

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
БИРСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ СОЦИАЛЬНО-ПЕДАГОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ

**Биологические науки
в XXI веке
Проблемы и тенденции
развития**

Avtor e-mail: apismell@hotmail.com

Сборник научных трудов
II Международной научно-практической конференции
20-22 ноября 2008 г.

Il'iasov R.A., SHareeva Z.V., Kutlin N.G., Poskriakov
A.V., Nikolenko A.G. Geneticheskij polimorfizm v
populiaciih pchel Urala i Povolzh'ia. Materialy
mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii
"Biologicheskie nauki v XXI veke". Birsk. 2008. S.
23-27.

Бирск 2008

Таким образом, популяция домового мыши на территории города Арзамаса характеризуется высокими уровнями метрической и фенетической изменчивости.

**Генетический полиморфизм в популяции пчел
Урала и Поволжья**

*Ильясов Р.А., *Шареева З.В., Поскряков А.В., *Кутлин Н.Г.,
Николенко А.Г.*

*Россия. Институт биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН,
г.Уфа*

**Бирская государственная социально-педагогическая академия,
г.Бирск*

Одним из основных условий успешного пчеловодства является знание о генетической структуре и уровне вариабельности популяции пчел. Условиями стабильности популяции являются равновесие Харди-Вайнберга, отсутствие потока генов между популяциям и оптимальный уровень генетической вариабельности. Стабильность популяции пчел постоянно нарушается под воздействием антропогенных и других факторов. Данные о структуре генофонда могут дать популяционные исследования.

Первоначально в популяционных исследованиях использовался только анализ морфометрических признаков. Его основу заложил Г.А.Кожевников (1900), который предложил методику измерения длины хоботка и хитиновых частей пчёл. Современная морфометрическая оценка *A.mellifera* основывается на работах G.Goetze (1940), В.В.Алпатова (1948), F.Ruttner et al. (1978) и других отечественных и зарубежных исследователей. После долгих исследований некоторые стандарты морфометрии были получены в нашей лаборатории для подвида *A.m. mellifera* башкирской популяции (Саттаров, Николенко, 2002). Однако выяснилось, что эти методы часто не позволяли точно идентифицировать подвиды из-за сильной зависимости морфометрических характеристик пчел от условий окружающей среды и уровня внутривидовой гибридизации (Guzman-Novoa et al., 1994; Симанков, 1999; Roubik et al., 2001). Впоследствии большинство исследователей стало переходить на использование молекулярных маркеров (Arias, Sheppard, 1996), дающих более точные, однозначно интерпретируемые результаты по сравнению с морфо-

1986, Behura, 2006). Для гаплодиплоидных *Hemiptera* сначала многие учёные предсказывали высокий уровень полиморфизма аллозимов (Mestriner, 1969; Crozier, 1973; Tomaszewski et al., 1973; Contel et al., 1977). Однако у медоносной пчелы *A. mellifera* был отмечен очень низкий уровень аллозимного полиморфизма, где из 23 ферментов полиморфными оказались только 2 (Sheppard, Berlocher, 1984) и из 30 - только 1 у пчел европейских популяций (Nunamaker, 1980), а у пчел башкирской популяции *A.m.mellifera* из 25 - только 3 (Косарева с соавт., 2000). Низкий уровень аллозимного полиморфизма был показан также для других представителей *Hymenoptera* (Metcalf et al., 1975; Lester, Snyder, 1975; Pamilo et al., 1975; Selander, 1979). По причине низкой вариабельности аллозимов они не могли быть использованы в дальнейших популяционных исследованиях пчел *A.mellifera*, а также для различения подвидов (Mestriner, 1969; Badino et al., 1982; Cornuet, 1983; Sheppard, McPheron, 1986; Sheppard, Berlocher, 1984; Sheppard, 1988; Del Lama et al., 1988, 1990; Lobo et al., 1989; Meixner et al., 1994).

Первоначальные исследования генофонда пчел с использованием метода RFLP (полиморфизма длин рестрикционных фрагментов) проводились на тотальной митохондриальной ДНК. D.R.Smith, W.M.Brown (1988) показали генетические различия подвида *A.m.mellifera* от африканизированных пчел в США методом RFLP мтДНК эндонуклеазами *BclI*, *EcoRI*, *NdeI*, *XbaI*.

Открытие PCR (полимеразной цепной реакции) в 80-х годах (Mullis et al., 1994) сделало возможным изучение полиморфизма ДНК и привело к революции в области молекулярной биологии. В результате для изучения полиморфизма в популяциях пчел стали использовать модифицированный вариант RFLP, где происходит рестрикция амплифицированных фрагментов ДНК. H.G.Hall, D.R.Smith (1991) используя RFLP анализа амплифицированных фрагментов генов CO-I и CO-II эндонуклеазами *EcoRI*, *HincII*, *Xba I* показали уровень генетической вариабельности популяции пчел Испании. На основе RFLP анализа амплифицированного фрагмента межгенного локуса COI-COII мтДНК с использованием эндонуклеазы *DraI* была изучена генетическая структура популяции пчел Франции (Franck et al., 1998), Италии (Franck et al., 2000), Норвегии, Швеции, Дании, Шотландии, Англии, Ирландии (Jensen et al., 2005).

COII мтДНК с использованием эндонуклеазы *DraI* была изучена генетическая структура популяции пчел Франции (Franck et al., 1998), Италии (Franck et al., 2000), Норвегии, Швеции, Дании, Шотландии, Англии, Ирландии (Jensen et al., 2005).

В изучении генома пчел параллельно развивался метод RAPD (полиморфизм длин амплифицированных фрагментов со случайно выбранными праймерами), который впоследствии нашел применение в исследованиях генома медоносной пчелы (Чудинов, 1999). С использованием метода RAPD G.J.Hunt и R.E. Page (1995) составили 26 групп сцепления и картировали гены определения пола, цвета тела и малат дегидрогеназы пчел.

Помимо метода RAPD, в популяционных исследованиях пчел использовалась аллель-специфичная PCR. В лаборатории института биохимии и генетики УНЦ РАН был разработан метод идентификации подвида *A.m.mellifera* на основе электрофоретического разделения в агарозном геле амплифицированных локусов межгенного локуса COI-COII мтДНК. Наша лаборатория также проводила поиск популяций подвида *A.m.mellifera* на Южном и Среднем Урале на территории Республики Башкортостан и Пермского края с использованием полиморфизма межгенного локуса COI-COII мтДНК (Саттаров, Николенко, 2000; Николенко, Поскряков, 2002), в результате чего были выделены сохранившиеся популяции *A.m.mellifera* (Ильясов, 2005; Ильясов с соавт., 2006, 2007, 2008).

Методика изучения генетического полиморфизма популяций пчел на основе полиморфизма SSR (микросателлитных локусов) основана также на аллель-специфичной PCR. В последнее время полиморфизм микросателлитных локусов широко используется во всем мире в изучении генетической структуры и уровня вариабельности популяций пчел разными исследователями. Так, A.Estoup et al. (1995) изучал эти вопросы на основе полиморфизма 7 микросателлитных локусов (B124, A7, A24, A113, A28, A88, A43), а P.Franck et al. (1998, 2000) на основе оценки полиморфизма 8 микросателлитных локусов в разных странах Европы, P.De La Rua et al. (2002) - на основе оценки полиморфизма 8 микросателлитных локусов в Северо-Восточной Италии, A.Jensen et al. (2005) - 11 микросателлитных локусов в Норвегии, Швеции, Дании, Шотландии, Англии, Ирландии. В нашей лаборатории Р.А. Ильясов (2006) и Р.А. Ильясов с

соавт., (2006, 2007, 2008) на основе полиморфизма 2 микросателлитных локусов (Ar243, 4a110) изучили генетическую вариативность популяций пчел на Южном и Среднем Урале на территории Республики Башкортостан и Пермского края.

Секвенирование ДНК также является часто используемым методом в популяционно-генетических исследованиях пчел. J.-M. Cornuet et al. (1991) просеквенировали межгенный локус COI-COII мтДНК пчел и показали различия *A.m.mellifera* от других подвидов. После изобретения автоматического секвенатора стало доступным изучение большого количества образцов за сравнительно короткое время. Исследователи M.C.Arias, W.S. Sheppard (1996) секвенирования фрагменты гена ND2 мтДНК показали различия *A.m.mellifera* от других подвидов пчел в Европе. В условиях лаборатории Р.А.Ильясовым вместе с соавт. (2006) был изучен ген ND2 мтДНК. Были также обнаружены различия *A.m.mellifera* от южных подвидов пчел на Урале на территории Республики Башкортостан. Недавно, сотрудники консорциума был просеквенирован весь геном медоносной пчелы и выявлены различия между *A.m.mellifera* и другими подвидами (Weinstock et al., 2006). Было показано, что подвид *A.m.iberica* очень сходен с подвидом *A.m.mellifera* и при кластерном анализе они группируются вместе.

Самым новым и многообещающим методом генетического анализа пчел является изучение полиморфизма SNP (однонуклеотидного полиморфизма), на основе которого можно будет составить генетический паспорт пчелы, а также очень быстро и сравнительно дешево определить их подвидовую принадлежность и филогенетический паттерн. Кстати, на сегодняшний день для медоносной пчелы нам известно несколько тысяч SNP (Whitfield et al., 2006).

Изучение генетической вариативности в популяции пчел Урала и Поволжья было выполнено с использованием порядка 10 генетических маркеров. Оказалось, что пчелы не по всем маркерам обладают значительным полиморфизмом. Так, микросателлитный локус ar049 в популяции пчел Башкортостана обладал очень незначительным полиморфизмом и в дальнейшем нами не был использован. Также отсутствовал полиморфизм длины у генов ND2 мтДНК, COI мтДНК и интрона гена EF1- α ядерной ДНК – у них наблюдается SNP полиморфизм.

который выявляется только секвенированием. Полиморфизм этих генов также частично выявляется рестрикцией эндонуклеазой DraI. Значительным полиморфизмом обладали все остальные микросателлитные локусы – ar243, 4a110, A8, A113 ядерной ДНК. Очень интересный полиморфизм наблюдался у межгенного локуса COI-COII мтДНК, где мы обнаружили существование 4 гаплотипов (Q, PQ, PQQ и PQQQ). Кроме того, в популяции пчел Урала и Поволжья полиморфным является ген антибактериального пептида дефензина (Львов, 2002). Оказалось, что для большинства популяций пчел, где не происходит массовый ввоз семей, наблюдается некоторая доля инбридинга, тогда как в популяциях, в которые завозят пчел извне. Результаты исследований были опубликованы в ведущих журналах «Пчеловодство» и «Генетика».

Лаборатория биохимии адаптивности насекомых Института биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН заинтересована в расширении ареала исследований и числа анализируемых локусов пчел, а также в сотрудничестве с крупными и частными пчеловодными хозяйствами. По результатам тестов мы можем предоставить данные о генетической структуре, подвидовом составе, направлении генетических процессов и ходе эволюционных преобразований исследуемых пчел.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 06-04-08183-офи и 08-04-97039-р-поволжье-а.

**Медовые композиции с лекарственными растениями
для коррекции естественных защитных сил организма**
*Маннапова Р.Т. *, Бакирова Г.Х. *, Ильясова З.З., Исмагилов А.М.*
*Россия. *Российский государственный аграрный университет –
МСХА им. К.А.Тимирязева, г.Москва*
Башкирский государственный аграрный университет, г.Уфа

Для понимания сущности процессов, происходящих в организме под влиянием уникальных компонентов из продуктов пчеловодства и растений необходимо выяснить механизм их влияния на естественные защитные реакции организма и разработать научно обоснованные предложения практического использования этих природных соединений.