

Ильясов et al, 2007

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ
УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ИЖЕВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
УДМУРТСКАЯ РЕСПУБЛИКАНСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ПЧЕЛОВОДОВ «МЁД УДМУРТИИ»

АПИДОЛОГИЯ И ПЧЕЛОВОДСТВО

ВЫПУСК 2

Iliasov R.A., Poskriakov A.V., Nikolenko A.G., Komissar A.D. Ukrainskie pchely *Apis mellifera* sossimai - otel'nyj podvid ili severo-zapadno prichernomorskij ekotip pchel *Apis mellifera macedonica*? Sbornik statej "Apidologija i pchelovodstvo". Vypusk 2. Izhevsk. 2007. S 12-20.

ИЖЕВСК 2007

Автор e-mail: apismell@hotmail.com

Пургинского районов наблюдалась довольно низкая частота комбинации RQQ (<0,70), что свидетельствует о завозе пчел южных подвидов (табл. 1).

К сожалению, анализ проводился на очень ограниченном количестве образцов. Для получения более объективных данных планируется увеличить объем выборки из локальных популяций, а также расширить число генетических маркеров. Наибольший интерес для нас представляют северные районы Удмуртии, где имеются большие шансы на сохранение популяций *A. m. mellifera*, благодаря более жесткому естественному отбору в северных условиях. Так, например, сохранилась уникальная популяция *A. m. mellifera* в Красновишерском районе Пермского края.

УКРАИНСКИЕ ПЧЕЛЫ *APIS MELLIFERA SOSSIMAI* – ОТДЕЛЬНЫЙ ПОДВИД ИЛИ СЕВЕРО-ЗАПАДНО ПРИЧЕРНОМОРСКИЙ ЭКОТИП ПЧЕЛ *APIS MELLIFERA MACEDONICA*?

Р.А.Ильсов, А.В.Поскряков, А.Г.Николенко, А.Д.Комиссар*
Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,
Россия, 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71,
e-mail: apismell@hotmail.com

*Национальный аграрный университет, кафедра пчеловодства,
Украина, 03056, Киев, п.я. 55, e-mail: alex-kom@lucskiev.ua

Известно, что украинская медоносная пчела подвида *Apis mellifera sossimai* Engel, 1999 (старое неверное название *Apis mellifera acervorum* Scoticov), аборигенна для большей части Украины и некоторых юго-западных регионов России. Также известно, что генотип этого подвида пчел является составляющим генофонда пчел дальневосточной популяции, имеющих, как известно, гибридное происхождение. К сожалению, еще не была определена граница распространения *A. m. sossimai* на Западе. В Румынии считают, что там обитает уникальный аборигенный подвид медоносной пчелы - *Apis mellifera carpatica* Foti et al., 1965, ареал которого - долины карпатских гор. Восточная же граница ареала *A. m. carpatica* до сих пор не определена.

Существует несколько гипотез о происхождении украинских пчел - от простого утверждения, что они являются южной ветвью *Apis mellifera mellifera* L. (Таранов, 1987), и заявления, что они являются видоизмененной популяцией *Apis mellifera carnica* Pollmann, 1879 (Губин. 1977) до более сложного - результат бессистемной гибридизации подвидов *A. m. mellifera* и

A.m.carpathica и дальнейшего длительного естественного отбора в условиях степей Украины (Билаш, Кривцов, 1991).

F.Ruttner (1988) на основе морфометрических исследований показал, что пчелы северной Греции могут быть выделены в отдельный подвид *Apis mellifera macedonica* Ruttner, 1987. Кроме того, F.Ruttner (1988) показал, что пчелы на территории Болгарии и Румынии также относятся к подвиду *A.m.macedonica*, хотя в каждой из этих стран считают, что у них свойaborигинный подвид пчелы, а не *A.m.macedonica*. Из Украины через НИИ пчеловодства России (г.Рыбное) F.Ruttner (1988) получил только две матки и определил, что их также можно отнести к *A.m.macedonica*. Конкретное место происхождения этих маток осталось неизвестным. Сами результаты F.Ruttner (1988), описанные только в его монографии 1988 года очень долго оставались неизвестными апидологам Украины и России. Поскольку у F.Ruttner (1988) не было достаточного количества материала с Украины, он не включил ее в карту распространения *A.m.macedonica*, но его данные можно рассматривать как нечетко сформированную гипотезу о принадлежности украинских пчел к подвиду *A.m.macedonica*.

Сопоставление морфологических характеристик болгарских, румынских и украинских пчел позволило А.Д.Комиссару (2003) утверждать, что это может быть один подвид медоносной пчелы, всего лишь называемый по-разному в разных странах, поскольку при проведении исследований ученые из этих стран часто ограничивались только границами своей страны.

Впоследствии несколько десятков образцов украинских пчел было проанализировано с использованием дискриминантного компьютерного анализа 10 параметров жилкования крыльев в Чехии в Институте пчеловодства (Черный, Комиссар, неопубликованные результаты). Первоначальной целью этих исследований было создание стандарта украинских пчел по жилкованию крыльев, который позволил бы быстро отличать их от пчел других подвидов и такой временный стандарт даже был создан. Однако оказалось, что большинство исследованных образцов украинских пчел по данному признаку можно было отнести к подвиду *A.m.macedonica*. Таким образом, идентификацию украинских пчел, как оказалось, можно проводить по существующему стандарту *A.m.macedonica*. Эти данные подтвердили гипотезу F.Ruttner (1988) о том, что украинские пчелы являются субпопуляцией единой популяции *A.m.macedonica*, распространенной на территории нескольких стран восточной Европы. Однако существующее мнение о том, что украинские пчелы — отдельный подвид пчел, очень устойчиво. Даже в международной номенк-

латуре украинские пчелы приняты за отдельный подвид *A.m.sossimai* Engel, 1999. Для уточнения действительного таксономического статуса украинских пчел необходимо провести дополнительные исследования с использованием молекулярно-генетических методов.

Мы поставили цель – показать, какой из подвидов европейских пчел наиболее генетически близок к украинским пчелам на основе сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента гена ND2 митохондриальной ДНК (мтДНК) украинских пчел *A.m.sossimai*, с *A.m.macedonica* из Греции, *A.m.camica* из Германии и Австрии, *Apis mellifera ligustica* Spinola, 1806 из Италии, *A.m.mellifera* из Республики Башкортостан.

При работе с украинскими пчелами существовала большая опасность того, что в качестве образцов украинских пчел могли попасть гибридные и тогда бы наши выводы могли быть неверными. Действительно, проведенный в Чехии компьютерный анализ жилкования крыльев пчел из племенных семей лучшего питомника Института пчеловодства Украины показал, что большая часть из них – это гибридные пчелы (Комиссар, 2006). Поэтому для анализа мы взяли пчел из личной пасеки А.Д.Комиссара, где содержались племенные чистые линии украинских пчел, отобранные на основании анализов по жилкованию крыльев в Чехии. Следует отметить, что на основании анализов по жилкованию крыльев были отбракованы около 50% семей, полученных с пасеки Л.Егошина в Сумской области.

В работе нами была определена нуклеотидная последовательность фрагмента гена ND2 мтДНК трех образцов пчел из Украины (пасека А.Д.Комиссара около г. Киева) (номера в международных генбанках EMBL, NCBI, DDBJ: DQ361088, DQ361089, DQ361090), трех образцов пчел из России (Республика Башкортостан. Бурзянский район) с пасеки Капова-Пещера (DQ181612), с пасеки Коран-Елга (DQ181613) и из бортей Государственного природного заповедника «Шульган-Таш» (DQ181611) (табл. 1).

Определение нуклеотидной последовательности фрагмента гена ND2 мтДНК проводили на автоматическом секвенаторе ABI Prism 310 Genetic Analyser (PE Applied Biosystems, USA) с использованием набора для флуоресцентного мечения DYEnamicTMET согласно протоколу фирмы производителя (Amersham Pharmacia Biotech DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit).

Таблица 1 Образцы пчел, использованные в сравнительном анализе нуклеотидной последовательности фрагмента гена ND2 мтДНК

№*	Номер генбанке	Подвид	Местообитание	Автор	Год
1	AY114503	macedonica	Греция	A.Marino et al.	2002
2	AY114504			A.Marino et al.	2002
3	U35755			M.C.Agias et al.	1996
4	DQ361088	sossimai (macedonica)	Украина	R.A.Ilyasov et al.	2006
5	DQ361089				
6	DQ361090				
7	DQ181611	mellifera	Россия (Башкортостан)	R.A.Ilyasov et al.	2005
8	DQ181612				
9	DQ181613				
10	AY114509	carnica	Германия	A.Marino et al.	2002
11	AY114507		Австрия	M.C.Agias et al.	1996
12	U35749				
13	AY114485	ligustica	Италия	A.Marino et al.	2002
14	AY114491				
15	AY114486				
16	AY114487				
17	AY114488				
18	AY114489				

* в последующих таблицах используются эти же номера

В сравнении были использованы нуклеотидные последовательности фрагмента гена ND2 мтДНК рабочих особей пчел из Греции, Германии Австрии и Италии (всего 18 образцов пчел) (табл. 1). Образцы подвида *A.m.mellifera* - представители эволюционной ветви М - в данном сравнении были использованы в качестве аутгруппы для укоренения полученной филогенетической схемы. Представители подвидов *A.m.ligustica* и *A.m.carnica* были использованы в сравнении для того, чтобы выявить возможную гибридность украинских пчел с *A.m.ligustica* и *A.m.carnica* в связи с их большой популярностью среди пчеловодов Восточной и Западной Европы.

Известно, что фрагмент гена ND2 мтДНК вариабелен по нуклеотидному составу (Agias, Sheppard, 1996). Анализ нуклеотидной последовательности фрагмента гена ND2 мтДНК размером 574 п.н. показал однонуклеотидные замены в 10 позициях, из которых 9 были транзициями и 1 трансверсией (табл. 2). Отсчет нуклеотидов проводился относительно нуклеотидной последовательности полной митохондриальной ДНК подвида медоносной пчелы *A.m.ligustica* (NC 001566) просеквенированной R.H.Crozier и Y.C.Crozier (1993) размером 16343 п.н.

Таблица 2. Позиции нуклеотидных замен последовательности фрагмента гена ND2 мтДНК среди сравниваемых образцов пчел.

№	Подвид	Позиции нуклеотидных замен									
		504	541	685	816	894	987	999	1015	1023	1071
1	macedonica	С	С	Г	С	Т	Т	С	С	Т	Т
2	
3	
4	sossimai
5	
6	
7	mellifera	Т	.	.	Т	.	А	Т	Т	С	С
8		Т	.	.	Т	.	А	Т	Т	С	С
9		Т	.	.	Т	.	А	Т	Т	С	С
10	carnica	Т	.	.	.	С
11		Т	.	.	.	С
12		С
13	ligustica	.	.	А	.	.	.	Т	.	.	.
14		.	.	А	.	.	.	Т	.	.	.
15		.	Т
16		.	Т
17		.	Т
18		.	.	А	.	.	.	Т	.	.	.

На основе сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента гена ND2 мтДНК пчел с использованием программы MEGA 3.1 (Kumar et al., 2004) и дальнейшего расчета средних генетических расстояний между образцами было показано тесное генетическое родство пчел из Украины с пасеки А.Д.Комиссара и пчел *A.m.macedonica* из Греции, где средние генетические расстояния между образцами *A.m.macedonica* и *A.m.sossimai* были равны 0,0000 (табл. 3).

Таким образом, наиболее генетически отдаленными от украинских пчел оказались пчелы *A.m.mellifera* из Республики Башкортостан России (уникальной сохранившейся аборигенной популяции *A.m.mellifera*), что вполне логично, так как *A.m.macedonica*, *A.m.carnica*, *A.m.ligustica* – представители эволюционной ветви С (Ruttner, 1988), а *A.m.mellifera* – эволюционной ветви М.

На основе генетических дистанций с использованием программы MEGA 3.1 и метода кластеризации ближайшего соседа (Saitou and Nei, 1987) была построена филогенетическая схема (рис. 1), на которой можно наблюдать генетическое родство между подвидами пчел. Все образцы *A.m.macedonica* и *A.m.sossimai* объединились в одну группу, что говорит о

гесном генетическом родстве украинских и греческих пчел. В другую группу объединились пчелы *A.m.carnica* Германии и Австрии, которые наиболее близки *A.m.macedonica*. Представители *A.m.mellifera* Республики Башкортостан оказались наиболее отдаленными от *A.m.macedonica* и, соответственно, от *A.m.sossimai*.

Таблица 3. Средние генетические расстояния между подвидами медоносной пчелы на основе анализа различий нуклеотидной последовательности фрагмента гена *ND2* мтДНК.

Подвиды	macedonica	sossimai	mellifera	carnica	ligustica
macedonica	0,0000				
sossimai	0,0000	0,0000			
mellifera	0,0120	0,0120	0,0000		
carnica	0,0026	0,0026	0,0126	0,0004	
ligustica	0,0025	0,0025	0,0130	0,0053	0,0012

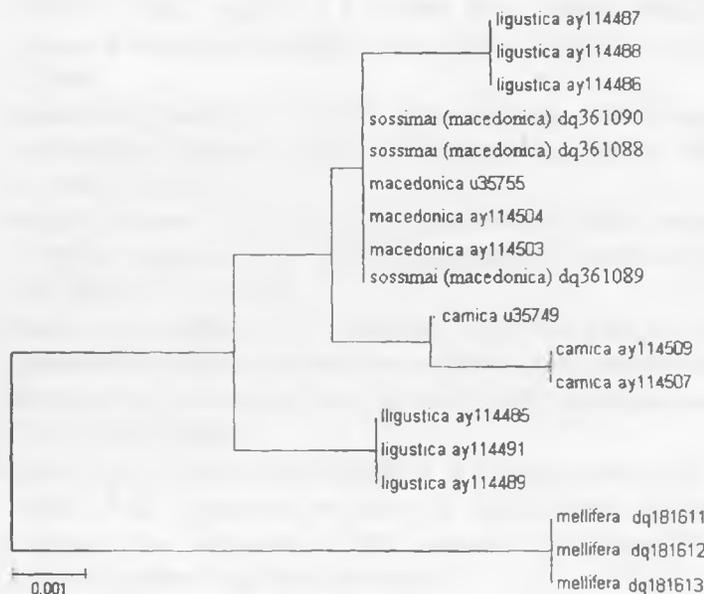


Рисунок 1. Филогенетическая схема генетического родства подвидов пчел, построенная на основе сравнительного анализа нуклеотидной последовательности фрагмента гена *ND2* мтДНК.

Таким образом, нет никаких оснований говорить о том, что украинские пчелы – это южная ветвь среднерусских пчел *A.m.mellifera* или результат

бессистемной гибридизации *A.m.mellifera* с *A.m.carpathica*. Но у нас есть все основания утверждать, что украинские пчелы *A.m.sossimai* являются субпопуляцией подвида *A.m.macedonica*.

Образцы пчел *A.m.ligustica* Италии разделились на две группы, одна из которых была очень близка к *A.m.macedonica*, а другая находилась на заметном отдалении. Согласно результатам исследований морфометрических характеристик *A.m.ligustica* Италии обладал большим сходством с *A.m.carnica* Австрии и Югославии (Ruttner, 1988). Мы полагаем, что, возможно, часть популяций *A.m.ligustica* Италии была гибридизована с *A.m.mellifera* Франции, что также подтверждалось в работе P.Franck et al. (2000) на основе изучения полиморфизма межгенного локуса COI-COII мтДНК.

Выводы:

1. Исходя из сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена ND2 мтДНК можно утверждать, что исследованные образцы украинских пчел относятся к подвиду *A.m.macedonica*.
2. Полученные результаты позволяют исключить предположения о том, что украинские пчелы являются южной ветвью среднерусских пчел *A.m.mellifera* или результатом ее бессистемной гибридизации с карпатскими пчелами *A.m.carpathica*.
3. На основе оценки генетических расстояний можно утверждать, что украинские *A.m.carnica* и македонские *A.m.macedonica* пчелы по отношению друг к другу являются подвидами, а не экотипами одного подвида, что отвергает гипотезу В.Губина (1977) о том, что украинские пчелы могут быть одной из популяций *A.m.carnica*.
4. Полученные данные являются еще одним подтверждением предположения F.Ruttner (1988) о возможной принадлежности украинских пчел к *A.m.macedonica*. Существует много оснований предполагать, что украинские пчелы *A.m.sossimai* Engel 1999 не отдельный подвид, а украинская популяция *A.m.macedonica* с возможным названием *Apis mellifera macedonica* var. *ukrainica* (предложение А.Д.Комиссара, 2005).

Литература.

1. Биляш Г.Д., Кривцов Н.И. Селекция пчел.- Москва: Агропромиздат, 1991.- 304 с.

2. Губин В.А. Украинская популяция карники // Пчеловодство.- 1977, №2.- С.25.
3. Таранов Г.Ф. Промышленная технология получения и переработки продуктов пчеловодства. Москва, Агропромиздат, 1987, 320 с.
4. Комиссар А.Д. Украинские пчелы // Пчеловодство, 2002, 4.- С.15-17.
5. Комісар О. Про наукову назву українських та карпатських бджіл // Український пасічник.- 2005, №.6.- С.23-25(на украинском языке).
6. Комісар О. Українські та болгарські бджоли – одна й та ж порода чи найближчі родичі ?? // Вісник Дніпропетровського університету. - 2003.- №2.- С.139-143 (на украинском языке).
7. Комісар О. Яких же маток ми купуємо? //Український пасічник, 2006, №7: 22-26 (на украинском языке).
8. Arias M.C., Sheppard W.S. Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequence // Molecular phylogenetics and evolution. 1996. V. 5. - V. 3. P. - 557-566.
9. Crozier R.H., Crozier Y.C. The Mitochondrial Genome of the Honeybee *Apis mellifera*: Complete Sequence and Genome Organization // Genetics. 1993. V. 133. P. 97-117.
10. Franck P., Garnery L., Celebrano G., Solignac M. et al. Hybrid origins of the Italian honeybees, *Apis mellifera ligustica* and *A.m.sicula* // Mol. Ecol. 2000. V. 9. P. 907-923.
11. Ilyasov R.A., Baymiev A.K., Poskryakov A.V., Nikolenko A.G. Phylogenetics researches in *Apis mellifera mellifera* L. concluded from mitochondrial DNA sequence in Urals // GenBank. 2005. - accession numbers DQ181611-DQ181622.
12. Ilyasov R.A., Komissar A.D., Baymiev A.K., Poskryakov A.V., Nikolenko A.G. Phylogenetics researches in *Apis mellifera macedonica* concluded from mitochondrial DNA sequence // GenBank. 2006. - accession numbers DQ361088-DQ361090.
13. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. Briefing in bioinformatics. 2004. V. 5. №2. P. 150-163.
14. Marino A., Mantovani B., Carpana E., Sabatini A.G., Lodesani M. ND2 and CO1 mitochondrial genes in *Apis mellifera* L.: a molecular approach to Mediterranean populations monitoring // Genbank submitted numbers AY114484 - AY136625. 2002.

15. Ruttner F. Biogeography and taxonomy of honey bees. Berlin: Springer-Verlag, 1988, 288 p.
16. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol. Biol. Evol. 1987. V. 4. P. 406-425.

БАШКИРСКАЯ ПОРОДА МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ

А.М. Ишемгулов, Г.С. Шангареева, И.И. Буранбаев, И.С. Суюнов

ГУ «Башкирский научно-исследовательский центр по пчеловодству и апитерапии»

Эффективное развитие пчеловодства в Республике Башкортостан невозможно без сохранения башкирской популяции пчел и использования ее в качестве исходного материала в селекционной работе по выведению новых линий и пород медоносных пчел. А сохранение и воспроизводство данной популяции возможно только на основе целенаправленной селекционной работы, направленной на усиление ее положительных качеств, таких, как плодovitость, продуктивность, зимостойкость, выносливость и др. и ослабление отрицательных – злобливость, ройливость и т.д.

Работа по созданию башкирской породы медоносных пчел была начата в 1996 году в лаборатории пчеловодства Башкирского научно-исследовательского проектно-технологического института животноводства и кормопроизводства и продолжена в государственном учреждении «Башкирский научно-исследовательский центр по пчеловодству и апитерапии» (далее – ГУ БНИЦ по пчеловодству и апитерапии) в рамках выполнения научно-исследовательских работ по программе «Сохранение, воспроизводство генофонда и расширение ареала обитания башкирской популяции медоносных пчел» (госрегистрация № 0120.0404876).

Порода создана на территории Республики Башкортостан путем целенаправленной селекционной работы на основе чистопородного разведения башкирской популяции медоносных пчел, сформированной в ходе длительной эволюции и естественного отбора.

Методика выведения башкирской породы медоносных пчел включала следующие основные разделы: анкетное изучение состояния пчеловодства в Республике Башкортостан и определение породной принадлежности пчел; отбор пчелиных семей-родоначальниц; формирование семей-воспитательниц; массовый отбор пчелиных семей; выведение линий; отбор по генотипу; племенной подбор; апробация результатов селекционной рабо-