



HAL
open science

Revue et identification de la diversité génétique Française et Européenne de *Varroa Destructor*, l'acarien parasite de l'abeille mellifère

Carla-Marie Brunet

► **To cite this version:**

Carla-Marie Brunet. Revue et identification de la diversité génétique Française et Européenne de *Varroa Destructor*, l'acarien parasite de l'abeille mellifère. *Génétique*. 2020. hal-02965394

HAL Id: hal-02965394

<https://hal.inrae.fr/hal-02965394>

Submitted on 13 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Rapport de Stage Master 1

**Revue et identification de la diversité génétique Française et
Européenne de *Varroa Destructor*, l'acarien parasite de
l'abeille mellifère.**

Stage réalisé dans le cadre du module: Initiation à la Recherche, M1- Mention
Ecologie

Encadrant : Bertrand SERVIN

INRAE Laboratoire GenPhySE

Carla-Marie BRUNET

Mai 2020

M1 Biodiversité écologie évolution (BEE) , parcours Ecologie Evolution

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de mon stage et à la rédaction de ce mémoire.

En premier lieu, je souhaite adresser mes remerciements à mon encadrant **Bertrand Servin**, chercheur au laboratoire GenPhySE de l'INRAE, pour m'avoir accompagnée tout le long de ce stage. Merci de m'avoir permis de travailler sur ce sujet et de m'avoir aidée à trouver une alternative pour que je puisse réaliser ce stage malgré la situation particulière à laquelle nous avons été confronté. Je le remercie de m'avoir accordé de son temps pour me faire progresser et de m'avoir partagé ses connaissances. Son aide a été très précieuse et je ressors de ce stage très enrichie grâce à lui. En espérant que l'on puisse enfin échanger en face quand la crise sanitaire sera derrière nous.

Je remercie également **Sonia Eynard**, chercheuse post-doctorante, et **Alain Vignal**, chercheur au laboratoire GenPhySE de l'INRAE, pour m'avoir permis d'explorer ce sujet et d'accéder à leurs données. J'adresse également mes remerciements à toutes les personnes qui ont travaillé sur ce projet que je n'ai malheureusement pas pu rencontrer.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous les professeurs de l'université Toulouse 3 Paul Sabatier et particulièrement à **Emilie Lecompte** et **Monique Gardes** pour avoir su trouver des alternatives aux stages initialement prévus en présentiel.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont conseillée pour la rédaction de ce mémoire, et mon frère **Louis Brunet** pour m'avoir partagé son savoir-faire de cartographe.

Table des matières

Résumé/Abstract.....	4
1. Introduction	5
2. Matériels et méthodes	6
2.a Méta-analyse.....	6
2.b Echantillonnage de <i>Varroa Destructor</i>	6
2. c Analyse de l'ADN mitochondrial.....	7
3. Résultats	7
3.a Méthodes d'identification de la diversité génétique.....	7
3.b Différences génétiques entre les populations de <i>Varroa</i>	9
3.c Distribution des haplotypes.....	9
3.d Séquençage <i>Varroa</i>	14
4. Discussion	16
4.a Dynamique d'infestation.....	16
4.b Identification de pattern d'haplotypes en France.....	17
4.c Limitations de l'étude.....	18
4.d Possibilité d'utilisation de marqueurs nucléaires.....	18
4.d Association hôte parasite.....	19
Bibliographie.....	20
Annexes.....	24

Résumé

L'acarien ectoparasitaire *Varroa Destructor* fait partie des menaces les plus nuisibles pour les colonies d'abeilles *Apis Mellifera*. Son infestation provoque un déclin de la survie des colonies à travers le monde. L'utilisation de la génétique peut permettre de caractériser les populations d'acariens afin de comprendre son histoire de colonisation et d'appliquer une lutte adaptée contre ce parasite. Nous avons réalisé une revue et une méta-analyse de l'ensemble des données génétiques disponibles sur *Varroa Destructor* ainsi qu'une cartographie de leur distribution à travers le monde. Une analyse de la diversité génétique de colonies d'abeilles originaires de France, de Suisse, de Nouvelle-Zélande, des Etats-Unis et des Pays-Bas a été réalisée. L'analyse du séquençage de l'ADN mitochondrial a révélé la répartition des haplotypes de *Varroa* en France avec la mise en lumière d'une diversité génétique particulière en Corse par rapport au reste du territoire.

Mots clefs : *Varroa Destructor* · France · haplotype · *Apis Mellifera* · ADN mitochondrial

Abstract

The ectoparasitic mite *Varroa Destructor* is one of the most harmful threats to the honeybee (*Apis Mellifera*) colonies. Its infestation causes a fall in the survival of colonies across the world. The use of genetics can be very useful to characterize mite populations in order to understand the history of colonization of the mite and apply an adapted strategy against this parasite. We carried out a review and a meta-analysis of all the data available on *Varroa Destructor* genetic diversity. Its distribution around the world is also presented. An analysis of the genetic diversity of bee colonies from France, Switzerland, New Zealand, the United States and the Netherlands has been carried out. Analysis of the mitochondrial DNA sequencing revealed the distribution of haplotypes in France with the highlighting of a particular genetic diversity in Corsica compared to the rest of the territory.

Keywords: *Varroa Destructor* · France, haplotype · *Apis Mellifera* · mitochondrial DNA

1. Introduction

Le déclin du nombre de pollinisateurs menace l'économie mondiale en raison de leur importance pour l'agriculture. Il est estimé que 35% des cultures sont dépendantes de l'action des pollinisateurs (Klein et al. 2006). Parmi les espèces pollinisatrices, l'abeille mellifère (*Apis mellifera*) est considérée comme une des plus importante du fait de sa forte contribution aux cultures agricoles à travers le monde (LaSalle and Gauld 1993). L'abeille assure le transport du pollen et permet ainsi la reproduction des plantes à fleur. Etant l'espèce la plus domestiquée, elle a été dispersée à travers les continents (Moritz et al. 2005) dans des localités à la biodiversité parfois bien différente de son environnement européen d'origine.

En Asie, son utilisation pour l'apiculture l'a exposé à de nouvelles menaces. En effet, les deux espèces d'abeille majoritairement utilisées sur le continent sont *Apis mellifera* et *Apis Cerana*, avec parfois la présence simultanée des colonies dans les mêmes localités. *A. Cerana* est une espèce tolérante à l'acararien ectoparasite *Varroa Destructor*. Pour la première fois dans les années 60, ce pathogène est découvert parasitant *A. mellifera* aux Philippines (Delfinado 1963). Cette sympatrie aurait fortement favorisé le changement d'hôte observé (Beaurepaire et al 2015, Rosenkranz et al 2010). *Varroa destructor* a ensuite été dispersé à travers le monde par l'homme pour son utilisation en apiculture (Sammataro et al. 2000) et est maintenant présent sur tous les continents (Ruttner et al. 1983, De Jong 1982). En quelques dizaines d'années, *Varroa destructor* est aujourd'hui devenu la menace biotique la plus nuisible pour *A. mellifera* (Boeking et al. 2008) contribuant de manière significative à la disparition des colonies dans le monde (Genersch et al. 2010). L'infestation entraîne en effet une diminution de la durée de vie de l'abeille occidentale (Amdam et al. 2004) et il est estimé que les individus infectés par *Varroa* ont une baisse des performances de vol (Duay et al. 2002). Le parasite se nourrit et se reproduit dans les cellules de couvain (Rosenkranz et al. 2010) et entraîne une baisse de leur développement. L'impact majeur de *Varroa* sur l'abeille occidentale (*A. Mellifera*) est dû au Deformed Wing Virus (DWV) dont il est vecteur (Wilfert et al. 2016). L'infestation de l'abeille par ce pathogène peut entraîner des symptômes ayant un impact drastique sur la survie d'une colonie d'abeille comme la paralysie des ailes et le raccourcissement de l'abdomen (Boecking and Genersch 2008).

La lutte contre le parasite et ses effets néfastes sur les colonies peut être menée par l'utilisation de la génomique et par la compréhension de la diversité génétique de *Varroa*. Surveiller cette diversité peut permettre de comprendre l'histoire démographique de l'acararien et sa colonisation sur *A. Mellifera*

par l'observation de son évolution récente. Dans un deuxième temps, la génomique peut aider à mieux évaluer ses capacités d'adaptation.

Dans ce rapport, une revue et une méta-analyse des publications scientifiques qui ont interrogé la diversification génétique des populations de *Varroa* chez différentes espèces d'abeille seront présentées. Il sera également réalisé une analyse de la diversité génétique des acariens infestant des colonies Françaises, Néo-Zélandaises, Américaines et Suisses. L'objectif est de comprendre la dynamique d'infestation de varroa et ainsi d'identifier comment l'acarien se propage. Il sera discuté des outils moléculaires utilisés ainsi que des résultats des analyses qui amèneront à s'interroger sur les limitations actuelles de ces études et les perspectives d'amélioration dans les années futures.

2. Matériels et méthodes

Méta-analyse

Une étude bibliographique a permis d'identifier 20 publications ayant produit des données sur la diversité génétique de *Varroa Destructor* dans différentes populations d'abeille.

Les séquences produites par ces études ont été récupérées sur Genbank et ont ensuite été alignées sur la séquence de référence du génome mitochondrial de Navajas et al. (2002) (numéro d'accèsion Genbank : AJ493124.2). L'alignement des séquences a été réalisé avec le logiciel Mega en utilisant la méthode Clustal W. La matrice a été réalisée avec les 4 gènes les plus utilisés dans la littérature (cytochrome oxydase I (cox1), cytochrome oxydase III (cox3), ATP synthase 6 (atp6) et cytochrome b (cytb)) et présente tous les différents haplotypes observés chez *Varroa Destructor* (Anderson et Trueman 2000, Navajas et al. 2010, Gajić et al. 2013, Muntaabski et al. 2020).

Pour la réalisation des différentes cartes, des données regroupant les haplotypes connus ainsi que leurs positions géographiques ont été intégrées dans le système d'information géographique Arcgis et cartographiées à deux échelles, internationale et régionale pour l'Asie et l'Europe.

Echantillonnage de *Varroa Destructor*

Des abeilles de l'espèce *Apis Mellifera* ont été récoltées à travers 1500 colonies localisées en Europe et aux Etats Unis. Ces abeilles ont été prélevées par des apiculteurs, certaines étant porteuses de l'acarien *Varroa* phorétique. L'ADN a été extrait et séquencé en mélange de façon à obtenir une profondeur de 30x du génome de l'abeille. Cette méthode d'extraction a permis de récupérer l'ADN

de *Varroa Destructor* qui parasitait son hôte. A la sortie du séquenceur, les fichiers fastq obtenus ont été alignés avec BWA de la suite de logiciel Samtools. L'alignement a été réalisé sur le génome de référence de l'abeille auquel a été rajouté le génome de référence de la mitochondrie de *Varroa Destructor* (numéro d'accèsion genbank : NC_004454.2).

Analyse de l'ADN mitochondrial

Cette étude a été faite à partir de 153 alignements récupérés sous format BAM ainsi que de méta données associées à l'échantillonnage des colonies telles que leur localisation géographique. En utilisant la suite de logiciels Samtools, il a été extrait la séquence complète du génome mitochondrial pour chaque colonie à l'aide de la commande `bcftools mpileup -f`. Une liste des variations de ces nouvelles séquences par rapport à celle de référence a été réalisée avec la commande `bcftools call -cv`.

3. Résultats

Méthodes d'identification de la diversité génétique

L'ADN mitochondrial (ADNmt) de *Varroa Destructor* a été largement utilisé à travers différentes méthodes pour analyser la diversité génétique de l'acarien (Annexe : **Table 1**). La technique d'amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD) a permis d'obtenir un aperçu de la structure des populations de *Varroa Destructor* collectées dans les colonies d'*A. Mellifera* et *A. Cerana*. L'amorce la plus utilisée est OPE-07 (5'AGATGCAGCC) (Kraus et Hunt, 1995). Cette méthode permet l'identification de deux haplogroupes, le « Russian » (R), caractérisé par 3 bandes (866, 766 et 671 pb) lors de la migration sur gel des produits RAPD, et le « Japan » (J) caractérisé par 2 bandes (866 et 671 pb) (De Guzman et al. 1997). L'haplogroupe R sera renommé « Korean » (K) par Anderson et Trueman (2000) en raison des différentes hypothèses faites sur le pays d'origine de l'haplogroupe.

L'amplification par PCR d'un fragment du gène codant pour *cox1* de l'ADNmt permet de distinguer les deux haplogroupes J et K après digestion par l'enzyme de restriction *SacI* et l'endonucléase *XhoI* (Anderson and Fuchs 1998). Les produits PCR sont analysés sur gel d'agarose, les deux haplogroupes possèdent le site de clivage de l'enzyme *XhoI*. Seul l'haplogroupe J subit un clivage par l'enzyme *SacI*. On obtient donc deux fragments si l'haplogroupe est J, et 1 seul fragment si l'haplogroupe est K. Cette technique sera la plus utilisée pour établir la diversité de l'acarien (Solignac et al. 2005, Garrido et al. 2003, Zhou et al. 2004, Warrit et

al. 2006, Strapazzon et al. 2009, Muños et al. 2008, Kelomey et al. 2017, Farjamfar et al. 2018, Ogihara et al. 2020).

Le séquençage du gène *cox1* de l'ADN mitochondrial (Anderson et Trueman 2000, Solignac et al. 2005, Rasolofarivao et al. 2013, Dietemann et al. 2019, Muntaabski et al. 2020) permet également de caractériser les haplogroupes. L'identification se fait par comparaison avec les séquences disponibles sur Genbank, à l'aide de l'outil Blast de NCBI.

Différences génétiques entre les populations de *Varroa*

Les Varroas présents sur les colonies d'*Apis Mellifera* sont uniquement représentés par les haplogroupes K et J, on les retrouvera dans tous les pays où l'apiculture est développée (Solignac 2005). Chez les acariens parasitant leur hôte d'origine, *Apis Cerana*, on retrouve 7 haplogroupes J1, K1, C1, C2, C3, V1, N et S (**table 2**) (Solignac et al. 2005, Zhou et al. 2004, Navajas et al. 2010). Ils possèdent donc une diversité génétique plus importante. En 2002, l'ADNmt de *Varroa destructor* a été entièrement séquencé (Navajas et al. 2002, Evans et Lopez et al. 2002) et permet de déceler des régions plus variables de l'ADNmt. L'utilisation de ces nouveaux marqueurs mitochondriaux sensibles (*cox1*, *cox3*, *atp6* et *cytb*), entraîne la découverte d'haplotypes sur *A. Mellifera* et *Apis Cerana* à travers toute l'Asie (**table 2**) (Navajas et al. 2010). Il n'a été observé aucune différence le long des séquences K1-2 et K1-2, pour la suite ces deux haplotypes seront nommés K1-1/1-2.

Chez *A. Mellifera*, ces mêmes marqueurs permettent l'observation de deux nouveaux haplotypes (S1 et P1) en Europe (Gajić et al. 2013). Un nouvel haplotype est identifié en Argentine, il est nommé KArg-N2 (Muntaabski et al. 2020). Il diffère par un SNP au niveau de la séquence du gène codant pour la sous unité 4 de la NADH déshydrogénase (ND4) par rapport au génome de référence (numéro d'accèsion Genbank : AJ493124.2). Ces trois nouveaux haplotypes ont chacun été découvert dans une région unique et ne semblent pas s'être propagés sur d'autres localisations pour le moment.

Distribution des haplotypes

La diversité des haplotypes n'est pas homogène à travers le monde (**figure 2**). L'Asie est le continent qui possède la plus grande diversité haplotypique (**figure 3**). Quand les colonies sont infestées par les deux haplogroupes, c'est le Coréen qui est majoritaire (Solignac et al. 2005, Ogihara et al. 2020). En suivant temporellement les données publiées, on peut constater une augmentation des

infestations des colonies d'*A. Cerana* et *A. Mellifera* par l'haplogroupe K. Ce phénomène est observé au Brésil (De Guzman et al. 1997, Guerra et al. 2010, Strapazzon et al. 2009), aux Philippines (Beaurepaire et al. 2015) et au Japon (Ogihara et al. 2020). Au Japon, 20 ans séparent les populations de *V. Destructor* analysées pour leur diversité génétique chez *A. Mellifera* et *A. Cerana*. La plus récente

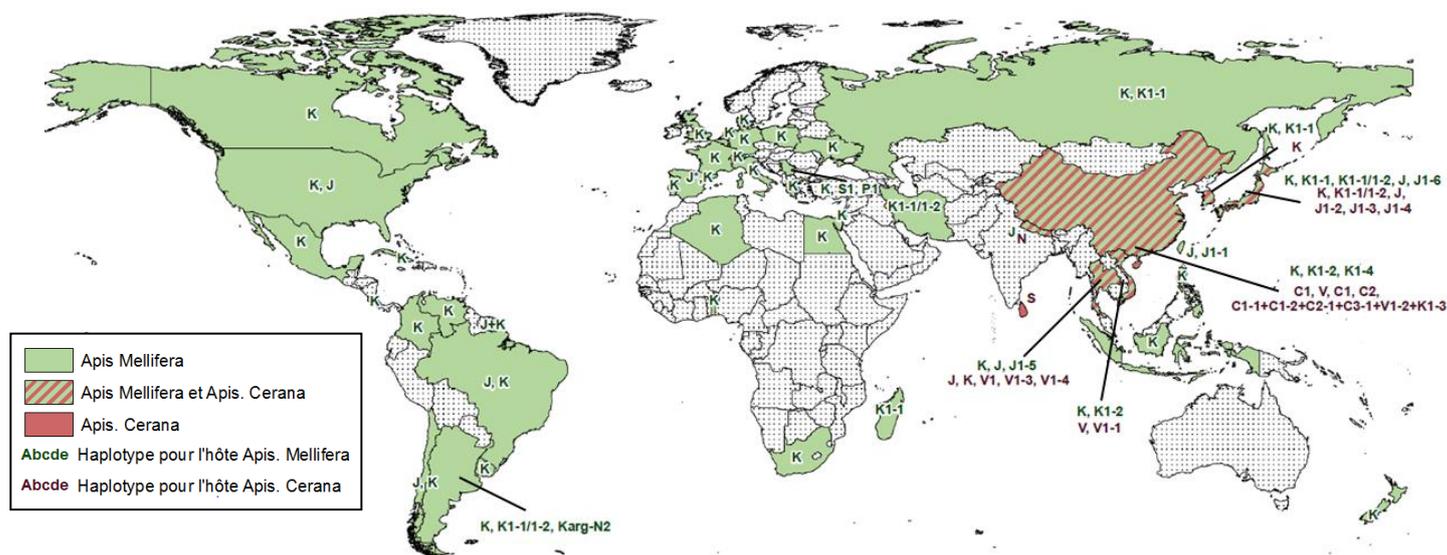


Figure 2. Distribution géographique des haplotypes mitochondriaux de *Varroa destructor* sur ses deux hôtes *Apis cerana* et *Apis mellifera*. Les haplotypes utilisés ainsi que le nom des auteurs qui les ont découverts sont regroupés **table 1**.

des études menées au Japon suggère une augmentation de la fréquence de l'haplogroupe K par rapport à l'haplogroupe J depuis l'étude de Navajas et al. (2010). Ce phénomène est accompagné d'une diminution de la diversité de l'haplogroupe J observée chez les deux espèces hôte (Ogihara et al. 2020). Quatre haplotypes Japonais (J1-2, J1-3, J1-4, J1-6) (**figure 3**) étaient recensés contre seulement un toujours présent (J1-3).

L'haplotype K1-1/1-2 a été découvert en 2010 (Navajas et al.) chez des varroa infestant *A. Mellifera*. Cette haplotype a également été observé en Argentine (Muntaabski 2020), à Madagascar (Rasolofarivao et al. 2013) et en Iran (Farjamfar et al. 2018) (**figure 2**). Au Japon, pour la première fois ces haplotypes sont retrouvés sur les colonies d'*A. Cerana* (Ogihara et al. 2020). Jusque-là, les haplotypes identifiés d'après les variations de leurs séquences *cox1*, *cox3*, *atp6*, *cytb*, étaient propres à chacune des espèces hôtes

En Europe, tous les sites échantillonnés présentent l'haplogroupe K. La Serbie est le seul pays où de nouveaux haplotypes ont été identifiés (Gajić et al. 2013). Il est supposé dans cette étude que plusieurs types mitochondriaux soient présents chez un même individu. Le séquençage individuel des

acariens basé sur l'analyse de quatre gènes mitochondriaux (cox1, atp6, cox3 et cytb) révèle la présence des différents haplotypes appartenant à l'haplogroupe Coréen : S1, P1 et K1-1/1-2. Il est également observé des individus hétéroplasmiques pour le site cox1, avec des séquences correspondantes à l'haplotype K1-1/1-2 et d'autres à S1. Il est aussi identifié des individus possédant à la fois des séquences du gène cytb représentative de l'haplotype P1 et d'autre de l'haplotype K1-1/1-2. Ce phénomène d'hétéroplasmie a également été observé chez des populations de *Varroa Destructor* en Argentine (Muntaabski et al. 2020).

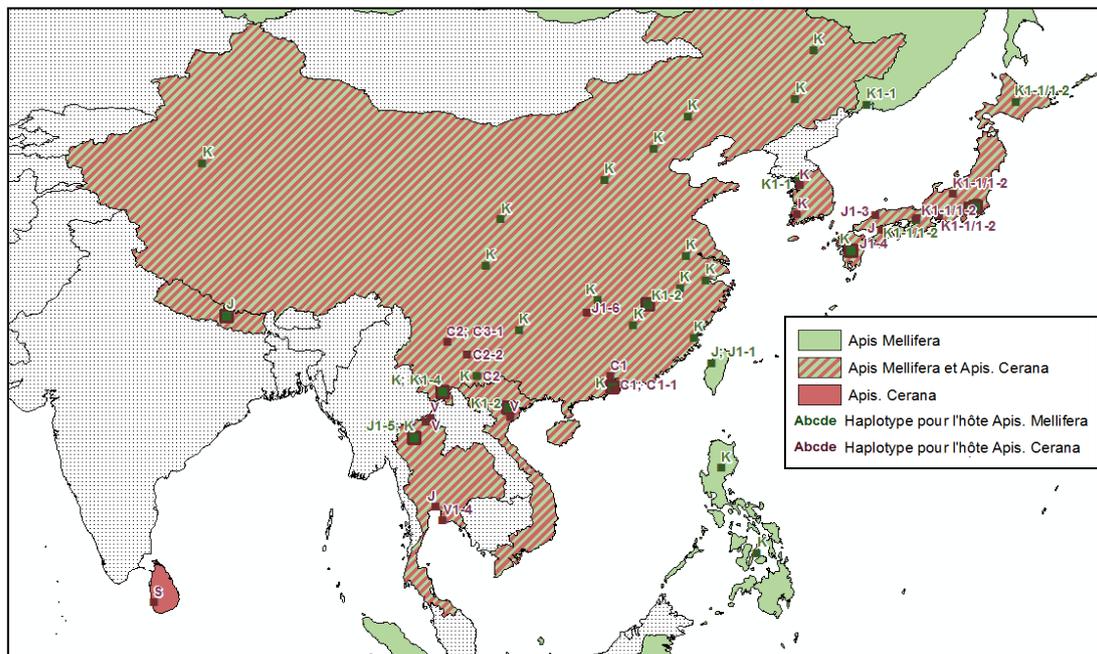


Figure 3. Répartition des haplotypes connus de *Varroa Destructor* infestant *Apis Mellifera* et *Apis Cerana* en Asie (Navajas 2010, Zhou 2004, Ogihara 2020).

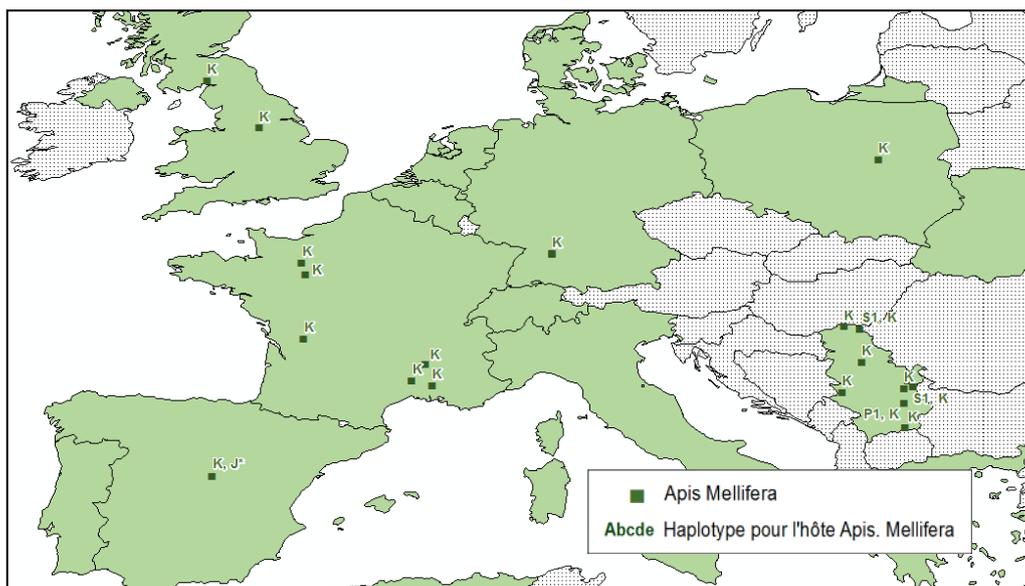


Figure 4. Répartition des haplotypes connus de *Varroa Destructor* infestant *Apis Mellifera* en Europe (Solignac et al. 2005, Muñoz et al. 2008, Gajić et al. 2013-2019). Les pays en vert sont ceux pour lesquels il a été observé l'haplotype K. Les localisations précises connues sont indiquées par des carrés verts. * L'haplotype Japonais n'a été retrouvé que sur un individu parmi les 575 échantillonnés en Espagne (Muñoz et al. 2008).

		cox1																				cox3	intergénique	nd4	cytb	NA													
Position		1716	1734	1740	1746	1758	1764	1836	1848	1980	1983	1992	2001	2007	2014	2016	2028	2037	2038	2070	2083	2084	2215	2229	2241	2244	2253	2436	4464	4465	7631	8391	10850	13575	15145	15197	15533		
AF1		0.023	0.014	0.017	0.020	0.018	0.016	0.014	0.024	0.027	0.028	0.026	0.025	0.030	0.031	0.036	0.036	0.036	0.037	0.037	0.037	0.037	0.024	0.024	0.018	0.018	0.017	0.023	0.553	0.540	0.955	0.997	0.997	0.768	0.611	0.369	0.072		
	REF	G	T	A	G	A	T	A	T	A	G	T	A	A	A	T	A	T	G	T	T	C	G	T	A	A	C	T	T	C	ATTTTTTTTT	A	A	G	G	C	G		
11	BS16-0670	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	.	.		
11	BS16-0675	C	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	.	a		
37	BS16-0600	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.		
37	BS17-1496	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	.	A	.	.		
37	BS17-1511	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	.	a		
37	BS17-1519	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	.	.		
37	BS17-1521	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	.	.		
37	BS17-1523	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.		
36	BS17-0616	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	t	.		
21	BS18-0027	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
21	BS18-0028	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
21	BS18-0029	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	A	t	a	
21	BS18-0030	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.		
21	BS18-0031	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
21	BS18-0034	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.		
21	BS18-0035	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
21	BS18-0036	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
21	BS18-0037	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	a	
21	BS18-0082	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
21	BS18-0084	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	a		
21	BS18-0109	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
21	BS18-0161	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
21	BS18-0163	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	.	.	
21	BS18-0164	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
21	BS18-0166	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
21	BS18-0167	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
21	BS18-0168	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
21	BS18-0173	C	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	.	.		
21	BS18-0177	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	T	.	
21	BS18-0178	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
21	BS18-0179	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	A	t	.	
21	BS18-0181	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	.	.	
21	BS18-0182	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	A	t	.	
21	BS18-0185	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
22	BS18-0231	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	t	.	
1	BS16-324	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	t	.	
1	BS16-381	C	T	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.		
1	BS16-383	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
1	BS16-384	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
2	BS16-382	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
3	BS16-471	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	t	a	
3	BS16-472	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
3	BS16-473	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
3	BS16-0458	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
3	BS16-0460	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
3	BS16-0461	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	T	.	
3	BS16-0463	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	.	.	.	
3	BS16-0464	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	.	.	
3	BS16-0468	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	a	.	.	
4	BS16-485-F	c	t	ATTTTTTTTT	T	t	A	A	t	.	
4	BS16-483-F	c	t	atTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.
4	BS16-0525	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	a	A	t	.
5	BS16-0506	c	t	atTTTTTTTT	T	T	a	a	t	.	
5	BS16-0508	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	t	.	
5	BS16-0512	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	A	t	.	
5	BS16-0509	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	A	t	.
6	BS16-518	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	.	.
6	BS16-520	c	t	ATTTTTTTTT	T	T	A	a	.	.	
6	BS16-540	.	.																																				

Table 3. Matrice des SNP et INDEL séquencés pour chaque colonie (BSXX-XXX + numéro d'identification des villes voir **figure 4**) V. Destructor échantillonnés en France (jaune), Suisse (violet), Etats-Unis (vert), Nouvelle Zélande (bleu), Pays-Bas (rouge). Une majuscule indique un site homozygote pour le nucléotide concerné. Une minuscule un site hétérozygote nucléotide alternatif et nucléotide de référence (REF). AF1 indique la fréquence allélique des nucléotides alternatifs.

Séquençage Varroa

Dans le cadre d'une analyse de la diversité des populations d'abeilles françaises, des échantillons d'ouvrières récoltées sur 1500 colonies ont été séquencés pour estimer leurs compositions génétiques. Le séquençage a été effectué sur de l'ADN extrait d'un broyat de 500 abeilles.

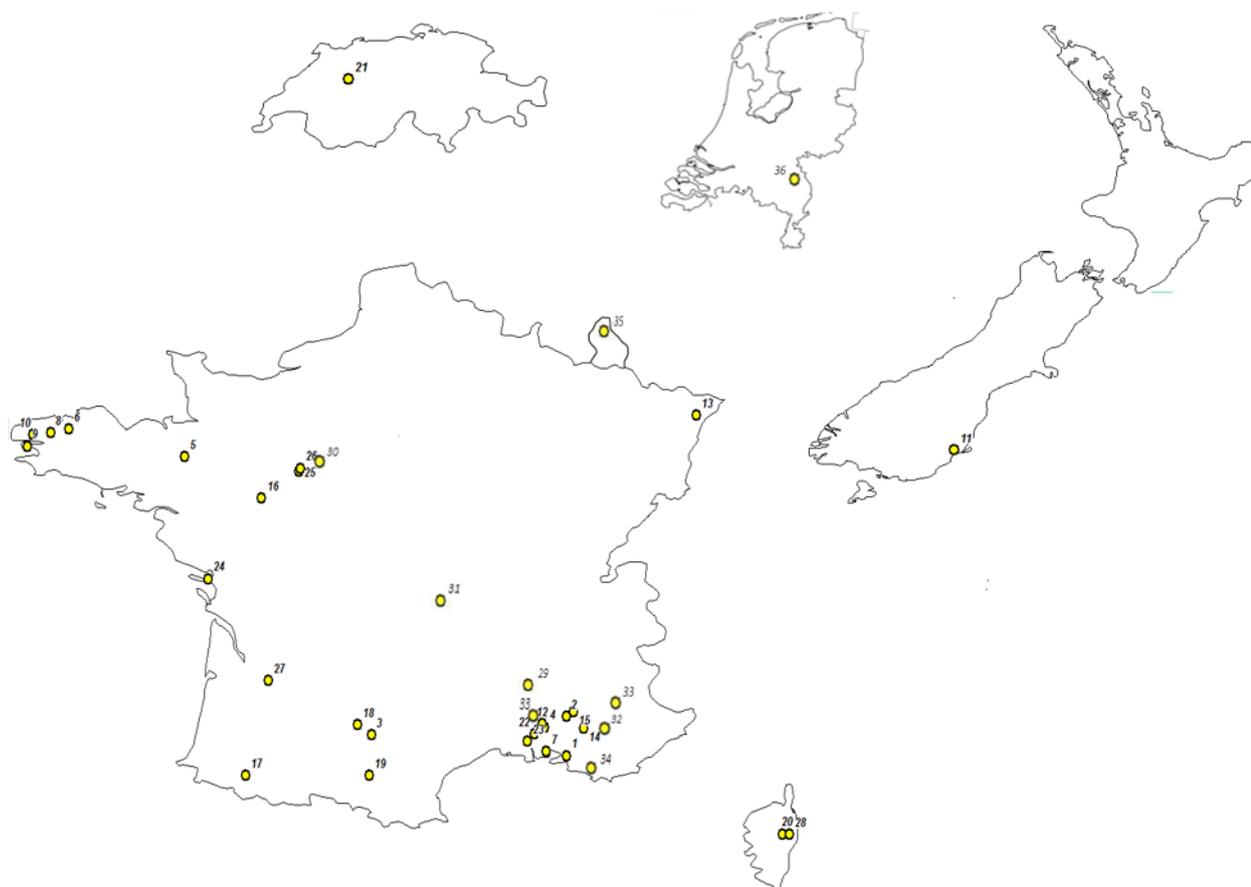


Figure 5. Distribution géographique des colonies échantillonnées et utilisées dans cette étude. Cabriès (1) Monieux (2) Giroussens (3) Caumont sur Durance (4) Chantepie (5) Plougouven (6) Istres (7) Locmelar (8) Crozon (9) Guipavas (10) Mosgiel (11) Morières les Avignon (12) Brumath (13) Reillane (14) Ferrassières (15) Beaufort en Vallée (16) Ogeu les Bains (17) Verlhac Tescou (18) Lapenne (19) Altiani (20) Berne (21) Mas Blanc des Alpilles (22) Arles (23) L'Hommeau (24) Le Grand-Lucé (25) Villaines-sous-Lucé (26) Morizès (27) Tallone (28) Vallaurie (29) Pruille leguille (30) Volvic (31) Esparron de verdon (32) Avignon (33) Le revest les eaux (34) Brandenburg (35) Boxmeer (36) Baton rouge (37) Barras (39).

Comme certaines de ces abeilles étaient potentiellement porteuses de *Varroa* adulte (dit phorétique), l'analyse des séquences produites a inclus la recherche d'ADN mitochondrial de *Varroa* (cf. méthodes). Sur les 1500 colonies échantillonnées, 153 ont conduit à une profondeur de séquençage supérieure à 5x pour le génome mitochondrial de *Varroa*. Ce sont ces colonies qui ont été retenues pour cette étude. Elles proviennent de France, de Suisse, des Etats Unis, des Pays Bas et de Nouvelle Zélande. Les localisations géographiques des colonies échantillonnées sont présentées **figure 5**.

Pour cette étude, seulement les SNPs pour lesquels Samtools donne un indice de qualité (ALT) de 999 ont été retenus. Il est constaté que tous les nucléotides aux positions présentés **table 4** sont différents de la séquence de référence. Parmi toutes les séquences des 153 colonies échantillonnées, aucune diversité nucléotidique n'est observée. Ces observations remettent en doute l'exactitude de la séquence de référence.

Les autres SNPs identifiés sont présents sur la séquence des gènes codant pour *cox1*, *cox3*, *nd4* et *cytb*. Une nouvelle partie du génome mitochondrial est identifiée comme variable pour l'ensemble des colonies (de la position 13575 à 1553pb). D'après les données disponibles sur la séquence de référence (Navajas et al. 2002), cette portion d'ADN ne code pas pour une protéine.

Aux positions 1465 et 1465, il est retrouvé des variations entre les nucléotides C et T dans la majorité des colonies. Cette portion de la séquence codant pour *cox3* repose sur un alignement non certain par rapport à la séquence de référence, ainsi il semble difficile d'utiliser cette information. Un SNP commun avec les études précédentes est observé à la position 1716. Il fait partie des variations propres aux haplotypes Chinois et Vietnamiens, mais les autres SNPs qui les caractérisent ne sont jamais observés. Les haplotypes de l'ensemble des sites échantillonnés sont identifiés comme étant Coréens et particulièrement de l'haplotype K1-1/1-2. Néanmoins pour certaines colonies du sud de la France et de Corse, à la position 1983, on retrouve une variation nucléotidique qui a souvent été prise dans la littérature pour différencier les haplotypes Japonais des Coréens. Tous les autres SNP identifiés n'ont jamais été présentés dans la littérature. Ce qui ressort le plus de cette analyse est la forte diversité observée le long de la séquence *cox1* dans les colonies françaises. Cette forte variabilité varie entre 2 et 4% de fréquence allélique (**table 3**). Les colonies échantillonnées sur les sites 20, 24, 28, 29 et 4 semblent former un groupe différent du reste des sites échantillonnées et être composées de nouveaux haplotypes non identifiés précédemment dans la littérature.

POS	791	2465	4412	5579	7076	8385	8701	8895	9716	13732	13889	14046	14203	14360	14517	14674	14831	15631	15632
REF	C	G	C	T	G	A	G	G	C	G	G	G	G	G	G	G	G	T	CAAAAAAAAAAAAAAAAAA
ALT	T	A	T	A	A	T	A	A	T	A	A	A	A	A	A	A	A	A	CAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Table 4. Séquence alternative à la séquence de référence Navajas et al 2002

4. Discussion

Dynamique d'infestation

La méta-analyse montre que seulement deux haplotypes de *Varroa destructor* infestant l'abeille mellifère ont été répartis dans le monde entier. La structure presque clonale des deux haplotypes suggère un fort phénomène de goulot d'étranglement à l'origine de leur expansion à travers tous les continents (Solignac et al. 2005). La faible diversité génétique observée est en accord avec le mode de reproduction de *Varroa Destructor*. En effet chez cet acarien, les œufs sont pondus au sein des cellules de couvain d'ouvrières. Le premier œuf est un mâle, les suivants sont des femelles. L'accouplement a lieu par la suite au sein des individus de la même fratrie (Fries et al. 1996). La distribution des haplogroupes J et K (**figure 2**) ainsi que leur divergence d'un point de vue génétique (**table 2**) laissent à penser que deux événements de changement d'hôtes sont à l'origine de cette répartition. Cette hypothèse est en accord avec Sakai et al. (1973) et Crane et al. (1978), qui relatent un premier changement d'hôte des acariens infestant *Apis Cerana* vers *A. Mellifera* au Japon en 1957, ainsi qu'un deuxième événement de changement d'hôte en Russie où *A. mellifera* a été infestée par des *V. Destructor* Coréens.

L'étude de diversité génétique de *Varroa* sur les populations d'*A. Mellifera* et *A. Cerana* en Asie, montre une différence en termes de nombre d'haplotypes présents chez chaque hôte, (12 et 6 haplotypes respectivement) (Navajas et al. 2010) (**table 2**). Aucun des variants d'acariens trouvés sur *A. cerana* n'a été observé sur *A. mellifera* et inversement. Ces résultats sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle il existerait deux réservoirs distincts de *Varroa* à partir desquels les haplotypes se seraient dispersés. Néanmoins on note que l'étude de la diversité dans la plupart des pays hors Asie se contente d'identifier l'haplogroupe, les haplotypes restant encore inconnus.

L'absence d'haplotypes identiques entre les deux espèces hôtes suggèrent une absence de flux de gène entre les populations infestant *A. cerana* et *A. mellifera*. La récente découverte de l'haplotype K1-1/1-2 de *Varroa* sur les deux espèces hôtes de l'acarien (Ogihara et al. 2020) engendre quelques interrogations. En premier lieu, il est possible que l'haplotype K1-1/1-2 ait toujours parasité *Apis Cerana* mais que l'échantillonnage réalisé n'ait pas été suffisamment abondant pour avoir été détecté auparavant. Il est également possible que l'apparition de cet haplotype résulte d'un nouveau changement d'hôte récent. Navajas et al (2010) suggèrent qu'il est probable que la colonisation d'*A. mellifera* par de nouveaux haplotypes puisse dépendre de leur durée d'exposition à l'hôte. On peut supposer que c'est selon cette dynamique que K1-1/1-2 a réussi à coloniser *A. cerana* grâce au mode d'apiculture sympatrique des deux espèces hôtes. Cette hypothèse suggère que de nouveaux haplotypes

risquent de parasiter *Apis mellifera* en Asie. Ce phénomène engendrerait de vrais problèmes pour le maintien des colonies utilisées en apiculture ainsi que leur gestion.

L'apparente disparition des haplotypes japonais ainsi que leur perte de diversité observée au Japon (Ogihara et al. 2020) peuvent être expliquées par une virulence supérieure de l'haplogroupe K qui serait plus adapté à l'infestation que l'haplogroupe J. L'envahissement de l'haplotype K peut être le résultat du hasard de l'échantillonnage qui n'a pas été exhaustif. On peut également supposer que la dérive génétique est à l'origine de cette répartition et qu'elle n'est donc pas la conséquence d'une adaptation des acariens. Il serait intéressant de tester et de comparer les capacités de reproduction des deux haplotypes sur leur hôte pour essayer de déterminer si l'haplogroupe Coréen est un meilleur compétiteur que l'haplogroupe Japonais.

Identification de pattern d'haplotypes en France

Un séquençage de l'ADNmt afin d'analyser la diversité génétique chez *V. Destructor* n'avait été réalisé en France que par Navajas et al. (2002) lorsqu'ils ont publié le génome complet de *Varroa*. Les seules variations connues sur les acariens du territoire étaient dues aux analyses par enzymes de restriction qui permettaient de classer les acariens selon 2 haplogroupes : J et K. Les études réalisées en Asie (Navajas et al. 2010, Ogihara et al. 2020) et en Serbie (Gajić et al. 2013, 2019) portaient sur les variations observées sur 4 gènes mitochondriaux (cox1, cox3, atp6 et cytb). D'après les résultats obtenus dans cette étude, l'ensemble des sites variables observés se concentrent sur 4 gènes (cox1 et cox3 principalement, cytb et nd4 dans une moindre mesure (1 seul nucléotide dans chaque séquence est alternatif)). La nouvelle portion variable de l'ADNmt identifiée dans notre étude est probablement une région neutre, ce qui expliquerait sa forte variabilité sur l'ensemble des séquences analysées. Les données récoltées suggèrent la présence d'individus d'haplotype Japonais en Corse, dans le sud-est de la France ainsi qu'en Charente Maritime. Ce sont également dans ces régions que la plus forte variabilité de la séquence cox1 est observée, elle est d'ailleurs plus variable que ce qui a été précédemment identifié dans la littérature.

L'homogénéité des séquences de l'haplotype K1-1/1-2 sur l'ensemble du territoire français comparée à la présence de nombreux SNPs en Corse et au sud-est du pays laissent apparaître deux groupes de colonies possédant une richesse haplotypique différente. L'importation des colonies en Corse a probablement engendré un goulot d'étranglement sévère qui pourrait expliquer la diversité génétique particulière observée sur l'île et qui a pu être accentuée par la limitation des flux de gènes entre les colonies due la gestion apicole stricte des abeilles AOP Corses.

Le séquençage de l'ADNmt a été réalisé en mélange. Lorsqu'un individu est dit hétérozygote, cela signifie qu'il y a un mélange de plusieurs souches de *Varroa* dans la colonie avec des individus portant l'allèle alternatif, d'autres un allèle identique à la référence. Comme l'ont suggéré précédentes publications (Muntaabski et al. 2020, Gajić et al. 2013, 2019), il se peut également que les individus soient hétéroplasmiques, c'est-à-dire qu'ils possèdent différentes versions de la séquence d'un même gène.

Limitations de l'étude

Pour certaines colonies échantillonnées dans cette étude, la profondeur obtenue n'a pas été estimée suffisante. La faible quantité d'ADN récoltée peut être due à l'absence de l'acarien ou à la période d'échantillonnage. En effet celui-ci repose sur la récolte de *Varroa* phorétique, or lors du cycle de reproduction de *Varroa Destructor* (Fries et al. 1996) les individus peuvent n'être présents que dans les cellules de couvain et n'ont donc pas pu être récoltés par cette méthode.

Trente-six sites variables ont été observés. Les résultats obtenus sont quelque peu limités par le logiciel utilisé. Samtools travaille avec des individus diploïdes, or l'étude ici porte sur le génome mitochondrial haploïde. Il est possible que certains SNP aient pu ne pas avoir été retenus à cause de la méthode d'identification choisie ($ALT \geq 999$) qui a permis d'un autre côté de filtrer drastiquement les éventuelles erreurs de séquençage.

Possibilité d'utilisation de marqueurs nucléaires

Le génome mitochondrial est non recombinant et offre des possibilités de reconstruction démographique assez limitées. Un des enjeux de l'analyse de la diversité de *Varroa Destructor* serait de pouvoir conduire des études avec des marqueurs nucléaires. Des marqueurs microsatellites nucléaires ont déjà été développés en utilisant la méthode de « Screening of genomic libraries » (Evans et al. 2000, Solignac et al. 2003). Le séquençage complet du génome de l'acarien en 2010 par Corman et al. et en 2019 par Techer et al. permet aussi l'identification de nouveaux marqueurs microsatellites. Chez *Apis Mellifera*, le faible polymorphisme observé au sein des types J et K, conduit les auteurs à conclure que chaque type possède une structure quasi-clonale (Solignac et al. 2005). L'utilisation de ces marqueurs permet de déceler une isolation reproductive complète entre les deux haplotypes. Des analyses en composantes principales (Beaurepaire et al. 2015) ont permis d'observer 2 groupes d'haplotype également isolés reproductivement K1-1, V1-1/C1-1. La coévolution hôte-parasite a

conduit rapidement les haplotypes à une isolation reproductive totale (Beaurepaire et al. 2015). Ce phénomène est dû aux goulots d'étranglement engendrés par le changement d'hôte de *Cerana* vers *Mellifera*. Le mode de reproduction particulier de *Varroa* a permis une forte différenciation des haplotypes. On peut alors se demander si cette isolation reproductive va mener à une spéciation des haplotypes. L'étude des marqueurs microsatellites semble essentielle pour comprendre la dynamique des haplotypes de *V. Destructor*. On notera tout de même que l'identification d'hybrides par cette méthode (Beaurepaire et al. 2015, Dietemann et al. 2019) pose des problèmes d'interprétation étant donné qu'il existe un risque important que les allèles trouvés résultent d'histoire évolutive différentes, et non d'une origine ancestrale commune. Le séquençage complet du génome de *Varroa* ouvre des possibilités de génomique. Avec le développement des nouvelles technologies de séquençage, cette base va permettre une étude plus élargie de la diversité du génome de l'acarien.

Association hôte parasite

Comprendre la spécificité des interactions hôtes parasites permettrait de déceler la présence d'un éventuel réservoir de résistance chez l'abeille mellifère et en particulier en termes de types génétiques. À la suite d'un phénomène d'importation humaine de la sous-espèce *Apis mellifera scutellata* en Amérique du sud, un nouveau type est créé par son hybridation avec des abeilles domestiques du continent (Schumacher et al. 1995). Ces abeilles sont alors dites africanisées. Il est remarqué une différence de virulence des acariens faces aux différents types d'abeilles mellifères. Plusieurs facteurs sont mis en cause. Tout d'abord, les abeilles africanisées ont un comportement de nettoyage des acariens très efficace, et notamment plus développé que celui de la sous-espèce *Apis mellifera ligustica* (Moretto et al. 1993). Il est également observé chez les abeilles africanisées une capacité à reconnaître et à éliminer les abeilles en développement dans les cellules de couvains parasitées par l'acarien, freinant ainsi la propagation de celui-ci (Moretto et al. 2006).

En Argentine, des différences de virulence entre les acariens de plusieurs colonies ont été observées (Maggi et al. 2012). Aucune relation entre les haplotypes et la résistance de l'abeille à varroa n'a été détectée. L'échantillonnage en Argentine décèle uniquement la présence de l'haplotype coréen (Anderson et Trueman 2000, Solignac et al. 2005, Guerra et al. 2010, Muntaabski et al. 2020). Les différences de virulences de *Varroa* observées chez *A. mellifera*, pourraient être dues au type d'abeilles formant la colonie (africanisées ou non), mais cette hypothèse n'a pas encore été testée.

La différence de résistance des colonies à l'acarien pourrait avoir d'autres origines. Entre les populations d'abeilles présentes au Mexique et au Brésil (Guzmán et al. 1999), la différence du degré

de virulence n'est pas due au type d'abeille mellifère, les deux populations étant africanisées dans chaque pays (Vandame et al. 2000). Il a d'abord été supposé que cet écart de virulence pouvait être dû au type d'haplotype de *Varroa* infectant les abeilles mellifères, or les acariens présentent tous le même pattern d'haplotype (K) (Anderson et Trueman 2000, Garrido et al. 2003, Guerra et al. 2010, Strapazzon et al. 2009). Pour définir les haplotypes, la séquence de quatre gènes mitochondriaux (cox1, atp6, cox3, cytb) a été principalement utilisée (Navajas et al. 2010). Cette méthode regroupe une faible quantité de données du fait premièrement de la faible quantité de SNP observé et également car l'ADN mitochondrial est non recombinant. Une analyse d'association hôte parasite a été réalisée en Serbie. L'étude a été basée sur l'utilisation des haplotypes identifiés sur la séquence codant pour l'ARNt^{leu}-cox2 de l'abeille, analysés en association avec les haplotypes de *Varroa* (Gajić et al. 2019). Aucune association hôte parasite n'a été détectée. Ces résultats pourraient résulter du manque d'informations transmis par ces haplotypes.

Il semble nécessaire d'utiliser un panel plus important de données génétiques chez les deux espèces impliquées dans cette relation phorétique. Approfondir l'étude des différents types génétiques de l'abeille en association avec ceux de l'acarien est un enjeu essentiel pour déceler la présence d'un réservoir possible de résistance à *Varroa Destructor* et permettre de mener une lutte réfléchie contre ses effets néfastes sur les colonies.

Bibliographie

- Amdam, Gro V., et al. « Altered Physiology in Worker Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) Infested with the Mite *Varroa Destructor* (Acari: Varroidae): A Factor in Colony Loss During Overwintering? » *Journal of Economic Entomology*, vol. 97, n° 3, juin 2004, p. 741-47, doi:10.1093/jee/97.3.741.
- Anderson, D. L., et J. W. H. Trueman. « *Varroa Jacobsoni* (Acari: Varroidae) Is More than One Species ». *Experimental & Applied Acarology*, vol. 24, n° 3, mars 2000, p. 165-89, doi:10.1023/A:1006456720416.
- Anderson, Denis L., et Stefan Fuchs. « Two genetically distinct populations of *Varroa jacobsoni* with contrasting reproductive abilities on *Apis mellifera* ». *Journal of Apicultural Research*, vol. 37, n° 2, janvier 1998, p. 69-78, doi:10.1080/00218839.1998.11100957.
- Beaurepaire, Alexis L., et al. « Host Specificity in the Honeybee Parasitic Mite, *Varroa* Spp. in *Apis Mellifera* and *Apis Cerana* ». *PLOS ONE*, édité par Olav Rueppell, vol. 10, n° 8, août 2015, p. e0135103, doi:10.1371/journal.pone.0135103.
- Boecking, Otto, et E. Genersch. « Varroosis – the Ongoing Crisis in Bee Keeping ». *Journal Für Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit*, vol. 3, n° 2, mai 2008, p. 221-28, doi:10.1007/s00003-008-0331-y.
- Cornman, R. Scott, et al. « Genomic survey of the ectoparasitic mite *Varroa destructor*, a major pest of the honey bee *Apis mellifera* ». *BMC Genomics*, vol. 11, n° 1, octobre 2010, p. 602, doi:10.1186/1471-2164-11-602.

- de Guzman, L. I., et al. « DNA Evidence of the Origin of *Varroa Jacobsoni* Oudemans in the Americas ». *Biochemical Genetics*, vol. 35, n° 9, octobre 1997, p. 327-35, doi:10.1023/A:1021821821728.
- Delfinado, Mercedes D. « Mites of the Honeybee in South-East Asia ». *Journal of Apicultural Research*, vol. 2, n° 2, janvier 1963, p. 113-14, doi:10.1080/00218839.1963.11100070.
- Dietemann, Vincent, et al. « Population Genetics of Ectoparasitic Mites *Varroa* Spp. in Eastern and Western Honey Bees ». *Parasitology*, vol. 146, n° 11, 2019, p. 1429-39, doi:10.1017/S003118201900091X.
- Duay, P., De Jong, D et al. « Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development ». *Genet. Mol. Res.*, 2002, 1(3), p. 227-232.
- Evans, Jay D., et Dawn L. Lopez. « Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Important Honey Bee Pest, *Varroa Destructor* (Acari: Varroidae) ». *Experimental & Applied Acarology*, vol. 27, n° 1, janvier 2002, p. 69-78, doi:10.1023/A:1021574306010.
- Evans, J. D. et al. « Microsatellite loci in the honey bee parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Molecular Ecology* », 2000, 1436-1438.
- Farjamfar, Mahsa, et al. « Genetic Variability and Pyrethroid Susceptibility of the Parasitic Honey Bee Mite *Varroa Destructor* (Acari: Varroidae) in Iran ». *Experimental and Applied Acarology*, vol. 76, n° 1, septembre 2018, p. 139-48, doi:10.1007/s10493-018-0296-1.
- Fries, Ingemar, et Peter Rosenkranz. « Number of Reproductive Cycles of *Varroa Jacobsoni* in Honey-Bee (*Apis Mellifera*) Colonies ». *Experimental & Applied Acarology*, vol. 20, n° 2, février 1996, p. 103-12, doi:10.1007/BF00051156.
- Gajić, Bojan, et al. « Coexistence of Genetically Different *Varroa Destructor* in *Apis Mellifera* Colonies ». *Experimental and Applied Acarology*, vol. 78, n° 3, juillet 2019, p. 315-26, doi:10.1007/s10493-019-00395-z.
- Gajic, Bojan, et al. « Variability of the Honey Bee Mite *Varroa Destructor* in Serbia, Based on MtDNA Analysis ». *Experimental and Applied Acarology*, vol. 61, n° 1, 2013, p. 97-105, doi:10.1007/s10493-013-9683-9.
- Garrido, Claudia, et al. « Temporal changes in *Varroa destructor* fertility and haplotype in Brazil ». *Apidologie*, vol. 34, n° 6, 2003, p. 535-41, doi:10.1051/apido:2003041.
- Genersch, Elke. « Honey Bee Pathology: Current Threats to Honey Bees and Beekeeping ». *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 87, n° 1, juin 2010, p. 87-97, doi:10.1007/s00253-010-2573-8.
- Guerra Jr., J. C. V., et al. « RAPD identification of *Varroa destructor* genotypes in Brazil and other regions of the Americas ». *Genetics and Molecular Research*, vol. 9, n° 1, 2010, p. 303-08, doi:10.4238/vol9-1gmr696.
- Guzman, Lilia I. de, et Thomas E. Rinderer. « Identification and Comparison of *Varroa* Species Infesting Honey Bees ». *Apidologie*, vol. 30, n° 2-3, 1999, p. 85-95, doi:10.1051/apido:19990201.
- Jong, D. De, et al. « Weight Loss and Other Damage to Developing Worker Honeybees from Infestation with *Varroa Jacobsoni* ». *Journal of Apicultural Research*, vol. 21, n° 3, janvier 1982, p. 165-67, doi:10.1080/00218839.1982.11100535.
- Kelomey, Aude E., et al. « Genetic Characterization of the Honeybee Ectoparasitic Mite *Varroa Destructor* from Benin (West Africa) Using Mitochondrial and Microsatellite Markers ». *Experimental and Applied Acarology*, vol. 72, n° 1, 2017, p. 61-67, doi:10.1007/s10493-017-0141-y.
- Kraus, B., et G. Hunt. « Differentiation of *Varroa Jacobsoni* Oud Populations by Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD) ». *Apidologie*, vol. 26, n° 4, 1995, p. 283-90, doi:10.1051/apido:19950402.

- LaSalle, J., & Gauld et al. « Hymenoptera: their biodiversity, and their impact on the diversity of other organisms. Hymenoptera and biodiversity », p. 1993, 1-26.
- Maggi, M., et al. « Genetic Structure of Varroa Destructor Populations Infesting Apis Mellifera Colonies in Argentina ». *Experimental and Applied Acarology*, vol. 56, n° 4, 2012, p. 309-18, doi:10.1007/s10493-012-9526-0.
- Moretto, G., Gonçalves, L. S., & De Jong, D. “Heritability of Africanized and European honey bee defensive behavior against the mite Varroa jacobsoni. *Revista Brasileira de Genetica*,” 1993, 16, p. 71-71.
- Moretto, Geraldo, et al. « Uncapping Activity of Apis Mellifera L. (Hymenoptera: Apidae) towards Worker Brood Cells Infested with the Mite Varroa Destructor Anderson & Treuman (Mesostigmata: Varroidae) ». *Neotropical Entomology*, vol. 35, n° 3, 2006, p. 299-301, doi:10.1590/S1519-566X2006000300002.
- Muñoz, Irene, et al. « Genetic profile of Varroa destructor infesting Apis mellifera iberiensis colonies ». *Journal of Apicultural Research*, vol. 47, n° 4, janvier 2008, p. 310-13, doi:10.1080/00218839.2008.11101480.
- Muntaabski, Irina, et al. « Genetic Variation and Heteroplasmy of Varroa Destructor Inferred from ND4 MtDNA Sequences ». *Parasitology Research*, vol. 119, n° 2, février 2020, p. 411-21, doi:10.1007/s00436-019-06591-5.
- Navajas, Maria, Denis L. Anderson, et al. « New Asian types of *Varroa destructor*: a potential new threat for world apiculture ». *Apidologie*, vol. 41, n° 2, 2010, p. 181-93, doi:10.1051/apido/2009068.
- Navajas, Maria, Y. Le Conte, et al. « The Complete Sequence of the Mitochondrial Genome of the Honeybee Ectoparasite Mite Varroa Destructor (Acari: Mesostigmata) ». *Molecular Biology and Evolution*, vol. 19, n° 12, décembre 2002, p. 2313-17, doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a004055.
- Navajas, Maria J. « Tracking the Colonisation History of the Invasive Species Varroa Destructor ». *Trends in Acarology*, édité par Maurice W. Sabelis et Jan Bruin, Springer Netherlands, 2010, p. 375-78, doi:10.1007/978-90-481-9837-5_61.
- Ogihara, Mari H., et al. « Dominant Honeybee Colony Infestation by Varroa Destructor (Acari: Varroidae) K Haplotype in Japan ». *Applied Entomology and Zoology*, vol. 55, n° 2, 2020, p. 189-97, doi:10.1007/s13355-020-00667-w.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B.. « Biology and control of Varroa destructor. *Journal of invertebrate pathology*” 2010, 103, S96-S119.
- Rasolofoarivao, Henriette, Johanna Clémencet, Adrien Speck, et al. « Genetic Diversity of Varroa Destructor Parasitizing Apis Mellifera Unicolor in Madagascar ». *Apidologie*, vol. 48, n° 5, 2017, p. 648-56, doi:10.1007/s13592-017-0509-3.
- Rasolofoarivao, Henriette, Johanna Clémencet, Lala Harivelo Raveloson Ravaomanarivo, et al. « Spread and Strain Determination of Varroa Destructor (Acari: Varroidae) in Madagascar since Its First Report in 2010 ». *Experimental and Applied Acarology*, vol. 60, n° 4, 2013, p. 521-30, doi:10.1007/s10493-013-9658-x.
- Ruttner, F. « Varroaosis in honeybees: extent of infestation and effects. *Varroa jacobsoni*”, 1983, p. 7-9.
- Sakai, T., & Okada, I. (1973). present beekeeping in Japan. Gleanings in bee culture.
- Schumacher, Michael J. « Significance of Africanized Bees for Public Health: A Review ». *Archives of Internal Medicine*, vol. 155, n° 19, octobre 1995, p. 2038, doi:10.1001/archinte.1995.00430190022003.
- Solignac, Michel, et al. « The Invasive Korea and Japan Types of *Varroa Destructor*, Ectoparasitic Mites of the Western Honeybee (*Apis Mellifera*), Are Two Partly Isolated Clones ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 272, n° 1561, février 2005, p. 411-19, doi:10.1098/rspb.2004.2853.

- Strapazzon, R., et al. « Genetic characterization of the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) collected from honey bees *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) in the State of Santa Catarina, Brazil ». *Genetics and Molecular Research*, vol. 8, n° 3, 2009, p. 990-97, doi:10.4238/vol8-3gmr567.
- Techer, Maeva A., et al. « Divergent Evolutionary Trajectories Following Speciation in Two Ectoparasitic Honey Bee Mites ». *Communications Biology*, vol. 2, n° 1, 2019, p. 357, doi:10.1038/s42003-019-0606-0.
- Vandame, Rémy, et al. « Levels of compatibility in a new host-parasite association: *Apis mellifera*/*Varroa jacobsoni* ». *Canadian Journal of Zoology*, vol. 78, n° 11, novembre 2000, p. 2037-44, doi:10.1139/z00-109.
- Warrit, Natapot, et al. « Genetic subpopulations of *Varroa* mites and their *Apis cerana* hosts in Thailand ». *Apidologie*, vol. 37, n° 1, 2006, p. 19-30, doi:10.1051/apido:2005051.
- Wilfert, L., et al. « Deformed Wing Virus Is a Recent Global Epidemic in Honeybees Driven by *Varroa* Mites ». *Science*, vol. 351, n° 6273, février 2016, p. 594-97, doi:10.1126/science.aac9976.
- Zhou, Ting, et al. « Identification of *Varroa* mites (Acari: Varroidae) infesting *Apis cerana* and *Apis mellifera* in China ». *Apidologie*, vol. 35, n° 6, 2004, p. 645-54, doi:10.1051/apido:2004059.

ANNEXES

Table 1. Regroupement des techniques utilisées pour l'identification de la diversité génétique de *Varroa Destructor*.

ARTICLE	Hôte	PAYS d'échantillonnage de <i>Varroa Destructor</i> (Nombre d'acarien)	Numéro d'accension Genbank (cox1)	Haplotype mitochondrial	Méthode
2000 Anderson et Trueman	Apis. Cerana	CHINE	AF106900	C1	RAPD Enzymes de restriction Sac I et Xho I
		COREE	AF106899	K	
		JAPON /THAILAND	AF106897	J	
		NEPAL	AF106898	N	
		VIETNAM	AF106901	V	
		SRI LANKA	AF106896	S	
	Apis. Mellifera	ARGENTINE	NA	K	
		BELGIUM	NA	K	
		BRAZIL	NA	J+K	
		CANADA	NA	K	
		CHINA	NA	K	
		COSTA RICA	NA	K	
		DENMARK	NA	K	
		EGYPT	NA	K	
		FRANCE	NA	K	
		GERMANY	NA	K	
		GREECE	NA	K	
		INDONESIA	NA	K	
		ISRAEL	NA	K	
		ITALY	NA	K	
		JAPAN	NA	J+K	
		MEXICO	NA	K	
		NETHERLANDS	NA	K	
		PHILIPINES	NA	K	
		PORTUGAL	NA	K	
		RUSSIA	NA	K	
		SOUTH AFRICA	NA	K	
		SOUTH KOREA	NA	K	
		SPAIN	NA	K	
		SWITZERLAND	NA	K	
THAILAND	NA	J+K			
UKRAINE	NA	K			
UNITED KINGDOM	NA	K			
UNITED STATES	NA	J+K			
URUGUAY	NA	K			
VIETNAM	NA	K			
YUGOSLAVIA	NA	K			
2003 Garrido et al.	Apis. Mellifera Carnica	GERMANY (19)	NA	K	Enzymes de restriction Sac I et Xho I
	Africanized A. Mellifera	BRAZIL (38)	NA	K	
	AHB	BRAZIL (1-5)	NA	J+K	
2004 Zhou et al.	Apis. Mellifera	CHINE	NA	K	Enzymes de restriction Sac I et Xho I
	Apis. Cerana	CHINE	C2: AY372063	V+C1+ C2	
2005 Solognac et al.	Apis. Mellifera	FRANCE (38)	NA	K	Enzymes de restriction Sac I et Xho I
		POLAND (8)	NA	K	
		ENGLAND (2)	NA	K	
		SCOTLAND (2)	NA	K	
		ALGERIA (12)	NA	K	
		SOUTH AFRICA (10)	NA	K	
		CHILE (3-132)	NA	J+K	
		ARGENTINA (13)	NA	K	
		FRENCH GUYANA (6-4)	NA	J+K	
		MEXICO (23)	NA	K	
		USA (32)	NA	K	
		NEW ZEALAND (6)	NA	K	
ISRAEL (12)	NA	K			

<i>Suite table 1.</i>		PHILIPPINES (17)	NA	K	
		CHINE (20)	NA	K	
		TAIWAN (12)	NA	J	
		JAPAN (7-41)	NA	J+K	
		NEPAL (5)	NA	J	
	Apis. Cerana	Japan (3-6)	NA	J+K	
2006 Warrit et al.	Apis. Cerana	THAILAND	NA	V1	Enzymes de restriction Sac I et Xho I Comparaison avec séquences cox1 publiées (NCBI BLASTn)
2009 Strapazzon et al.	Apis. Mellifera	BRAZIL (30-160)	NA	J+K	Enzymes de restriction Sac I et Xho I
2010 Navajas et al.	Apis. Mellifera	CHINA	K1-2: GQ379058 K1-4: GQ379060	K1-2 + K1-4	Séquençage séquence concaténée : cox1, atp6, cox3, cytb + Comparaison avec séquences cox1 publiées (alignement de séquence)
		JAPAN	K1-1: GQ379056 J1-6: GQ379074	J1-6+K1-1	
		KOREA	K1-1: GQ379056	K1-1	
		RUSSIA	K1-1: GQ379056	K1-1	
		TAIWAN	J1-1: GQ379069	J1-1	
		THAILAND	J1-5: GQ379073	J1-5	
	Apis. Cerana	CHINA	C1-1: GQ379065 C1-2: GQ379066 C2-1: GQ379067 C3-1: GQ379068 V1-2: GQ379062 K1-3 : GQ379059	C1-1 + C1-2 + C2-1 + C3-1 + V1-2 + K1-3	
		JAPAN	J1-2: GQ379070 J1-3: GQ379071 J1-4: GQ379072	J1-2 + J1-3 + J1-4	
		THAILAND	V1-3: GQ379063 V1-4: GQ379064	V1-3 + V1-4	
		VIETNAM	V1-1: GQ379061	V1-1	
2010 Guerra et al.	Apis. Mellifera	BRAZIL (10-68)	NA	J-K	RAPD
		ARGENTINA (20)	NA	K	
		VENEZUELA (10)	NA	K	
		CUBA (7)	NA	K	
		CHILE (10)	NA	K	
		URUGUAY (15)	NA	K	
		COLOMBIA (5)	NA	K	
		MEXICO (15)	NA	K	
2013 Gajic et al.	Apis. Mellifera	SERBIA (17-26-1)	S1: JX970938 P1: JX970939	S1** + K + P1*	Comparaison avec séquences COI publiées (NCBI BLASTn) + *Séquençage séquence concaténée : cox1, atp6, cox3, cytb
2013 Rasolofoarivao et al.	Apis. Mellifera	Madagascar (13)	JX827474-86	K1-1	Comparaison avec séquences cox1 publiées (alignement de séquence)
2008 Muños et al.	Apis. Mellifera	SPAIN	NA	K, J	Enzymes de restriction Sac I et Xho I
		PORTUGAL	NA	K	
		Balearic Islands	NA	K	
		El Hierro	NA	K	
2017 Kelomey et al.	Apis. Mellifera	BENIN (24)	NA	K	Enzymes de restriction Sac I et Xho I
2018 Farjamfar et al.	Apis. Mellifera	IRAN (~100)	NA	K1-1/1-2	Enzymes de restriction Sac I et Xho I
2019 Dietemann et al.	Apis. Mellifera	THAILAND	MN179648	K	Comparaison avec séquences COI publiées (NCBI BLASTn)
	Apis. Cerana	THAILAND	MN179654	K	
2020 Muntaabski et al.	Apis. Mellifera	ARGENTINA	NA	K1-1/K1-2 + KArg-N2	Comparaison avec séquences COI publiées (NCBI BLASTn)

2020 Ogihara et al.	Apis. Mellifera	JAPAN	NA	K1-1/1-2	Enzymes de restriction Sac I et Xho I
---------------------	-----------------	-------	----	--------------------------	---------------------------------------