

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ Кировской области

Мировая тенденция индустриализации сельского хозяйства несет в себе множество рисков, что изначально может проявляться в сокращении национальных генетических ресурсов животных и растений (Доктрина продовольственной безопасности РФ, 2010). Проблему сохранения генетических ресурсов местных пород животных мировое сообщество тесно связывает с необходимостью сохранения культурных традиций, с продовольственной безопасностью, устойчивым развитием сельского хозяйства и агроэколандшафтов в мире и его отдельных регионах, а также с качеством жизни человека в целом. Сохранение генофондов различных пород животных, в том числе и медоносных пчел, оптимизация их использования непосредственно зависят от степени разработки методов контроля уровня их биоразнообразия и популяционно-генетической структуры [1].

Природно-климатические условия Кировской области оптимальны для содержания и разведения пчелиных семей среднерусской породы (*Apis mellifera mellifera* L.). В процессе эволюции у них выработались адаптационные механизмы устойчивости к ряду биотических и абиотических факторов местности, что проявляется в их уникальной зимостойкости, устойчивости к падевому токсикозу, способности заготавливать кормовые запасы в количестве 100–120 кг в период короткого бурного медосбора.

Интродукция медоносных пчел инородных пород, начавшаяся более ста лет назад с переходом от колодного к рамочному содержанию семей, привела к тому, что на территории Кировской области число семей среднерусской породы в настоящее время не превышает 8%. Массово на территорию области завозили пчелиных маток и пакеты карпатской (*A. m. carpatica*), серой горной кавказской (*A. m. caucasica* Gorb.), а в некоторые годы краинской (*A. m. carnica*), итальянской (*A. m. ligustica* Spin.) пород и даже дальневосточных пчел.

Вследствие этого современные массивы пчел Кировской области сформированы гибридами, лишенными адаптаций, свойственных местным пчелам. В настоящее

время отмечают снижение зимостойкости (гибель семей на некоторых пасеках составляет 25–30%, иногда достигает 80%, наличие поноса становится нормой) и утрату эффективности работы на медосборах, о чем говорят показания контрольного улья. На главном медосборе на многих пасеках суточные привесы не превышают 6–8 кг. В то же время изменения массы контрольного улья у пчелиных семей среднерусской породы в аналогичных условиях достигают 10–15 кг/сут, что является характерным признаком этой породы.

Аналогичная ситуация наблюдается и в близлежащих регионах: Удмуртской Республике, Пермском крае, Коми-Пермяцком округе, Архангельской области и др. Однако факт регистрации семей с признаками аборигенной породы в данных регионах, доказательно подтвержденный исследованиями [2, 3], побудил нас приступить к решению актуальной задачи идентификации и выделения локальных популяций пчелиных семей аборигенной среднерусской породы на территории Кировской области с последующим сохранением генофонда в естественных ареалах обитания.

В оценке генофонда медоносных пчел наиболее распространен зоотехнический метод, включающий анализ морфологических, хозяйственно полезных и этологических признаков. В настоящее время с целью повышения эффективности племенного отбора во многих отраслях применяется маркирование признаков на уровне генотипа.

Для выполнения задачи в период с 2008 по 2011 г. мы провели генотипирование пчелиных семей Кировской области с использованием популяционно-генетического и морфобиологического методов.

Популяционно-генетический анализ позволяет оценить происхождение семей независимо от морфологических признаков, но преимущественно по материнской линии, так как основу его составляет изучение полиморфизма межгенного локуса COI-COII митохондриальной ДНК (мтДНК). Локализованный между генами COI-COII протяженный АТ-обогащенный межгенный локус мтДНК, не кодирующий аминокислот-

ную последовательность, используется в качестве маркера для различия пород медоносной пчелы *A. m. mellifera* L. и *A. m. caucasica* Gorb. благодаря вариативности его длины, обусловленной различным соотношением элементов P и Q. Межгенный участок у представителей эволюционной ветви M (*A. m. mellifera* L.), аборигенной для природно-климатических условий Кировской области, имеет комбинацию PQQ, а у представителей ветви C (*A. m. caucasica* Gorb., *A. m. carnica*, *A. m. ligustica* Spin.) — один элемент Q. Одновременно проведен анализ медоносных пчел по микросателлитным локусам ar243 и 4a110 ядерной ДНК.

Морфобиологическую (фенотипическую) оценку проводили по семи основным экстерьерным признакам методом, разработанным НИИ пчеловодства [4]. Одновременно учитывали окраску кутикулы и волосяного покрова у рабочих особей по методике, описанной Ф.Руттнером [5]. Всего обследовано в четырех районах Кировской области фенотипическим методом 1500 особей из 60 пчелиных семей, популяционно-генетическим — 80 особей из 40 пчелиных семей.

Результаты популяционно-генетического анализа показали неоднородность происхождения исследуемых локальных популяций медоносной пчелы (табл. 1).

1. Наблюдаемые частоты аллелей локуса COI-COII мтДНК в локальных популяциях медоносной пчелы Кировской области

Состав локуса COI-COII	Локальная популяция				Кировская область N=40
	Кильмезская N=10	Даровская N=10	Орловская N=10	Кирово-Чепецкая N=10	
Q	–	0,5	–	0,3	0,25
PQQ	0,6	0,5	1,0	0,7	0,66
PQQQ	0,4	–	–	–	0,09

Как видно, частота встречаемости комбинации PQQ варьирует в пределах от 0,5 до 1,0. Минимальная частота встречаемости комбинации PQQ, свойственная пчелам среднерусской породы, наблюдается в Даровской популяции, что свидетельствует о существенном влиянии других пород на ее генофонд.

Рассматривая Кировскую популяцию медоносной пчелы в целом, можем отнести ее к гибридной, так как межгенный локус COI-COII мтДНК, представленный лишь элементом Q, встречается с частотой 0,3–0,5, что свидетельствует о происхождении пчелиных семей по материнской линии от нескольких пород. Пчелиные семьи Кильмезской и Орловской популяций по материнской линии происходят только от пчел среднерусской породы.

В то же время следует отметить, что достоверно отличается от всех популяций только Кирово-Чепецкая ($p \leq 0,01$), все остальные по результатам анализа локуса COI-COII мтДНК и микросателлитных локусов ar243 и 4a110 яДНК не имеют достоверных отличий (табл. 2).

2. Коэффициент дифференциации между локальными популяциями медоносных пчел Кировской области

Локальная популяция	Орловская	Даровская	Кильмезская
Кирово-Чепецкая	0,070*	0,077*	0,114*
Орловская		0,001	0,008
Даровская			0,016

*Отличия достоверны при $P \leq 0,01$.

Несмотря на то что Кировская популяция медоносной пчелы по средним значениям частот встречаемости комбинаций PQQ и PQQQ оказалась гибридной, на исследуемой территории обозначились ареалы локальных популяций среднерусской породы, которые представляют особый практический интерес для племенной работы в области пчеловодства.

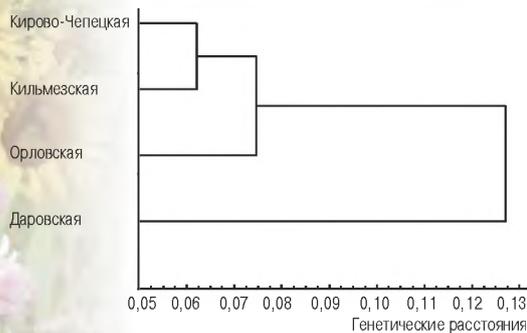
Результаты морфологического обследования частично подтверждают данные молекулярно-генетического анализа Кильмезской, Даровской популяций. Неоднородные показатели получены для Орловской и Кирово-Чепецкой локальных популяций, где по результатам морфометрического анализа стандарту среднерусской породы соответствует только 40–67% пчелиных семей (табл. 3).

3. Соответствие пчелиных семей стандарту среднерусской породы, % семей

Метод исследования	Локальная популяция			
	Орловская	Даровская	Кирово-Чепецкая	Кильмезская
Молекулярно-генетический	100	50	70	100
Морфометрический	67	40	40	100

Неоднородность результатов, полученных разными методами, можно обосновать случайностью и недостаточным объемом выборки при популяционно-генетическом анализе. Следует отметить, что при сравнении результатов популяционно-генетического анализа и данных распределения особей по окраске тергитов оказалось 100%-ное совпадение в проявлении генотипической принадлежности медоносных пчел. Полученные результаты могут предполагать положительную корреляцию фенотипической изменчивости в окраске кутикулы пчел и полиморфизма локусов ДНК.

Для исследуемых групп локальных популяций наибольшая генетическая отдаленность согласно генетическим расстояниям (по М.



Дендрограмма генетических отношений по результатам анализа локуса COI-COII мтДНК и микросателлитных локусов ar243 и 4a110 яДНК

Nei, [6]), рассчитанным по показателям частот аллелей локуса COI-COII мтДНК и микросателлитных локусов ar243 и 4a110 яДНК, установлена для Даровской популяции (рис.).

Даровская локальная популяция по генетическим расстояниям отличается от других популяций в пределах 0,042–0,143, что показывает различия в происхождении сравниваемых популяций. Наибольшее генное разнообразие отмечено также у данной популяции, что является, возможно, результатом интрогрессии генов других пород медоносных пчел. Избыток гетерозиготности в Даровской популяции подтверждается высоким значением наблюдаемой внутрипопуляционной гетерозиготности ($H_o=0,65$) по сравнению со средней ожидаемой гетерозиготностью субпопуляций ($H_s=0,500$) и средней ожидаемой гетерозиготностью всей подразделенной популяции ($H_t=0,495$). Орловская популяция образует единый кластер вместе с Кильмезской и Кирово-Чепецкой локальными популяциями.

По результатам комплексного анализа во всех исследуемых локальных популяциях, кроме Кирово-Чепецкой, наблюдается избыток гетерозиготности, где внутрипопуляционные компоненты генного разнообразия больше межпопуляционных, что характеризует потерю генетической дифференциации и отсутствие генетической изоляции между локальными популяциями.

При расчете коэффициента дифференциации между популяциями, кроме Кильмезской, отмечены значения, близкие к нулю, что свидетельствует о низком уровне генетической дифференциации популяций ($F_{st}=-0,154-0,057$). Только в Кильмезской локальной популяции данный показатель составил $F_{st}=0,202$ при отрицательном коэффициенте инбридинга субпопуляций ($Fit=-0,149$), что является показателем аутбридинга и может свидетельствовать о поддержании биоразнообразия на высоком уровне, в связи с чем данную популя-

цию можно рассматривать как источник поддержания генетического разнообразия медоносных пчел *A. m. mellifera* L.

Следует отметить, что анализ параметров генетического разнообразия всей Кировской популяции медоносной пчелы показал «оптимум» средней гетерозиготности и благоприятную картину по определенным генетическим параметрам в локальных популяциях, в результате чего можно предполагать возможность сохранения выделенных локальных популяций с целью сохранения генофонда аборигенной среднерусской породы.

На основании проведенных исследований можно сказать, что в настоящее время отсутствует единый эффективный метод контроля популяционно-генетического разнообразия, поэтому с целью повышения достоверности результатов следует одновременно использовать все возможные методы, так как только в таком случае будет получена объективная оценка породной принадлежности исследуемой популяции. Необходимо учитывать, что сохранение генофонда и оптимизация его использования зависят от уровня разработки методов контроля и сохранения чистых популяций медоносных пчел.

А.З. БРАНДОРФ, М.М. ИВОЙЛОВА

ГНУ «НИИСХ Северо-Востока Россельхозакадемии»,
г. Киров, e-mail: gordenchuk@mail.ru

**Р.А. ИЛЬЯСОВ, А.В. ПОСКРЯКОВ,
А.Г. НИКОЛЕНКО**

Институт биохимии и генетики
Уфимского научного центра РАН,
e-mail: apismell@hotmail.com

Показаны результаты анализа породной принадлежности семей медоносных пчел на территории Кировской области с использованием популяционно-генетического и фенотипического методов. Установлено, что, несмотря на гибридизацию ~~местных пчел~~ другими породами, выявляются ареалы локальных популяций аборигенной среднерусской породы.

Ключевые слова: медоносные пчелы, порода, генофонд, популяция, полиморфизм, генетические расстояния, морфологические признаки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Столповский Ю.А. Популяционно-генетические основы сохранения ресурсов генофондов domesticированных видов животных: автореф. дис.... д-ра биол. наук. — М., 2010.
2. Ильясов Р.А., Петухов А.В. и др. Локальные популяции *A. mellifera mellifera* L. на ~~Урале~~ // Генетика. — 2007. — Т. 43. — № 6.
3. Колбина Л.М., Ненеявода С.Н. и др. Генетическая дифференциация популяций медоносных пчел (*A. m. mellifera* L.) в Удмуртской Республике // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. — 2001. — № 6.
4. Методы проведения научно-исследовательских работ в пчеловодстве. — Рыбное: НИИП, 2006.
5. Руттнер Ф. ~~Техника~~ разведения и селекционный отбор пчел. — М.: АСТ: Астрель, 2006.
6. *M.Nei* Genetic distance between populations. *Amer. Nature*. — 1972. — 949.