

Президиум Сибирского отделения РАН  
Министерство образования, науки и инновационной политики Новосибирской области  
Учреждение РАН Институт систематики и экологии животных СО РАН  
Всероссийский НИИ ветеринарной энтомологии и арахнологии Россельхозакадемии  
Сибирское отделение Всероссийского энтомологического общества  
Фирма «Carl Zeiss»

# ЭНТОМОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СЕВЕРНОЙ АЗИИ

Материалы VIII Межрегионального совещания энтомологов  
Сибири и Дальнего Востока с участием зарубежных ученых  
Новосибирск, 4–7 октября 2010



Товарищество научных изданий КМК  
2010

## ПОПУЛЯЦИЯ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ СРЕДНЕГО И ЮЖНОГО УРАЛА

\*Р.А. Ильясов, \*\*А.В. Петухов, \*А.В. Поскряков, \*А.Г. Николенко

MIDDLE AND SOUTH URALS HONEY BEE POPULATION

R.A. Ilyasov, A.V. Petuchov, A.V. Poskryakov, A.G. Nikolenko

\*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054, Башкортостан, г. Уфа, пр. Октября, 71

\*\*Пермский государственный педагогический университет, 614990, г. Пермь, ул. Сибирская, 24

e-mail: apismell@hotmail.com

Подвид медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* L., идеально приспособленный к жизни в холодном континентальном климате с продолжительными периодами с отрицательной температурой, необходим жителям Северной Евразии для экономически выгодного пчеловодства. Ни один другой подвид медоносной пчелы не способен к существованию в подобных климатических условиях без помощи человека. По F. Ruttner et al. (1978), F. Ruttner (1988), M.C. Arias, W.S. Sheppard (1996), А.В. Петухов с соавт. (1996), А.Г. Николенко и А.В. Поскряков (2002), Р.А.Ильясов с соавт. (2006, 2007) подвид медоносной пчелы *A. m. mellifera* имеет естественный ареал вдоль северной границы Евразии до примерно 60° северной широты. Этот подвид медоносной пчелы в разных местах обитания имеет свое название и считается уникальным: в европейских странах его называют темной европейской пчелой, в России – среднерусской пчелой. В республике Башкортостан среднерусскую пчелу называют башкирской пчелой, а башкирскую пчелу, обитающую, в диком виде в бортях называют бурзянкой, по названию Бурзянского района, где расположен заповедник Шульган-Таш, охраняющий этих пчел.

В России, как и в Европе, под воздействием антропогенного фактора произошла гибридизация *A. m. mellifera* с подвидами медоносной пчелы, распространенными в более южных широтах. В Европе произошла гибридизация *A. m. mellifera* в основном с подвидами *A. m. carnica* и *A. m. ligustica*, в России – с подвидами *A. m. carnica*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*. Проблема сохранения генофонда аборигенного подвида Северной Евразии решается уже давно. К сожалению, в Европе и России не удалось сохранить популяцию *A. m. mellifera* в границах естественного ареала – в большинстве мест разводят медоносную пчелу гибридного происхождения. Для сохранения генофонда аборигенных пчел необходима точная идентификация подвидами принадлежности и происхождения семей. Первоначальные исследования, направленные на различение подвидов медоносной пчелы, были основаны на морфометрических (Goetze, 1940; Алпатов, 1948; Ruttner et al., 1978; Кривцов с со-

авт., 1995) и биохимических (Mestriner, 1969; Contel et al., 1977; Badino et al., 1982; Cornuet, 1983; Sheppard, Berlocher, 1984, 1985; Sheppard, McPherson, 1986; Sheppard, 1988; Del Lama et al., 1988, 1990; Lobo et al., 1989; Meixner et al., 1994; Ivanova et al. 2004; Simuth et al., 2004) методах изучения полиморфизма. В условиях все увеличивающегося уровня гибридизации эти методы начали терять свою эффективность.

Использование молекулярно-генетических методов оказалось более эффективным для различения подвидов медоносной пчелы с большим уровнем достоверности в условиях их массовой гибридизации. Начало генетических исследований медоносной пчелы было основано на анализе рестрикционного полиморфизма фрагментов (RFLP, ПДРФ) митохондриальной ДНК (mtDNA, мтДНК) (Hall, Smith, 1991; Smith, 1991; Garnery et al., 1992; Oldroyd et al., 1992; Schiff et al., 1995; Sihanuntavong et al., 1999). Дальнейшее развитие методов идентификации подвидов было основано на полимеразной цепной реакции (PCR, ПЦР). Первоначально в исследованиях генома медоносной пчелы нашел применение метод изучения полиморфизма со случайно выбранными праймерами (RAPD) (Kesseli, 1992; Greg, 1995; Zhanao, 1997; Чудинов, 1999; Sathees, 2001; Ivanova et al. 2004; Ivgin et al. 2004). Лocus-специфичная ПЦР по микросателлитным локусам ядерной ДНК (Tares et al., 1993; Estoup et al., 1995; Rowe et al., 1997; Haberl, Tautz, 1999; Polazhek et al., 2000; Oldroyd et al., 2000; Sittipraneed et al., 2001; De La Rua et al., 2002, 2003; Solignac et al., 2003; Franck et al., 2000, 2001; Paar et al., 2004), по локусам кодирующих генов ядерной ДНК (Danforth et al., 2006; Shultz, Regier, 2000), по локусам митохондриальной ДНК (Cornuet et al., 1991; Hall, Smith, 1991; Crozier, Crozier, 1993; Moritz et al., 1994; Estoup et al., 1995; Lobo, 2000; Franck et al., 1998, 2000, 2001; Николенко, Поскряков, 2002; Ильясов с соавт., 2006, 2007) стала более точным методом для идентификации подвидов медоносной пчелы. Для идентификации подвидов медоносной пчелы также эффективно используется секвенционный анализ локусов ядерной и митохондриальной ДНК и анализ однонуклеотидных замен (SNP)

(Itenov et al., 1991; Arias, Sheppard, 1996, 2005; Whitfield et al., 2006).

Нами были собраны медоносные пчелы *Apis mellifera* из 43 семей с 2 пасек заповедника Шульган-Таш Бурзянского района республики Башкортостан (пасека Капова Пещера, кордон заповедника; пасека п. Коран-Елга), из 52 семей с 6 пасек Башкирской опытной станции пчеловодства Иглинского района республики Башкортостан (п. Улу-Теляк, пасека Гареева; п. Улу-Теляк, пасека матководная; п. Улу-Теляк, пасека Орловская; п. Улу-Теляк, пасека Кугейко; п. Улу-Теляк, пасека Громова; п. Улу-Теляк, пасека Шамсуриная), из 37 семей с 8 пасек Юсьвенского района Коми-Пермяцкого округа Пермского края (с. Архангельское, пасека Кривошекова Д.Ф.; с. Юсьва, пасека Быкова Н.А.; с. Почашор, пасека Сторожева В.М.; д. Федотово, пасека Власова В.Д.; д. Федорово, пасека Бояндина А.Г.; пасека д. Б.Они; пасека д. Доег; пасека д. Пожва). Всего было проанализировано 132 семьи медоносной пчелы.

Для изучения генетической структуры населения медоносной пчелы Среднего и Южного Урала мы анализировали полиморфизм локуса COI-COII митохондриальной ДНК и микросателлитных локусов ar243, 4a110, a24 и a8. В трех локальных популяциях медоносной пчелы (бурзянская, иглинская и юсьвенская) наблюдались следующие частоты аллелей.

Межгенный локус COI-COII мтДНК у медоносной пчелы представлен 4 состояниями, где единственный элемент Q на Урале характеризует происхождение по материнской линии от подвидов пчел из южных регионов – *A. m. caucasica*, *A. m. carnica*, *A. m. ligustica* и других. Все остальные комбинации элементов P и Q на Урале характеризуют медоносную пчелу подвида *A. m. mellifera* по материнской линии. Бурзянская и юсьвенская популяции характеризуются максимальным содержанием пчел, происходящих от *A. m. mellifera* по материнской линии.

Уровень гетерозиготности является одним из основных показателей в популяционно-генетическом анализе пчел, характеризующий величину биологического и генного разнообразия. Для популяции медоносной пчелы известно, что избыточная и недостаточная гетерозиготность ведет к неблагоприятным явлениям. Для популяции медоносной пчелы в норме, по результатам наших многолетних исследований в России, свойствен небольшой дефицит гетерозигот (Ильясов с соавт., 2008). Мы рассчитали величину средней наблюдаемой гетерозиготности внутри субпопуляции  $H_o$  и сравнили ее со средней ожидаемой гетерозиготностью внутри субпопуляции. Во всей популяции по всем микросателлитным локусам ядерной ДНК наблюдается дефицит гетерозигот  $H_o$  (0,413) <  $H_s$  (0,444). Гетерозиготность внутри субпопуляций  $H_s$  (0,444) больше гетерозиготности между субпопуляциями

$D_{ST}$  (0,039). Величина межпопуляционной генетической дифференциации  $G_{ST}$  для всей популяции небольшая и приближается к значению 0,080.

Показатели гетерозиготности для каждой локальной популяции также различались. Наибольший дефицит гетерозигот наблюдался в иглинской локальной популяции  $H_o$  (0,562) <  $H_s$  (0,469), а наименьший – в юсьвенской  $H_o$  (0,347) <  $H_s$  (0,389). Межпопуляционная составляющая гетерозиготности  $D_{ST}$  наименьшая в бурзянской локальной популяции  $D_{ST}$  (0,000), а наибольшая – в иглинской  $D_{ST}$  (0,012). Соответственно, наименьшая величина межпопуляционной генетической дифференциации  $G_{ST}$  наблюдается в бурзянской локальной популяции  $G_{ST}$  (0,001), а наибольшая – в иглинской  $G_{ST}$  (0,026).

На основе изучения полиморфизма 4 микросателлитных локусов были рассчитаны коэффициенты инбридинга F-статистики для всей популяции. Расчет индекса фиксации (Wright, 1965)  $F_{IS}$ , отражающего инбридинг особи относительно субпопуляции показал, что во всей популяции наблюдается дефицит гетерозигот  $F_{IS}$  (0,052) > 0. Индекс фиксации  $F_{IT}$ , отражающий инбридинг особи относительно всей общей популяции, также показал дефицит гетерозигот во всей популяции, но на более высоком уровне  $F_{IT}$  (0,163) > 0. Индекс фиксации  $F_{ST}$ , отражающий инбридинг между субпопуляциями относительно всей целой популяции, а также уровень дифференцированности популяции показал, что популяция в целом подразделена  $F_{ST}$  (0,117) на субпопуляции.

Индексы фиксации, рассчитанные для субпопуляций, были следующие. По значениям  $F_{ST}$  наименее подразделенной оказалась бурзянская популяция  $F_{ST}$  (0,001), а наиболее подразделенной – иглинская  $F_{ST}$  (0,028). Наибольший уровень инбридинга и дефицит гетерозигот на уровне субпопуляций  $F_{IS}$  и на уровне всей популяции  $F_{IT}$  наблюдался в бурзянской популяции  $F_{IS}$  (0,241) > 0 и  $F_{IT}$  (0,242) > 0, а наименьший – в юсьвенской популяции  $F_{IS}$  (0,099) > 0 и  $F_{IT}$  (0,115) > 0. В иглинской популяции наблюдался аутобридинг с избытком гетерозигот  $F_{IS}$  (-0,167) < 0 и  $F_{IT}$  (-0,135) < 0.

На основе стандартных генетических расстояний (Nei, 1978) по данным анализа полиморфизма локуса COI-COII митохондриальной ДНК и микросателлитных локусов ar243, 4a110, a24 и a8 была построена дендрограмма с использованием кластерного анализа методом ближайшего соседа, используя в качестве меры связи метод Варда, а меры расстояния – Евклидову дистанцию. На дендрограмме наблюдается распределение локальных популяций на два кластера, где максимально гибридная иглинская популяция группируется отдельно от двух других. Сходная картина распределения локальных популяций наблюдается и в случае анализа только микросателлитных локусов ядерной ДНК.

Проведенный нами анализ генетической структуры трех удаленных друг от друга локальных популяций медоносной пчелы Южного и Среднего Урала показал их генетическую дифференциацию и подразделенность на субпопуляции в целом. Отмечалась совместная группировка юсьвенской популяции медоносной пчелы с бурзянской, которая ранее была определена на основе генетических исследований как популяция среднерусской пчелы *Apis mellifera mellifera*. Это свидетельствует о происхождении юсьвенской локальной популяции медоносной пчелы по ядерной и митохондриальной ДНК от подвида *A. m. mellifera*. Ранее определенная на основе генетических исследований гибри-

дная иглинская локальная популяция медоносной пчелы в данном исследовании располагалась отдельно. Следует отметить характерный для большинства популяций медоносной пчелы на Урале небольшой дефицит гетерозигот и инбридинг. Гибридная иглинская популяция, наоборот, характеризуется избытком гетерозигот и аутбридингом. Таким образом, на Южном (Бурзянский район республики Башкортостан) и Среднем Урале (Юсьвенский район Коми-Пермяцкого округа Пермского края) еще сохранились локальные популяции медоносной пчелы подвида *A. m. mellifera* с достаточными для длительного существования популяции во времени величиной ареала и численности.