	mellifera	100,0			88,9%	0,3%	0,6%	0,2%	<b>10,0%</b>
Lif 2	0%	mellifera	100,0			98,4%	0,5%	0,2%	0,2%	0,7%
Lif 3	9%	mellifera	100,0			98,4%	0,5%	0,4%	0,2%	0,5%
Lif 4	0%	mellifera	100,0			94,4%	0,5%	0,1%	0,1%	4,8%
Lif 5	18%	mellifera	100,0			82,1%	1,0%	4,4%	3,4%	9,1%
Lif 6	0%	mellifera	100,0			96,8%	0,7%	0,1%	0,2%	2,2%
Lif 7	9%	mellifera	100,0			86,7%	1,0%	3,0%	0,6%	8,7%
Lif 8	5%	mellifera	100,0			96,7%	0,4%	0,2%	0,1%	2,6%
Lif 9	9%	mellifera	100,0			96,1%	0,3%	0,3%	0,2%	3,0%
Lif 10	0%	mellifera	100,0			94,9%	1,1%	0,2%	0,1%	3,7%
Lif 11	18%	mellifera	100,0			91,2%	0,4%	0,9%	3,3%	4,2%
Lif 12	9%	mellifera	100,0			98,3%	0,4%	0,5%	0,3%	0,5%
Lif 13	0%	mellifera	100,0			97,2%	0,5%	0,1%	0,1%	2,1%
Lif 14	5%	mellifera	100,0			94,9%	0,5%	0,2%	0,2%	4,3%
Lif 15	9%	mellifera	100,0			96,8%	0,4%	0,3%	0,2%	2,2%
Lif 16	9%	mellifera	100,0			89,9%	0,5%	0,2%	0,2%	9,3%
Lif 17	0%	mellifera	100,0			91,6%	3,5%	0,2%	0,2%	4,5%
Lif 18	9%	mellifera	100,0			95,7%	0,5%	0,2%	0,2%	3,5%
Lif 19	5%	mellifera	100,0			94,9%	0,9%	0,4%	0,2%	3,6%
Lif 20	9%	mellifera	100,0			98,0%	0,7%	0,3%	0,4%	0,6%
Lif 21	14%	mellifera	100,0			90,4%	0,4%	0,3%	0,7%	8,3%
Lif 22	0%	mellifera	100,0			97,2%	0,6%	0,1%	0,2%	1,9%
Lif 23	14%	mellifera	100,0			89,3%	0,5%	0,4%	0,3%	9,6%
Lif 24	14%	mellifera	100,0			84,1%	3,9%	2,1%	1,1%	8,7%
Lif 25	0%	mellifera	100,0			95,0%	0,5%	0,2%	0,1%	4,2%
Lif 26	9%	mellifera	100,0			98,9%	0,3%	0,2%	0,1%	0,4%
Lif 27	<b>23%</b>	mellifera	100,0			87,8%	0,6%	7,1%	1,7%	2,8%
Lif 28	9%	mellifera	100,0			95,3%	0,9%	0,2%	0,3%	3,2%
Lif 29	9%	mellifera	100,0			91,2%	0,5%	0,3%	0,2%	7,8%
Lif 30	9%	mellifera	100,0			98,6%	0,5%	0,3%	0,2%	0,5%
Lif 31	5%	mellifera	100,0			89,2%	1,2%	0,2%	0,2%	9,3%
Lif 32	9%	mellifera	100,0			98,5%	0,4%	0,3%	0,2%	0,6%
Lif 33	0%	mellifera	100,0			97,2%	0,8%	0,2%	0,1%	1,7%
Lif 34	5%	mellifera	99,9	iberiensis	0,10	95,5%	1,2%	0,1%	0,8%	2,4%
Lif 35	9%	mellifera	100,0			93,0%	0,4%	0,6%	0,2%	5,8%
Lif 36	9%	mellifera	100,0			82,5%	10,6%	1,8%	3,6%	1,4%
Lif 37	5%	mellifera	100,0			90,1%	0,4%	0,2%	0,1%	9,2%
Lif 38	5%	mellifera	100,0			88,7%	1,2%	0,2%	0,2%	9,7%
Lif 39	14%	mellifera	100,0			88,6%	0,5%	7,0%	0,3%	3,6%
Lif 40	5%	mellifera	100,0			88,1%	2,0%	1,6%	3,0%	5,5%
Lif 41	9%	mellifera	99,7	iberiensis	0,28	98,8%	0,4%	0,2%	0,2%	0,4%
Lif 42	5%	mellifera	100,0			98,2%	0,5%	0,2%	0,2%	0,9%
Lif 43	5%	mellifera	100,0			90,1%	0,4%	0,2%	0,1%	9,2%
Lif 44	5%	mellifera	100,0			94,9%	1,9%	0,8%	0,5%	2,1%
Lif 45	9%	mellifera	100,0			84,6%	3,9%	0,9%	2,4%	8,3%
Lif 46	23%	mellifera	100,0			96,8%	0,3%	1,1%	1,4%	0,4%
Lif 47	9%	mellifera	100,0			98,6%	0,4%	0,2%	0,2%	0,7%
Lif 48	14%	mellifera	100,0			98,5%	0,4%	0,4%	0,3%	0,4%

Echantillon	%age introg	rang 1	score %	rang 2	score %	Structure (K = 5)				
						Lifou	M	C	O	A
Lif_50	5%	mellifera	100,0			72,6%	20,2%	0,4%	0,7%	6,2%
Lif_51	0%	mellifera	100,0			94,2%	0,6%	0,2%	0,2%	4,8%
Lif_52	5%	mellifera	100,0			96,5%	0,6%	0,2%	0,2%	2,5%
Lif_53	0%	mellifera	100,0			98,2%	0,7%	0,2%	0,1%	0,8%
Lif_54	9%	mellifera	100,0			93,9%	1,0%	0,3%	0,3%	4,5%
Lif_55	5%	mellifera	100,0			91,8%	0,4%	0,1%	0,1%	7,5%
Lif_56	18%	mellifera	100,0			90,5%	0,3%	0,9%	1,1%	7,3%
Lif_57	14%	mellifera	100,0			89,5%	0,5%	0,1%	0,2%	9,7%
Lif_58	14%	mellifera	100,0			96,9%	0,3%	0,3%	0,3%	2,2%
Lif_59	18%	mellifera	100,0			92,3%	0,3%	0,8%	0,3%	6,2%
Lif_60	9%	mellifera	100,0			88,9%	0,4%	0,7%	0,2%	9,9%
Lif_61	9%	mellifera	100,0			98,0%	0,4%	0,2%	0,4%	1,0%
Lif_62	9%	mellifera	100,0			97,0%	0,4%	0,2%	0,2%	2,3%
Lif_63	5%	mellifera	100,0			86,2%	0,5%	2,7%	0,3%	<b>10,3%</b>
Lif_64	5%	mellifera	100,0			89,0%	0,9%	0,2%	0,1%	9,8%
Lif_65	14%	mellifera	100,0			88,9%	0,3%	0,2%	0,6%	<b>10,0%</b>
Lif_66	14%	mellifera	100,0			95,9%	0,7%	0,5%	0,2%	2,8%
Lif_67	9%	mellifera	100,0			95,1%	1,0%	0,4%	0,3%	3,2%
Lif_68	14%	mellifera	100,0			97,4%	0,8%	0,7%	0,6%	0,5%
Lif_69	0%	mellifera	100,0			93,6%	1,3%	0,2%	0,1%	4,8%
Lif_70	9%	mellifera	100,0			97,1%	0,4%	0,3%	0,3%	2,0%
Lif_71	0%	mellifera	100,0			92,2%	1,0%	0,2%	0,2%	6,4%
Lif_72	5%	mellifera	100,0			95,1%	2,6%	0,8%	0,4%	1,2%
Lif_73	5%	mellifera	100,0			94,9%	0,6%	0,2%	0,3%	4,0%
Lif_74	0%	mellifera	100,0			93,2%	1,1%	0,1%	0,1%	5,5%
Lif_75	9%	mellifera	100,0			94,5%	0,4%	0,3%	0,2%	4,6%
Lif_76	5%	mellifera	100,0			93,8%	0,4%	0,2%	0,2%	5,5%
Lif_77	14%	mellifera	100,0			97,9%	0,5%	0,4%	0,4%	0,8%
Lif_78	14%	mellifera	100,0			90,2%	0,6%	0,2%	7,8%	1,3%
Lif_79	14%	mellifera	100,0			86,8%	0,7%	1,3%	2,0%	9,3%
Lif_80	5%	mellifera	99,9	iberiensis	0,10	97,0%	1,2%	0,2%	0,2%	1,4%
Lif_81	0%	mellifera	100,0			95,3%	0,7%	0,1%	0,1%	3,8%
Lif_82	5%	mellifera	100,0			97,1%	0,6%	0,3%	0,2%	1,7%
Lif_83	0%	mellifera	100,0			88,3%	1,7%	0,1%	0,2%	9,6%
Lif_84	9%	mellifera	100,0			89,9%	0,4%	0,7%	0,3%	8,8%
Lif_85	0%	mellifera	100,0			94,2%	0,3%	0,1%	0,1%	5,2%
Lif_86	18%	mellifera	100,0			81,1%	0,7%	1,3%	7,8%	9,2%
Lif_87	5%	mellifera	100,0			89,2%	0,9%	0,2%	0,2%	9,5%
Lif_88	0%	mellifera	100,0			93,1%	0,7%	0,1%	0,1%	6,0%
Lif_89	9%	mellifera	100,0			98,9%	0,4%	0,3%	0,2%	0,3%
Lif_90	9%	mellifera	100,0			98,7%	0,5%	0,2%	0,2%	0,5%
Lif_91	5%	mellifera	100,0			97,5%	0,6%	0,2%	0,2%	1,5%
Lif_92	5%	mellifera	100,0			84,3%	7,9%	0,5%	0,8%	6,5%
Lif_93	5%	mellifera	99,9	iberiensis	0,08	94,2%	0,6%	0,2%	0,2%	4,9%
Lif_94	9%	mellifera	100,0			92,4%	0,4%	0,2%	0,2%	6,8%
Lif_95	18%	mellifera	100,0			97,7%	0,4%	0,7%	0,5%	0,7%
Lif_96	10%	mellifera	100,0			84,7%	1,1%	0,9%	4,7%	8,5%
Lif_97	5%	mellifera	100,0			98,2%	0,9%	0,5%	0,3%	0,2%

Echantillon	%age introg	rang 1	score %	rang 2	score %	Structure (K = 5)				
						Lifou	M	C	O	A
Lif_98	5%	mellifera	100,0			91,0%	1,5%	0,5%	1,3%	5,7%
Lif_99	10%	mellifera	99,9	iberiensis	0,09	93,3%	0,6%	5,0%	0,3%	0,9%
Lif_100	15%	mellifera	100,0			97,0%	0,7%	0,2%	0,2%	1,9%
Lif_101	6%	mellifera	100,0			93,7%	0,9%	0,3%	0,2%	4,9%
Lif_102	<b>22%</b>	mellifera	100,0			82,1%	1,3%	0,9%	4,9%	<b>10,8%</b>
Lif_103	15%	mellifera	100,0			91,2%	0,6%	0,2%	0,2%	7,8%
Lif_104	0%	mellifera	100,0			95,4%	0,5%	0,1%	0,1%	3,9%
Lif_105	0%	mellifera	100,0			91,8%	0,6%	0,1%	0,1%	7,4%
Lif_106	5%	mellifera	100,0			91,3%	0,4%	0,2%	0,2%	7,9%
Lif_107	0%	mellifera	100,0			90,4%	2,5%	0,1%	0,2%	6,9%
Lif_108	15%	mellifera	100,0			98,5%	0,4%	0,4%	0,3%	0,4%
Lif_109	<b>27%</b>	mellifera	100,0			82,1%	0,4%	6,5%	7,9%	3,0%
Lif_110	15%	mellifera	100,0			83,8%	1,1%	0,6%	4,9%	9,6%
Lif_111	5%	mellifera	100,0			92,0%	0,6%	0,1%	0,2%	7,2%
Lif_112	5%	mellifera	100,0			93,6%	1,0%	0,2%	0,2%	5,0%
Lif_113	5%	mellifera	100,0			89,6%	0,4%	0,4%	0,2%	9,5%
Lif_114	5%	mellifera	100,0			89,4%	0,6%	0,1%	0,2%	9,8%
Lif_115	18%	mellifera	100,0			90,7%	0,4%	0,3%	0,5%	8,1%
Lif_116	18%	mellifera	100,0			95,4%	0,4%	0,2%	0,3%	3,7%
Lif_117	5%	mellifera	100,0			95,4%	2,4%	0,6%	0,4%	1,2%
Lif_118	18%	mellifera	100,0			86,1%	1,1%	1,3%	1,6%	9,9%
Lif_119	32%	mellifera	100,0			80,1%	0,4%	1,8%	16,6%	1,1%
Lif_120	5%	mellifera	100,0			94,8%	0,4%	0,2%	0,2%	4,4%
Lif_121	9%	mellifera	100,0			89,1%	1,0%	0,3%	0,2%	9,5%
Lif_122	<b>32%</b>	mellifera	100,0			77,4%	0,3%	0,9%	18,9%	2,6%
Lif_123	14%	mellifera	100,0			88,7%	1,1%	0,6%	2,2%	7,5%
Lif_124	14%	mellifera	100,0			95,3%	0,6%	0,4%	2,7%	1,0%
Lif_125	5%	mellifera	100,0			89,5%	0,4%	0,2%	0,2%	9,7%
Lif_126	15%	mellifera	100,0			95,7%	0,7%	0,4%	0,3%	2,9%
Lif_127	17%	mellifera	100,0			77,1%	8,2%	4,4%	1,1%	9,2%
Lif_128	5%	mellifera	100,0			93,2%	0,5%	0,2%	0,2%	6,0%
Lif_129	9%	mellifera	100,0			98,6%	0,5%	0,2%	0,2%	0,6%
Lif_130	5%	<b>iberiensis</b>	89,3	mellifera	10,74	98,9%	0,4%	0,2%	0,2%	0,3%
Lif_131	14%	mellifera	100,0			98,0%	0,5%	0,5%	0,4%	0,6%
Lif_132	5%	mellifera	100,0			96,0%	1,3%	0,2%	0,2%	2,3%
Lif_133	15%	mellifera	100,0			92,9%	0,3%	0,7%	0,3%	5,8%
Lif_134	9%	mellifera	100,0			95,9%	0,4%	0,2%	0,2%	3,3%
Lif_135	15%	mellifera	100,0			97,4%	0,3%	0,9%	0,4%	1,0%
Lif_136	23%	mellifera	100,0			92,4%	0,3%	2,9%	0,6%	3,9%
Lif_137	5%	mellifera	100,0			94,1%	0,7%	0,2%	0,2%	4,8%
Lif_146	9%	mellifera	100,0			91,5%	2,3%	0,2%	0,3%	5,6%
Lif_147	0%	mellifera	100,0			92,8%	1,0%	0,1%	0,2%	6,0%
Lif_148	9%	mellifera	100,0			98,1%	0,4%	0,3%	0,2%	1,0%
Lif_149	5%	mellifera	100,0			92,9%	1,5%	0,6%	0,4%	4,7%
Lif_150	0%	mellifera	100,0			96,6%	0,4%	0,1%	0,1%	2,8%
Lif_151	9%	mellifera	100,0			95,9%	0,4%	0,2%	0,3%	3,3%
Lif_152	14%	mellifera	100,0			96,9%	1,0%	0,7%	0,6%	0,8%
Lif_153	5%	mellifera	100,0			89,2%	0,8%	0,2%	0,2%	9,7%

Echantillon	%age introg	rang 1	score %	rang 2	score %	Structure (K = 5)				
						Lifou	M	C	O	A
Lif_154	0%	mellifera	100,0			92,2%	1,0%	0,2%	0,2%	6,4%
Lif_155	9%	mellifera	100,0			90,6%	0,5%	0,2%	0,6%	8,1%
Lif_156	9%	mellifera	100,0			94,2%	0,7%	0,7%	0,2%	4,2%
Lif_157	5%	mellifera	100,0			97,0%	0,4%	0,3%	0,2%	2,1%
Lif_158	9%	mellifera	100,0			98,4%	0,5%	0,2%	0,2%	0,7%
Lif_159	5%	mellifera	100,0			97,4%	0,6%	0,2%	0,2%	1,6%
Lif_160	5%	mellifera	99,8	iberiensis	0,25	95,2%	3,2%	0,2%	0,2%	1,2%
Lif_161	9%	mellifera	100,0			97,3%	0,5%	0,4%	0,3%	1,5%
Lif_162	14%	mellifera	100,0			90,2%	0,4%	0,2%	0,3%	8,9%
Lif_163	14%	mellifera	100,0			94,1%	1,1%	0,9%	0,8%	3,1%
Lif_164	5%	mellifera	100,0			93,2%	1,2%	0,2%	0,2%	5,3%
Lif_165	9%	mellifera	100,0			89,3%	0,7%	4,5%	0,2%	5,3%
Lif_166	9%	mellifera	100,0			98,3%	0,6%	0,2%	0,2%	0,7%
Lif_167	0%	mellifera	100,0			92,8%	0,6%	0,1%	0,1%	6,4%
Lif_168	5%	mellifera	100,0			95,3%	0,9%	0,2%	0,2%	3,4%
Lif_169	5%	mellifera	100,0			92,7%	0,4%	0,2%	0,2%	6,5%
Lif_170	14%	mellifera	100,0			94,7%	0,5%	1,8%	0,9%	2,1%
Lif_171	14%	mellifera	100,0			98,4%	0,5%	0,4%	0,2%	0,6%
Lif_172	5%	mellifera	100,0			90,8%	0,5%	0,3%	0,3%	8,2%
Lif_173	9%	mellifera	100,0			97,2%	0,9%	0,5%	0,4%	0,9%
Lif_174	9%	<b>iberiensis</b>	71,5	mellifera	28,48	88,7%	1,3%	0,2%	0,3%	9,6%
Lif_175	0%	mellifera	100,0			92,1%	0,6%	0,1%	0,1%	7,0%
Lif_176	9%	mellifera	100,0			87,7%	0,4%	2,4%	0,5%	9,0%
Lif_177	14%	mellifera	100,0			87,4%	0,7%	1,7%	0,6%	9,7%
Lif_178	9%	mellifera	100,0			87,2%	1,0%	1,2%	0,6%	10,0%
Lif_179	14%	mellifera	100,0			94,0%	0,5%	0,2%	4,3%	1,0%
Lif_180	5%	mellifera	100,0			89,6%	0,5%	0,2%	0,2%	9,5%
Lif_181	0%	mellifera	100,0			91,7%	0,7%	0,1%	0,2%	7,4%
Lif_182	14%	mellifera	100,0			88,8%	0,4%	0,7%	0,3%	9,7%
Lif_183	14%	mellifera	100,0			94,4%	0,7%	1,8%	0,5%	2,7%
Lif_184	9%	mellifera	100,0			95,2%	0,6%	0,2%	0,3%	3,7%
Lif_185	5%	mellifera	100,0			90,3%	0,5%	0,1%	0,1%	9,0%
Lif_186	5%	mellifera	100,0			97,6%	0,5%	0,3%	0,2%	1,4%
Lif_187	5%	mellifera	99,4	iberiensis	0,60	90,5%	0,5%	0,2%	0,2%	8,6%
Lif_188	9%	mellifera	100,0			93,7%	0,5%	0,2%	3,6%	2,1%
Lif_189	5%	mellifera	100,0			65,2%	32,5%	0,3%	0,3%	1,7%
Lif_190	5%	mellifera	83,1	iberiensis	16,91	90,0%	0,5%	0,1%	0,1%	9,3%
Lif_191	0%	mellifera	99,9	iberiensis	0,07	91,8%	0,6%	0,1%	0,2%	7,4%
Lif_192	14%	mellifera	100,0			98,3%	0,6%	0,3%	0,2%	0,6%
Lif_193	0%	mellifera	100,0			96,3%	1,4%	0,3%	0,2%	1,8%
Lif_194	9%	mellifera	100,0			84,6%	2,5%	2,3%	0,9%	9,6%
Lif_195	18%	mellifera	100,0			89,1%	0,4%	0,3%	0,2%	10,0%
Lif_196	9%	mellifera	100,0			89,9%	6,6%	0,6%	0,3%	2,6%
Lif_197	5%	mellifera	100,0			98,1%	0,5%	0,1%	0,3%	0,9%
Lif_198	5%	mellifera	98,4	iberiensis	1,56	89,3%	0,8%	0,2%	0,1%	9,7%
Lif_199	5%	mellifera	100,0			93,5%	0,5%	0,2%	0,2%	5,7%
Lif_200	14%	mellifera	100,0			96,6%	0,5%	0,5%	0,4%	2,1%
Lif_201	5%	mellifera	100,0			91,8%	2,0%	0,2%	0,2%	5,8%

Echantillon	%age introg	rang 1	score %	rang 2	score %	Structure (K = 5)				
						Lifou	M	C	O	A
Lif_202	5%	mellifera	100,0			94,6%	0,4%	0,1%	0,1%	4,8%
Lif_203	0%	mellifera	100,0			93,5%	0,6%	0,1%	0,1%	5,6%
Lif_204	0%	mellifera	100,0			95,5%	0,5%	0,1%	0,1%	3,9%
Lif_205	14%	mellifera	100,0			83,1%	0,4%	6,7%	0,7%	9,1%
Lif_206	5%	mellifera	100,0			71,8%	18,1%	1,1%	1,0%	8,0%
Lif_207	5%	mellifera	100,0			98,1%	0,4%	0,2%	0,2%	1,1%
Lif_208	14%	mellifera	100,0			94,9%	0,9%	0,5%	1,2%	2,5%
Lif_209	5%	mellifera	100,0			97,7%	0,4%	0,2%	0,2%	1,6%
Lif_210	5%	mellifera	100,0			95,2%	0,6%	0,3%	0,2%	3,7%
Lif_211	5%	mellifera	100,0			96,7%	0,4%	0,2%	0,2%	2,5%
Lif_212	9%	mellifera	100,0			88,9%	0,5%	0,4%	0,3%	10,0%
Lif_213	14%	mellifera	100,0			98,1%	0,4%	0,5%	0,4%	0,6%
Lif_214	9%	mellifera	100,0			89,0%	0,5%	2,9%	0,4%	7,2%
Lif_215	5%	mellifera	100,0			95,5%	3,4%	0,4%	0,2%	0,5%
Lif_216	5%	mellifera	100,0			97,2%	0,4%	0,2%	0,1%	2,2%
Lif_217	<b>20%</b>	mellifera	99,9	Buckfast	0,08	<b>34,1%</b>	43,0%	20,8%	0,4%	1,8%
Lif_218	5%	mellifera	100,0			95,0%	2,0%	0,2%	0,2%	2,5%
Lif_219	5%	mellifera	100,0			91,2%	0,4%	0,2%	0,2%	8,0%
Lif_220	9%	mellifera	78,4	Major	20,70	81,1%	0,6%	0,4%	7,7%	10,3%
Lif_221	5%	mellifera	100,0			93,1%	1,7%	0,2%	0,1%	5,0%
Lif_222	9%	mellifera	100,0			96,0%	0,5%	0,2%	0,2%	3,1%
Lif_223	5%	mellifera	100,0			87,1%	1,4%	0,7%	0,5%	10,3%
Lif_224	9%	mellifera	100,0			90,5%	0,3%	0,3%	0,3%	8,6%
Lif_225	5%	mellifera	100,0			96,5%	0,7%	0,2%	0,2%	2,4%
Lif_226	5%	mellifera	100,0			96,7%	0,6%	0,2%	0,2%	2,4%
Lif_227	9%	mellifera	100,0			88,8%	0,8%	0,3%	0,2%	9,9%
Lif_228	5%	mellifera	100,0			96,0%	0,6%	0,2%	0,2%	3,0%
Lif_229	5%	mellifera	100,0			95,7%	0,5%	0,2%	0,2%	3,4%
Lif_230	5%	mellifera	100,0			96,6%	0,5%	0,1%	0,1%	2,7%
Lif_231	14%	mellifera	100,0			92,4%	0,7%	0,3%	0,3%	6,3%
Lif_232	14%	mellifera	100,0			89,5%	0,3%	0,5%	0,2%	9,6%
Lif_233	14%	mellifera	100,0			88,6%	0,9%	0,9%	0,3%	9,3%
Lif_234	5%	mellifera	100,0			97,2%	0,6%	0,2%	0,2%	1,8%
Lif_235	9%	mellifera	100,0			94,8%	0,9%	0,2%	0,2%	4,0%
Lif_236	9%	mellifera	100,0			89,5%	0,7%	0,2%	0,2%	9,5%
Lif_237	18%	mellifera	100,0			96,7%	0,9%	0,8%	0,5%	1,1%
Lif_238	9%	mellifera	100,0			89,8%	0,6%	0,2%	0,2%	9,2%
Lif_239	9%	mellifera	100,0			89,7%	0,5%	0,3%	0,2%	9,3%
Lif_240	9%	mellifera	100,0			95,8%	0,5%	0,2%	0,2%	3,3%
Lif_241	0%	mellifera	100,0			94,0%	0,5%	0,1%	0,1%	5,2%
Lif_242	9%	mellifera	100,0			89,1%	0,4%	0,4%	0,2%	9,9%
Lif_243	5%	mellifera	100,0			94,9%	0,7%	0,2%	0,2%	4,0%
Lif_244	9%	mellifera	100,0			98,4%	0,6%	0,2%	0,2%	0,6%
Lif_245	6%	mellifera	100,0			98,2%	0,5%	0,2%	0,2%	0,8%
Lif_246	9%	mellifera	100,0			86,6%	3,3%	1,6%	0,8%	7,8%
Lif_247	5%	mellifera	100,0			94,1%	0,5%	0,1%	0,2%	5,1%
Lif_248	5%	mellifera	100,0			95,3%	0,4%	0,2%	0,2%	4,0%
Lif_249	9%	mellifera	100,0			86,4%	1,1%	2,2%	0,4%	9,9%

Echantillon	%age intro	rang 1	score %	rang 2	score %	Structure (K = 5)				
						Lifou	M	C	O	A
Lif_250	14%	mellifera	100,0			94,6%	1,5%	0,2%	0,4%	3,4%
Lif_251	14%	mellifera	100,0			94,1%	0,4%	0,2%	0,4%	4,9%
Lif_252	14%	mellifera	100,0			90,1%	0,4%	0,7%	0,2%	8,7%
Lif_253	5%	mellifera	100,0			95,4%	0,3%	0,2%	0,2%	3,9%
Lif_254	18%	mellifera	100,0			87,9%	0,6%	1,5%	0,4%	9,7%
Lif_255	0%	mellifera	100,0			88,7%	1,1%	0,2%	0,2%	9,8%
Lif_256	5%	mellifera	98,7	iberiensis	1,31	86,9%	0,5%	0,1%	0,2%	12,2%
Lif_257	14%	mellifera	100,0			94,7%	0,4%	1,2%	0,6%	3,2%
Lif_258	5%	mellifera	100,0			94,7%	0,3%	0,2%	0,2%	4,6%
Lif_259	5%	mellifera	100,0			94,6%	0,4%	0,2%	0,2%	4,6%
Lif_260	9%	mellifera	100,0			95,7%	0,4%	0,2%	0,2%	3,4%
Lif_261	18%	mellifera	100,0			97,3%	0,3%	1,2%	0,6%	0,6%
Lif_262	5%	mellifera	99,2	iberiensis	0,84	89,9%	0,4%	0,1%	0,2%	9,5%
Lif_263	0%	mellifera	100,0			87,7%	5,1%	0,4%	1,2%	5,6%
Lif_264	9%	mellifera	100,0			95,7%	0,4%	0,5%	0,5%	2,9%
Lif_265	9%	mellifera	100,0			90,0%	0,3%	0,2%	0,2%	9,3%
Lif_266	14%	mellifera	100,0			92,1%	0,8%	0,4%	0,4%	6,3%
Lif_267	14%	mellifera	100,0			88,6%	0,4%	0,5%	0,5%	9,9%
Lif_268	14%	mellifera	100,0			97,6%	0,4%	0,7%	0,4%	1,0%
Lif_269	18%	mellifera	100,0			96,2%	0,6%	1,4%	0,7%	1,1%
Lif_270	9%	mellifera	100,0			95,2%	0,4%	0,3%	0,2%	4,0%
Lif_271	5%	mellifera	100,0			96,5%	0,8%	0,2%	0,2%	2,3%
Lif_272	18%	mellifera	100,0			98,5%	0,3%	0,3%	0,5%	0,4%
Lif_273	14%	mellifera	100,0			88,0%	1,1%	2,3%	0,5%	8,0%
Lif_274	14%	mellifera	100,0			88,9%	0,7%	0,4%	0,2%	9,8%
Lif_275	0%	mellifera	100,0			94,8%	0,3%	0,1%	0,1%	4,6%
Lif_276	5%	mellifera	100,0			95,0%	0,5%	0,2%	0,1%	4,2%
Lif_277	5%	mellifera	100,0			91,6%	0,5%	0,2%	0,2%	7,6%
Lif_278	14%	mellifera	100,0			95,5%	0,4%	0,4%	0,3%	3,5%
Lif_279	9%	mellifera	100,0			93,0%	0,6%	0,3%	0,2%	5,9%
Lif_280	14%	mellifera	100,0			99,1%	0,3%	0,2%	0,2%	0,3%
Lif_281	0%	mellifera	100,0			95,0%	0,8%	0,1%	0,1%	4,0%
Lif_282	9%	mellifera	100,0			89,6%	0,4%	0,2%	0,1%	9,7%
Lif_283	5%	mellifera	100,0			90,1%	0,4%	0,2%	0,1%	9,2%
Lif_284	9%	mellifera	100,0			96,1%	0,4%	0,3%	0,3%	2,9%
Lif_285	14%	mellifera	100,0			90,5%	0,3%	0,5%	0,3%	8,5%
Lif_286	9%	mellifera	100,0			84,3%	2,1%	2,8%	0,3%	10,5%
Lif_287	14%	mellifera	100,0			94,5%	0,6%	0,5%	1,2%	3,2%
Lif_288	0%	mellifera	100,0			94,6%	3,1%	0,4%	0,3%	1,8%
Lif_289	0%	mellifera	100,0			92,9%	0,6%	0,1%	0,1%	6,3%
Lif_290	14%	mellifera	89,8	iberiensis	10,16	89,7%	3,8%	3,2%	1,1%	2,3%
Lif_291	14%	mellifera	100,0			96,5%	0,5%	0,4%	0,4%	2,1%
Lif_292	9%	mellifera	99,9	iberiensis	0,13	91,7%	0,4%	0,2%	0,1%	7,7%
Lif_293	14%	mellifera	100,0			96,5%	0,3%	0,4%	1,8%	1,0%
Lif_294	5%	mellifera	100,0			97,6%	0,8%	0,3%	0,2%	1,1%
Lif_295	0%	mellifera	100,0			95,4%	0,4%	0,1%	0,1%	3,9%
Lif_296	18%	mellifera	100,0			89,1%	0,3%	0,6%	0,2%	9,9%
Lif_297	5%	mellifera	100,0			96,0%	0,4%	0,1%	0,2%	3,3%

Echantillon	%age introg	rang 1	score %	rang 2	score %	Structure (K = 5)				
						Lifou	M	C	O	A
Lif 298	18%	mellifera	100,0			86,2%	0,4%	0,5%	2,9%	10,0%
Lif 299	14%	mellifera	100,0			96,9%	0,4%	0,4%	0,3%	2,0%
Lif 300	9%	mellifera	100,0			93,1%	0,7%	0,3%	0,2%	5,7%
Lif 301	14%	mellifera	99,9	iberiensis	0,12	88,5%	0,7%	0,3%	0,5%	10,0%
Lif 302	9%	mellifera	100,0			95,5%	0,9%	0,3%	0,5%	2,8%
Lif 303	0%	mellifera	100,0			89,0%	1,0%	0,1%	0,1%	9,8%
Lif 304	5%	mellifera	100,0			91,5%	1,3%	1,9%	0,4%	4,9%
Lif 305	5%	mellifera	100,0			93,8%	0,6%	0,2%	1,8%	3,6%
Lif 306	5%	mellifera	100,0			90,5%	1,0%	2,8%	0,4%	5,4%
Lif 307	5%	mellifera	100,0			93,8%	1,5%	0,2%	0,2%	4,4%
Lif 308	5%	mellifera	100,0			89,8%	0,3%	0,2%	0,2%	9,5%
Lif 309	5%	mellifera	99,3	iberiensis	0,66	89,7%	0,6%	0,1%	0,2%	9,4%
Lif 310	14%	mellifera	100,0			96,4%	0,4%	0,5%	0,4%	2,4%
Lif 311	0%	mellifera	100,0			93,3%	1,4%	0,1%	0,1%	5,0%
Lif 312	14%	mellifera	100,0			96,8%	0,4%	0,2%	0,2%	2,4%
Lif 313	0%	mellifera	100,0			94,6%	2,2%	0,2%	0,2%	2,9%
Lif 314	9%	mellifera	81,0	iberiensis	18,98	90,3%	0,9%	0,2%	0,2%	8,4%
Lif 315	18%	mellifera	100,0			86,1%	3,0%	1,2%	0,4%	9,3%
Lif 316	18%	mellifera	99,8	iberiensis	0,18	91,1%	0,4%	0,3%	0,3%	7,9%
Lif 317	5%	mellifera	100,0			92,7%	0,7%	0,2%	0,2%	6,2%
Lif 318	0%	mellifera	100,0			90,2%	0,3%	0,2%	0,2%	9,1%
Lif 319	9%	mellifera	100,0			89,0%	0,6%	0,3%	0,3%	9,9%
Lif 320	14%	mellifera	100,0			94,2%	0,3%	0,2%	0,3%	5,0%
Lif 321	9%	mellifera	100,0			98,0%	0,5%	0,4%	0,2%	0,9%
Lif 322	9%	mellifera	100,0			78,4%	7,4%	1,9%	2,4%	9,9%
Lif 323	5%	mellifera	100,0			98,5%	0,5%	0,3%	0,2%	0,5%
Lif 324	9%	<b>iberiensis</b>	70,1	mellifera	29,91	90,1%	0,4%	0,1%	0,2%	9,2%
Lif 325	5%	mellifera	100,0			89,0%	0,5%	0,7%	0,4%	9,5%
Lif 326	18%	mellifera	93,6	iberiensis	6,39	88,8%	0,9%	0,2%	0,2%	9,9%
Lif 327	5%	mellifera	100,0			89,4%	0,4%	0,2%	0,2%	9,9%
Lif 328	5%	mellifera	100,0			89,3%	0,5%	0,4%	0,2%	9,6%
Lif 329	5%	mellifera	100,0			90,3%	0,6%	0,2%	0,2%	8,9%
Lif 330	9%	mellifera	100,0			96,6%	1,2%	0,4%	0,4%	1,4%
Lif 331	5%	mellifera	100,0			75,2%	19,1%	0,3%	0,5%	4,9%
Lif 332	5%	mellifera	99,9	iberiensis	0,10	98,9%	0,4%	0,1%	0,1%	0,5%
Lif 333	5%	mellifera	100,0			90,2%	0,8%	0,2%	0,1%	8,6%
Lif 334	0%	mellifera	100,0			95,3%	0,8%	0,1%	0,1%	3,7%
Lif 335	5%	mellifera	100,0			89,7%	5,7%	0,2%	0,2%	4,2%
Lif 336	9%	mellifera	100,0			96,2%	0,4%	0,3%	0,2%	3,0%
Lif 337	11%	mellifera	100,0			92,1%	0,3%	0,8%	1,0%	5,9%
Lif 338	9%	mellifera	100,0			98,4%	0,5%	0,3%	0,2%	0,6%
Lif 339	9%	mellifera	100,0			98,8%	0,3%	0,2%	0,2%	0,5%
Lif 340	0%	mellifera	100,0			96,1%	1,6%	0,2%	0,2%	2,0%
Lif 341	0%	mellifera	100,0			91,0%	2,6%	0,2%	0,1%	6,1%
Lif 342	5%	mellifera	100,0			89,6%	0,3%	0,3%	0,3%	9,6%
Lif 343	9%	mellifera	100,0			89,5%	0,3%	0,2%	0,7%	9,3%
Lif 344	5%	mellifera	100,0			89,2%	0,5%	0,3%	0,2%	9,9%
Lif 345	5%	mellifera	99,6	iberiensis	0,40	88,3%	1,6%	0,5%	0,2%	9,4%



Echantillon	%age introg	rang 1	score %	rang 2	score %	Structure (K = 5)				
						Lifou	M	C	O	A
Lif_346	18%	mellifera	100,0			90,9%	0,8%	1,9%	0,5%	5,8%
Lif_347	14%	mellifera	100,0			96,1%	0,4%	1,2%	1,6%	0,6%
Lif_348	0%	mellifera	95,3	iberiensis	4,68	96,6%	0,7%	0,1%	0,1%	2,4%
Lif_349	14%	mellifera	100,0			86,1%	0,7%	0,6%	1,5%	11,1%
Lif_350	18%	mellifera	100,0			88,1%	1,8%	0,3%	0,5%	9,3%
Lif_351	0%	mellifera	100,0			81,9%	13,3%	0,3%	0,4%	4,0%
Lif_352	5%	mellifera	100,0			97,0%	0,5%	0,1%	0,1%	2,2%
Lif_353	14%	mellifera	100,0			89,5%	0,4%	0,2%	0,6%	9,4%
Lif_354	9%	mellifera	100,0			94,7%	0,4%	0,3%	0,2%	4,4%
Lif_355	5%	mellifera	100,0			96,3%	0,4%	0,1%	0,1%	3,0%