

Desenvolvimento de painéis de SNPs ultra-reduzidos a partir de dados de sequenciação

Henriques, Dora^{1,2}; Parejo, Melanie^{3,4}; Vignal, Alain⁵; Wragg, David⁶; Wallberg, Andreas⁷; Webster Matthew T.⁷; Pinto M. Alice¹

^{1,2} dorasmh@gmail.com, Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal e Centro de Biologia Molecular e Ambiental (CBMA), Universidade do Minho, Portugal

^{3,4} melanieparejo@gmail.com, Agroscope, Swiss Bee Research Centre, 3003 Bern, Switzerland e Institute of Bee Health, Vetsuisse Faculty, University of Bern, 3003 Bern, Switzerland

⁵ alain.vignal@toulouse.inra.fr, GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, INPT, INP-ENVT, 31326 Castanet Tolosan, France

⁶ david.wragg@roslin.ed.ac.uk, The Roslin Institute, University of Edinburgh, EH25 9RG Edinburgh, United Kingdom

⁷ andreas.wallberg@imbim.uu.se, Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Science for Life Laboratory, Uppsala University, Uppsala, Sweden

⁷ matthew.webster@imbim.uu.se, Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Science for Life Laboratory, Uppsala University, Uppsala, Sweden

⁷ apinto@ipb.pt, Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

Resumo

A abelha melífera, *Apis mellifera* L., tem um papel fundamental no funcionamento dos ecossistemas e na produção de alimentos, no entanto, está sujeita a diversas ameaças. Entre outras, a introdução em larga escala de raças comerciais (normalmente com ancestralidade da Europa Oriental ou linhagem C) leva a uma hibridação introgressiva quebrando os complexos de genes adaptados localmente, os quais são cruciais para uma sustentabilidade a longo prazo das populações nativas. Esta ameaça tem sido alvo de preocupação na Europa Ocidental onde a subespécie nativa *A. m. mellifera* está seriamente ameaçada pela introgressão e a outra, a abelha ibérica, *A. m. iberiensis*, pode vir a ter o mesmo destino.

Neste trabalho foram desenvolvidos quatro painéis ultra-reduzidos do marcador molecular designado polimorfismo de nucleótido simples (SNPs; 37-40 SNPs, cada) que podem ser usados de forma independente ou combinada para estimar introgressão genética na abelha ibérica. Como base usamos o genoma completo de 176 indivíduos (117 *A. m. iberiensis* e 59 linhagem C). A seleção dos SNPs foi feita usando o índice de diferenciação (F_{ST}), sendo apenas utilizados os SNPs fixos ($F_{ST}=1$). Adicionalmente, avaliamos os efeitos do tamanho da amostra e da amostragem geograficamente confinada no número de SNPs fixos. Verificamos que existe um enviesamento quando o tamanho da amostra é ≤ 10 e quando a amostragem representa uma pequena porção da diversidade genética. Finalmente, demonstramos que os painéis ultra-reduzidos, individualmente ou combinados, são rigorosos na estimação da introgressão da linhagem C em *A. m. iberiensis*, apresentando-se como uma ferramenta de grande utilidade na monitorização da integridade genética desta subespécie.

Este estudo foi financiado pelo projeto BEEHOPE através do concurso conjunto 2013-2014 BiodivErsA/FACCE-JPI pela FCT (Portugal), CNRS (França) e MEC (Espanha).

Palavras-Chave: *Apis mellifera iberiensis*; genomas; painéis de SNPs ultra-reduzidos.

Developing ultra-low-density SNP assays from whole-genome sequence data

Henriques, Dora^{1,2}; Parejo, Melanie^{3,4}; Vignal, Alain⁵; Wragg, David⁶; Wallberg, Andreas⁷; Webster Matthew T.⁷; Pinto M. Alice¹

^{1,2} dorasmh@gmail.com, Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal e Centro de Biologia Molecular e Ambiental (CBMA), Universidade do Minho, Portugal

^{3,4} melanieparejo@gmail.com, Agroscope, Swiss Bee Research Centre, 3003 Bern, Switzerland e Institute of Bee Health, Vetsuisse Faculty, University of Bern, 3003 Bern, Switzerland

⁵ alain.vignal@toulouse.inra.fr, GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, INPT, INP-ENVIT, 31326 Castanet Tolosan, France

⁶ david.wragg@roslin.ed.ac.uk, The Roslin Institute, University of Edinburgh, EH25 9RG Edinburgh, United Kingdom

⁷ andreas.wallberg@imbim.uu.se, Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Science for Life Laboratory, Uppsala University, Uppsala, Sweden

⁷ matthew.webster@imbim.uu.se, Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Science for Life Laboratory, Uppsala University, Uppsala, Sweden

⁷ apinto@ipb.pt, Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

Abstract

The honeybee (*Apis mellifera* L.) plays a critical role in ecosystem functioning and food production, and it is subject to multiple threats. Among others, the large-scale introductions of commercial strains (mostly of Eastern European or C-lineage ancestry), leads to introgressive hybridization, disrupting locally adapted gene-complexes, which are crucial for the long term sustainability of honey bee populations. This circumstance is particularly worrisome in Western Europe where one of the two native subspecies (*A. m. mellifera*) is seriously endangered by introgression, and the other one, the focal Iberian honeybee (*A. m. iberiensis*), might have the same fate.

In this study, we developed four independent ultra-low-density single nucleotide polymorphism (SNP) assays (37-40 SNPs each), which can be used independently or combined. As a baseline, we used whole-genome sequence data of 176 individuals (117 *A. m. iberiensis* and 59 C-lineage). The selection of the SNPs was based on the differentiation index F_{ST} , being only considered the fixed SNPs ($F_{ST}=1$). Furthermore, we evaluated the effects of sample size and sampling a geographically restricted area on the number of fixed SNPs. We verified that a bias on the number of fixed SNPs is introduced when sample size is ≤ 10 and when sampling only captures a small part of the genetic diversity. Finally, we demonstrated that the four ultra-low-density assays, singly or combined, are very powerful for estimating C-lineage introgression in *A. m. iberiensis*, which will be a great help for cost-effectively assessing and monitoring its genetic integrity.

This study was supported by the project BEEHOPE through the call 2013-2014 BiodivErsA/FACCE-JPI pela FCT (Portugal), CNRS (França) e MEC (Espanha).

Keywords *Apis mellifera iberiensis*; genomes; ultra-low-density SNP assays.