# Федеральное агентство научных организаций Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт пчеловодства» (ФГБНУ «НИИ пчеловодства»)

НИИ пчеловодства - 85 лет

#### СБОРНИК

### НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ РАБОТ ПО ПЧЕЛОВОДСТВУ

Сборник научно-исследовательских работ по пчеловодству.- Рыбное: ФГБНУ «НИИ пчеловодства», 2016. - 149с.

В сборник вошли работы, доложенные на научно-практической конференции «Современное пчеловодство. Проблемы разведения и селекции», посвященной 85-летию Научно-исследовательского института пчеловодства, 90-летию со дня рождения Г.Д.Билаша, 70-летию со дня рождения Н.И.Кривцова.

Рецензионный совет: В.И.Лебедев, А.В. Бородачев, Л.А.Бурмистрова, М.Н.Харитонова, Я.Л.Шагун

© ФГБНУ «НИИ пчеловодства», 2016

#### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА УРАЛЬСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ТЕМНОЙ ЛЕСНОЙ ПЧЕЛЫ

#### А.Г.Николенко, А.Р.Гатауллин, М.Д.Каскинова, Р.А.Ильясов Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа

Проблема сохранения пород и их биоразнообразия особенно остро ощущается в современном пчеловодстве. В США, после роста потерь пчелиных семей с 15 до 30 % за зимний период в 2005-2008 гг. и последующего короткого затишья, в 2014-2015 гг. было потеряно 40-50 %, причем в 2015 г. потери в 27 % семей пришлись уже на летний период. В России после 30 % потерь за зимовку 2002-2003 гг. официальная статистика до последнего времени не велась. По данным нашего опроса, выполненного в рамках исследований международной научной сети COLOSS, потери пчелиных семей в России за зиму 2014/15 г. составили 20 %. Если учесть, что пчелы в России слабо задействованы в интенсивных процессах, аналогичных опылению миндаля в США или круглогодичному опылению теплиц в Японии, эта величина потерь весьма велика.

На этом фоне активизируются научные исследования и практические мероприятия по сохранению генофонда подвида темная лесная пчела *Apis mellifera* L., обладающего повышенной природной устойчивостью к ряду заболеваний и континентальному климату. В отсутствие существенной государственной поддержки в России основной акцент нашего проекта сделан на выделение сохранившихся локальных популяций этого подвида и создание сети частных племенных пасек для расширенного воспроизводства пчелиных семей и маток. Аналогичный подход реализуется в Германии. В качестве обязательных дополнений разрабатываются четкая внутривидовая систематика, эффективные методы идентификации генофонда и, как программа максимум, изучаются перспективы селекции на миролюбие и другие QTL.

Поиск и идентификация локальных популяций происходит на трех уровнях. На первом собираются и, по возможности, географически локализуются все упоминания о популяциях и экотипах темной лесной пчелы на территории России и СНГ, а также работы систематиков, касающиеся подвидов филогенетической линии М, таких как *Apis daurica* Fischer von Waldheim, 1843; A. m. mellifera natio tesquorum Skorikov, 1929; A. m. acervorum Skorikov, 1929; A. m. silvarum Alpatov, 1935; A. m. taurica Alpatov, 1935 (крымская пчела); A. m. ussuriensis Lawrjochin, 1960

(дальневосточная пчела); *A. m. artemisia* Engel, 1999 (русская степная пчела); *A. m. sossimai* Engel, 1999 (украинская пчела) и т.д.

В качестве второго слоя информации используются все доступные нам точечные генетические оценки подвидовой принадлежности популяций методами морфометрии, электрофореза изоферментов и ДНК-анализа, а также экспертные оценки размеров популяций и их географической идентификации локализации. Помимо популяций ЭТИ данные используются для расчетов генетических расстояний между популяциями и последующего выделения генетических резерватов, построения схем дальнеродственного внутрипородного скрещивания. при сложившейся ситуации фактически все сохранившиеся генетически чистые (чистопородные) популяции приходится рассматривать как генетические резерваты.

В последние годы наблюдается планомерный переход от точечной констатации факта существования популяций К планомерному геногеографическому анализу (Miguel, 2007; Николенко др., 2010). На исследований наших МЫ проводим детальный геногеографический анализ для определения границ и структуры ареалов, генетических факторов, понимания процессов И определяющих стабильность генофондов, поиска оптимальных консервационных стратегий, формирования изолированных или генетически пригодных мест (точков) для облета (естественного осеменения) маток. Параллельно ведутся исследования для создания сети частных, регулярно сертифицируемых племенных пасек, занимающихся расширенным воспроизводством пчелиных семей и маток.

В начале геногеографических исследований нами была проведена оценка информативности ряда микросателлитных локусов. В качестве рабочего набора выбраны локусы Ap243, 4A110, A24, A8, A43, A113, A88, Ap049, и A28. На основе полиморфизма микросателлитных локусов показано, что, во-первых, все выборки из сохранившихся популяций Apis mellifera mellifera имеют характерный и достаточно стабильный спектр частот аллелей исследованных локусов. Во-вторых, этот спектр четко отличается от аналогичных результатов для выборок из популяций Apis mellifera caucasica и Apis mellifera carpatica. На основе полиморфизма микросателлитных локусов и PLOT-анализа разработан метод для количественной оценки степени гибридизации отдельно взятой пчелиной семьи.

Общепринятый в мире диагностический метод рестрикционного анализа (ПЦР-ПДРФ) локуса COI-COII мтДНК с использованием DraI

(Cornuet et al., 1993) не позволил нам найти какой-либо полиморфизм, что подтверждает гипотезу исходного расселения темной лесной пчелы из Западной Европы после последнего ледникового периода. Предполагаемые рефугии существовали на средиземноморском побережье Франции (с меньшей вероятностью в Испании). Низкий уровень рестрикционного полиморфизма мтДНК в бурзянской популяции показал предпочтительность простого ПЦР анализа, разработанного нами ранее.

В ходе анализа нуклеотидной последовательности межгенного локуса COI-COII мтДНК проведен поиск новых митотипов линии М, как потенциальных маркеров для идентификации и дифференциации *Apis mellifera* mellifera. Выявлены новые, ранее не описанные митотипы класса М, которые встречаются только на территории Урала и могут быть использованы в качестве маркеров.

Предварительно определены границы и структура уральской популяционной системы *Apis mellifera mellifera* по ядерной и мтДНК. Наиболее детально проведен геногеографический анализ бурзянской и мишкинской популяций. Полученные результаты позволяют нам утверждать, что реальные биологические популяции медоносной пчелы в России существуют.

периферическая бурзянской Выделены центральная И зоны популяции. Показана высокая генетическая близость бортевых пчел и пасечных пчелиных семей. Как показали наши исследования, общая численность бурзянской популяции составляет не менее чистопородных пчелиных семей. Таким образом, это самая крупная из сохранившихся в мире локальных популяций Apis mellifera mellifera. Ареал популяции не совпадает с границами Бурзянского района, а охватывает горнолесные 30НЫ районов, прилегающих К нему, т.е. занимает значительную площадь, протянувшуюся с севера на юг вдоль горных систем Южного Урала.

Проведен анализ генетических процессов, протекающих на границе центральной и периферийной зон популяции, а также на границе периферийной зоны популяции и гибридной зоны, выделены основные определяющие факторы стабильность генофонда, как так И представляющие угрозу для него. Особенно интенсивно генетические процессы протекают на стыке периферии популяции и гибридной зоны. В первую очередь, это поток генов, который до определенной степени уравновешивается отбором. Важную роль в стабилизации генофонда географическая популяции играют изоляция И трутневый фон (панмиксия), а также социальные факторы.

Вопреки существующей с XIX века парадигме о возможности сохранения генофонда медоносной пчелы исключительно при разведении в форме популяции закрытого типа показана возможность чистопородного сохранения в масштабах локальной популяции без полной изоляции. Этот результат может существенно упростить технологические проблемы, связанные с искусственной изоляцией и последствиями инбридинга.

Новый метод статистического анализа данных позволил нам не только получить точную оцифровку степени чистопородности, но и дал несколько побочных, но очень ценных следствий. Одно из главных - объективная интегральная оценка состояния генофонда в пределах любой площади, т.е. возможность выделить не только районы чистопородного разведения (популяции), но и разделить районы с гибридами как минимум на три категории: зона М (периферийная зона популяции), где наличие гибридов не препятствует чистопородному разведению темной лесной (трутневый фон темной лесной, среднерусской пчелы сохраняется), зона С гибридизация зашла так далеко, что можно без опасения гибридизации с темной лесной пчелой разводить южные породы, зона G - зона активной гибридизации, где продолжается этот процесс, завозить туда любой чистопородный материал бесперспективно без предварительного наведения там порядка.

Полученные результаты свидетельствуют, что любая зона М и С независимо от наличия гибридов пригодна для полноценного облета маток, но только соответствующей породы, т.е. количество потенциальных облетников больше, чем предполагалось. В РБ существуют большие по площади зоны С, т.е. полноценный ареал разведения южных пород, а количество темной лесной пчелы существенно меньше, чем считалось ранее. Размер бурзянской популяции оказался куда меньше, чем нам казалось по результатам предыдущего исследования.

Выявление зон М станет приоритетом наших исследований на ближайшее время. В тех районах России, где предполагается наличие чистопородного материала, мы предлагаем провести бесплатный мониторинг породности: по 5 семей с 4 пасек каждого населенного пункта. О возможности бесплатного анализа породности можно сделать запрос в группе https://vk.com/chestnaya\_pchela или по e-mail: a-nikolenko@yandex.ru.

## ПРОБЛЕМЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ГЕНОФОНДА БАШКИРСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПЧЕЛ

В.О.Кугейко, Р.А.Зарипов