

ОПЫТ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ

При современном уровне межпородной гибридизации традиционные методы определения породности пчел недостаточно эффективны. Это уже было нами показано на основе анализа митохондриальной ДНК (мтДНК). После восстановления в 1997–1998 гг. генофонда пасеки «Капова пещера» (заповедник «Шульган-Таш»), пострадавшей в 1980-е годы от завоза севрор горной кавказской пчелы, до статуса первой племенной пасеки башкирской популяции среднерусской породы медоносных пчел (будущей башкирской породы) выявлено, что 2 пчелиные матки из 57 отобранных имели южное происхождение [3]. В 1999 г. на пасеке совхоза «Михайловский» Дуванского района Республики Башкортостан, получавшей дотацию Минсельхоза РБ по статусу племенной, 64% пчелиных семей морфометрически соответствовали среднерусской породе. Однако анализ мтДНК у 50 семей показал южное происхождение всех без исключения маток [2].

В ближайшее время широкое внедрение в практику племенного пчеловодства молекулярно-генетической диагностики породности неизбежно, методическое отставание от других отраслей сельского хозяйства и так слишком велико. Однако если метод идентификации пород по мтДНК был разработан еще в 1993 г. французскими исследователями под руководством Джин-Мари Корнуэ [5], то методы породной идентификации по ядерной ДНК, необходимые для полноценного анализа, появились лишь в последнее время. Наиболее результативным по аналогии с генетикой человека оказалось использова-

ние микросателлитных локусов. В 2009 г. в Швейцарии были показаны возможности этих маркеров (девять локусов A007, A28, A43, Ac306, Ap33, Ap273, Ap226, Ap289, B24) для идентификации семей темной лесной пчелы и карника, а также для определения долей разных пород при формировании гибридов [6]. Аналогичная работа проделана и коллегами из НИИП (семь локусов A024, A088, HB-THE-03, HB-C16-01, HB-C16-05, AP043, A113) [1].

Наши исследования полиморфизма микросателлитных локусов, проводившиеся с 2006 г., также позволили разработать и внедрить систему диагностики породности медоносной пчелы. Цель представленной работы, выполненной при финансовой поддержке ООО «Кубанский центр медовых технологий», заключалась в молекулярно-генетической сертификации (оценке породности 90 пчелиных семей) племенной пасеки В.О.Кугейко (село Улутеляк Иглинского района РБ), а также в отборе лучших семей для дальнейшей племенной работы и получения высококачественных чистопородных среднерусских маток и пакетов.

По пять пчел из каждой семьи были помещены в спирт и доставлены в лабораторию (16.10.2012). Выделение ДНК проводили из торакса рабочих особей пчел с использованием фенол-хлороформ-гуанидинтиоцианатного метода [4]. Полимеразную цепную реакцию проводили в термоциклере «Терцик» при температурном режиме, включающем 30 циклов. Она состоит из денатурации 94°C (30 с), отжига 55°C (30 с), элонгации 72°C (60 с). Фотодетекцию аллелей ядерных микроса-

Компания ООО «МЕДОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ», г. Уфа

РЕАЛИЗУЕТ в 2013 г.:

☑️ **плодные пчелиные матки среднерусской породы с 25 мая по 31 августа;** ☑️ **плодные пчелиные матки гибрида F_1 (при скрещивании среднерусской породы с породой карника) с 25 апреля по 31 августа;** ☑️ **неплодные пчелиные матки среднерусской породы и неплодные матки гибрида F_1 с 1 апреля по 31 августа.**

В качестве родительских будут использованы пчелиные семьи среднерусской породы с пасеки канд. биол. наук В.О.Кугейко (Иглинский р-н Башкортостана). Семьи были отобраны на основе молекулярно-генетической оценки степени их чистопородности в Институте биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук (проф. А.Г.Николенко).

Обращаться по тел.: (347) 246-65-85; 8-927-33-27-133.

Реклама

СЕРТИФИКАЦИИ ПАСЕКИ

теллитных локусов Ar243, 4a110, A024, A008, A043, A113, A088, Ar049, A028 и локуса COI-COII мтДНК проводили на спектрофотометре «Vilber Lourmat» путем электрофоретического разделения продуктов ПЦР в 8% ПААГ и последующего окрашивания бромистым этидием.

В основу диагностики положен анализ генетической структуры популяций, для чего были получены соответствующие матрицы.

Так, матрицы, полученные для географически удаленных чистопородных популяций, показали высокое сходство: колебания частот наблюдаются в пределах 5–10%, отсутствует фиксация аллелей. Для среднерусской породы наблюдалась почти полная идентичность генетической структуры у бурзянской (Республика Башкортостан), красновишерской, одинцовской (Пермский край), чебоксарской (Республика Чувашия) и завьяловской (Республика Удмуртия) популяций и даже у бернской популяции темной лесной пчелы (кантон Берн, Швейцария).

В то же время матрицы популяций среднерусской породы четко отличаются по своей структуре от аналогичных матриц популяций южных пород. Есть различия, хотя и не столь выраженные, между матрицами карпатской и серой горной кавказской пород. Сравнение генотипа отдельной рабочей пчелы или трутня (точнее нескольких) позволяет идентифицировать породу или рассчитать долю примесей в случае гибридной семьи.

По итогам сертификации 19 семей были отнесены к элитному классу, 28 — показали высокое качество генофонда, еще 22 попали в пределы нормы. Все эти 69 семей соответствовали разработанному нами молекулярно-генетическому стандарту «среднерусская

порода». Для оставшихся семей с разной степенью гибридизации была рекомендована замена матки. Следует обратить внимание, что все пчелиные матки, ранее отобранные пчеловодом, имели среднерусское происхождение по материнской линии (аллель PQQ локуса COI-COII мтДНК).

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

*Институт биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН,
ООО «Кубанский центр медовых технологий»
E-mail: a-nikolenko@yandex.ru*

Приведен опыт молекулярно-генетической сертификации племенной пасеки и отбора лучших семей для дальнейшей племенной работы и получения высококачественных чистопородных среднерусских маток и пчелиных пакетов.

Ключевые слова: молекулярно-генетическая сертификация, среднерусская порода, ДНК, ПЦР, микросателлиты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кривцов Н.И., Зиновьева Н.А., Бородачев А.В., Лебедев В.И., Форнара М.С. Дифференциация основных пород пчел с использованием микросателлитов // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А.Костычева. — Рязань, 2011.
2. Николенко А.Г., Поскряков А.В. Полиморфизм локуса COI-COII митохондриальной ДНК *Apis mellifera* L. на Южном Урале // Генетика. — 2002. — Т. 38. — №4.
3. Николенко А.Г., Сатаров Р.Н., Косарев М.Н., Юмагузин Ф.Г. Состояние генофонда пчелы заповедника «Шульган-Таш» // Генетические аспекты сохранения биологического разнообразия. — Уфа, БГУ, 2000.
4. Chomezynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thio-cyanate-phenol-chloroform extraction // Analytical Biochemistry. — 1987. — V. 162.
5. Garnery L., Solignac M., Celebrano G., Cornuet J.M. A simple test using PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. // Experientia. — 1993. — V. 49.
6. Soland-Reckeweg G., Heckel G., Neumann P., Fluri P., Excoffier L. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera* // Journal of Insect Conservation. — 2009. — V. 13. — N. 3.



В Кубанском госуниверситете (КубГУ) при Институте начального и среднего профессионального образования аккредитовано обучение по специальности «Пчеловодство» с квалификацией «Техник-пчеловод».

Срок обучения 3 года 6 месяцев (с аттестатом об основном образовании). Форма обучения очная.

Вступительные экзамены: русский язык и биология.

Адрес приемной комиссии: 350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149. Тел. 8 (861) 219-95-30.

Адрес Института начального и среднего профессионального образования КубГУ: 350000, г. Краснодар, ул. Мира, д. 29. Тел.: 8 (861) 267-22-80, 267-22-81. Тел. АПИ-лаборатории: 8-918-447-55-87.

Дополнительную информацию вы можете узнать на сайте www.kubsu.ru и тел. 8-918-447-55-87.

Получите перспективную и прибыльную профессию!

Реклама