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

НИИ пчеловодства – 85 лет

С Б О Р Н И К

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ РАБОТ ПО ПЧЕЛОВОДСТВУ

Рыбное – 2016

УДК 638.1+615.3

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

Успешная и эффективная реализация всех мероприятий возможна при создании единой государственной племенной службы в пчеловодстве России. Для повышения эффективности работы должна быть создана единая система из учреждений, организаций, специализированных пчелоразведенческих хозяйств, ферм и пасек, выполняющая функции племенной службы в пчеловодстве России.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПЧЕЛИНЫХ СЕМЕЙ БУРЗЯНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

*Р.А.Ильясов, А.В.Поскряков, А.Я.Шарипов**
Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа
*Государственный природный заповедник «Шульган-Таш»**

Сохранившиеся в чистоте популяции среднерусской пчелы (*Apis mellifera mellifera* L.) приобрели особую значимость как ценный генетический ресурс данной географической расы пчел [7]. Если всего 200 лет тому назад эта пчела обитала на огромной территории Европы – от Британских островов до Урала, то в начале XXI века ее чистые локальные популяции сохранились только в виде небольших островков [2, 12].

Среди этих популяций максимально чистопородной считается бурзянская бортевая пчела, обитающая в заповеднике «Шульган-Таш» (Бурзянский район Республики Башкортостан) [8]. При этом местная пчела уникальна тем, что часть семей обитает в искусственных и естественных дуплах деревьев.

В настоящее время для заповедника «Шульган-Таш» стало актуальным проведение селекции местных пчел с учетом генетического потенциала отдельно взятых пчелиных семей. Согласно нашим исследованиям, величинаинтрогрессии южных генов и уровень генетического разнообразия пчелиных семей отражают генетический потенциал отдельно взятой семьи.

Актуальность таких генетических исследований продиктована двумя предпосылками: во-первых, в настоящее время в популяции бурзянской пчелы проявляются следы метизации, интрогрессия южных генов в ней достигает 2 % [3]. Причина общеизвестна – в последние годы местная пчела все больше подвергается давлению южных пчел. Если до 1990-х годов ввоз на сопредельную территорию заповедника пчелиных семей иной породной принадлежности не превышал 1 % от численности семей по Бурзянскому району, то в начале XXI века его можно оценить в 2-3 % [6].

Во-вторых, мы считаем, что ульевые пчелы, живущие длительное время относительно изолированно на пасеках под опекой человека, не могут существовать постоянно в неизменном состоянии. У этих пчел в результате искусственного отбора теряется генетическое разнообразие, накапливается негативный генетический груз. По Р.А. Ильясову, для популяции пчел характерен собственный оптимальный уровень генетического разнообразия: его дефицит приводит к потере экологической пластичности и адаптированности к окружающей среде, а избыток – к потере сбалансированности генома [4].

Цель работы заключалась в изучении генетического потенциала пчелиных семей, выражаемого через величиныинтрогрессии южных генов и генетического разнообразия пчел.

*Материал исследования.*Работа проведена в 2015 г. В исследовании использовано 48 рабочих особей от 12 пчелиных семей. Отобранные от каждой пчелиной семьи по 4 живые пчелы фиксировались в 96 % этаноле и хранились до выделения ДНК при –10 ^{0}С.

Для генетических исследований формированы 4 группы по 3 семьи в каждой (табл. 1): 1 - пчелиные семьи в бортях – условно «бортевые»; 2 - пчелиные семьи в рамочных ульях, у которых пчелиные матки получены от бортевых пчелиных семей, переселенных в рамочные ульи – «пасечно-бортевые»; 3 - пчелиные семьи в рамочных ульях – «пасечные»; 4 - пчелиные семьи в рамочных ульях, переведенные в разряд основных семей из нуклеусов – «нуклеусы».

Методика исследований. Выводы сделаны на основе изучения полиморфизма локусов ДНК: митохондриального (COI-COII) и ядерного (9 микросателлитов – ap243, 4a110, A24, A8, A43, A113, A88, Ap049, A28).

Генетические исследования проводились лабораторией биохимии адаптивности насекомых Института биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН по хоздоговорной теме (договор № 101 от 01.06.15).

*Методика определения величины интрогрессии южных генов.*Величина интрогрессии южных генов определена по митохондральному геному и ядерному геному ДНК. По митохондральному геному методика основана на четких различиях вариантов локуса COI-COII у представителей эволюционных ветвей M (темная лесная пчела) и C (южные пчелы) [5] (рис. 1).

Установлено, что варианты межгенного локуса COI-COII мтДНК PQ, PQQ, PQQQ и PQQQQ встречаются только у темной лесной пчелы, вариант Q – только у южных пчел [11]. Присутствие варианта Q указывает об интрогрессии южных генов.

Уровень интрогрессии южных генов рассчитан на основе данных по полиморфизму 9 микросателлитных локусов ядерного генома ap243, 4a110, A24, A8, A43, A113, A88, Ap049, A28 с использованием программы STRUCTURE 2.3.4 [14].

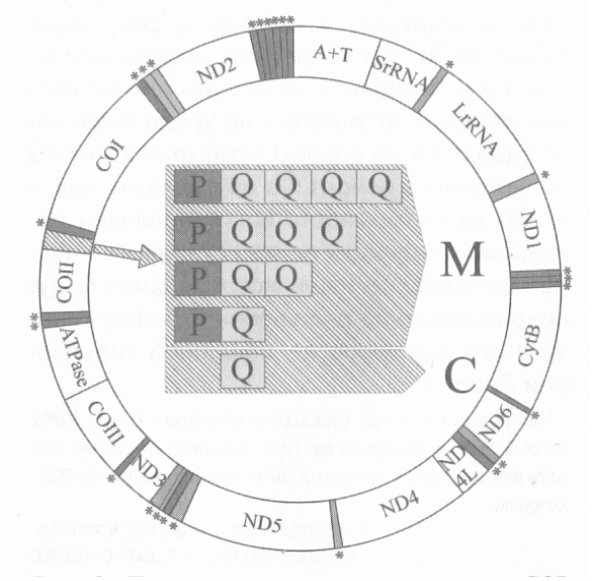

Рис. 1. Локализация межгенного локуса COI-COII мтДНК на кольцевой митохондриальной ДНК медоносной пчелы *A. m. mellifera* и особенности ее внутривидового полиморфизма(* - гены транспортной РНК)

*Методика оценки генетического разнообразия пчел.*По Р.А.Ильясову [4], основу генетического разнообразия пчел составляет гетерозиготность, поэтому оценка величины средней гетерозиготности по локусам ядерной ДНК будет характеризовать уровень генетического разнообразия отдельно взятой пчелиной семьи. В наших исследованиях средняя гетерозиготность пчелиной семьи рассчитана на основе полиморфизма 9 микросателлитных локусов ядерной ДНК.

Основанием такого утверждения является полиандрия – во время брачного полета неплодная матка спаривается не с одним, а с 8-10 и более неродственными трутнями [1]. Это вносит генетическое разнообразие в популяцию рабочих особей пчелиной семьи, то есть в одной семье одновременно присутствует потомство (пчелы) от разных трутней. Данное явление проявляется в виде значительного генетического разнообразия среди рабочих особей семьи.

Обсуждение результатов. Как видно из табл. 1, все рабочие особи пчелиных семей являются носителями варианта PQQ локуса COI-COII – это указывает на их происхождение по материнской линии от маток темной лесной пчелы. Присутствие варианта Q локуса являлось бы показателем южного происхождения семей по материнской линии от южных подвидов *A.m.caucasica, A.m.carnica, A.m.carpatica, A.m.ligustica* [6].

Таблица 1

Частоты аллелей локуса COI-COII, средняя гетерозиготность и уровень интрогрессии генов подвидов эволюционных ветвей M (темная лесная пчела) и C (южные пчелы) в пчелиных семьях, рассчитанные на основе анализа полиморфизма 9 микросателлитных локусов

Группа пчел	Рабочее название пчелиных семей (основа – название пасек и бортей)	Выборка особей	Аллель COI-COII		Ветвь M, %	Ветвь C, %	Средняя гетерозиготность
			PQQ	Q			
бортевые	Борть 1	4	1,00	0,00	100	0	0,23
	Борть 2	4	1,00	0,00	100	0	0,25
	Борть 3	4	1,00	0,00	100	0	0,21
пасечно-бортевые	Куш-Елга-Баш 7	4	1,00	0,00	100	0	0,40
	Куш-Елга-Баш 25	4	1,00	0,00	99,5	0,5	0,25
	Куш-Елга-Баш 29	4	1,00	0,00	99	1	0,21
пасечные	Капова Пещера 15	4	1,00	0,00	99	1	0,25
	Капова Пещера 24	4	1,00	0,00	100	0	0,21
	Капова Пещера 31	4	1,00	0,00	98	2	0,35
нуклеусы	Байсалян 1	4	1,00	0,00	100	0	0,20
	Байсалян 13	4	1,00	0,00	100	0	0,12
	Байсалян 14	4	1,00	0,00	99,5	0,5	0,30

Хотя по митохондриальному геному по полиморфизму локуса COI-COII отобранные семьи пчел охарактеризованы как 100 %-ные темные лесные пчелы, по ядерному геному по полиморфизму 9 микросателлитных локусов нет такого однозначного 100 %-ного результата.

Ядерный геном ДНК показал уровень интрогрессии южных генов в отобранных пчелиных семьях от 0,5 до 2,0 % (Куш-Елга-Баш 25-0,5 %, Куш-Елга-Баш 29-1,0 %, Капова Пещера 15-1,0 %, Капова Пещера 31-1,0 %, Байсалян 14-0,5 %).

Важно отметить, что южные гены выявлены только в пчелиных семьях, живущих в условиях пасечного пчеловодства, а в пчелиных семьях, живущих в условиях бортевого пчеловодства, а также в нуклеусах, вывезенных в лес, нет (исключение составляет Байсалян 14, у которой содержание южных генов составляет 0,5 %.) Факт наличия следов интрогрессии в пасечных пчелах говорит о том, что давлению южных пчел, в первую очередь, подвержены пчелиные семьи, содержащихся в рамочных ульях.

С целью оценки генетических взаимоотношений пчелиных семей рассчитаны генетические дистанции M. Nei (1978) между пчелиными семьями на основе данных полиморфизма 9 микросателлитных локусов. По значениям генетических дистанций построена дендрограмма методом кластеризации ближайшего соседа (Neighbourjoining) (NJ) (рис. 2).

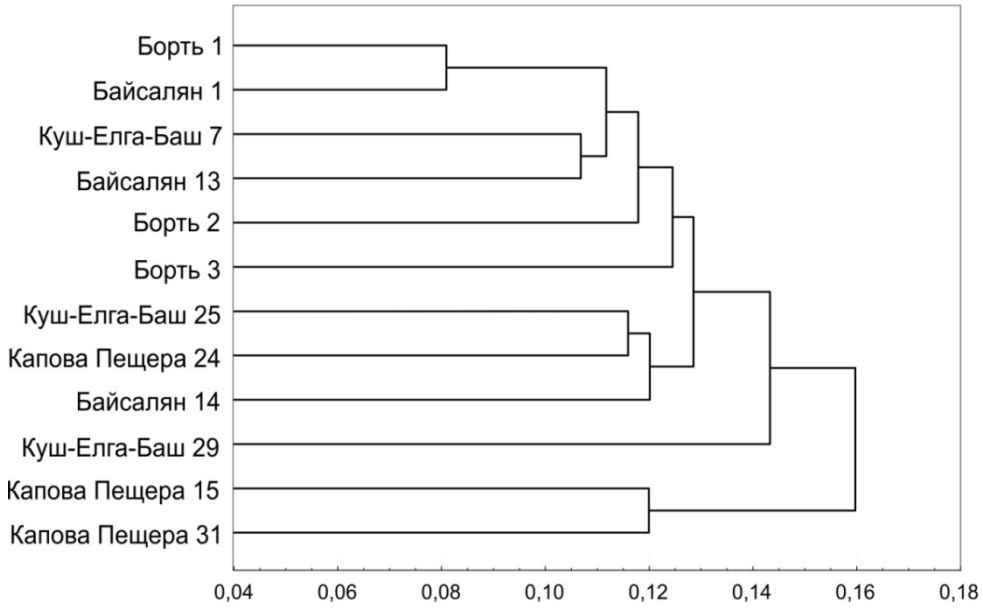

Рис. 2. Дендрограмма генетических взаимоотношений пчелиных семей, построенная методом ближайшего соседа по генетическим расстояниям M. Nei (1978) по результатам анализа полиморфизма 9 микросателлитных локусов ap243, 4a110, A24, A8, A43, A113, A88, Ap049, A28.

Как видно из рис. 2, внутри кластера в первую подгруппу объединились все чистопородные пчелиные семьи – бортевые пчелиные семьи, Байсалян 1 и Байсалян 13 (эти нуклеусы сформированы под влиянием потока генов бортевых трутней), Куш-Елга-Баш 7. Во вторую (Куш-Елга-Баш 25, Куш-Елга-Баш 29, Капова Пещера 24 и Байсалян 14) и третью (Капова Пещера 15, Капова Пещера 31) подгруппы вошли пчелиные семьи, где содержание южных генов соответственно доходило до 1 и 2 %.

Считаем, что такая кластеризация пчелиных семей сформирована под влиянием наличия следов интрогрессии южных генов – в подгруппах наблюдается сближение семей со сходными уровнями интрогрессии. При этом кластерный анализ не смог дифференцировать семью Байсалян 14 со следами интрогрессии в 0,5 % от семьи Капова Пещера 24 с отсутствием интрогрессии. Возможно, что величина интрогрессии в 0,5 % столь мала, что практически не оказала влияния на оценку генетической дистанции.

По нашим данным, средняя гетерозиготность пчелиных семей варьирует от 0,12 до 0,40 (табл. 1). Для сравнения приводим данные

других авторов, которые вели свои исследования на уровне популяций.

Так, средняя гетерозиготность в популяциях *A.m.iberiensis* в Испании составляет 0,43 – 0,47 [9], в популяциях *A.m.ligustica* в Португалии: 0,22 – 0,29 [10], в популяциях *A.m.mellifera* в Швейцарии, Норвегии и Франции: 0,37 – 0,58 [15], в популяциях *A.m.mellifera* в Польше: 0,49 – 0,64 [13], в популяциях *A.m.mellifera* в Башкортостане: 0,32 – 0,41 [5]. Мы можем отметить, что уровень гетерозиготности семей пчел по сравнению с аналогичными данными в популяциях ниже.

В наших исследованиях наибольшей средней гетерозиготностью характеризуются пчелиные семьи Куш-Елга-Баш 7, Куш-Елга-Баш 25 (0,40 и 0,25), Капова Пещера 15, Капова Пещера 31 (0,35 и 0,25), Байсалян 14 (0,30), наименьшей – семьи Байсалян 1 (0,12). Пчелиные семьи, живущие в бортях, имеют среднее значение гетерозиготности от 0,21 до 0,25. Вероятно, что обитание в условиях дикой природы в дуплах деревьев создает благоприятные условия для сохранения пчелиных семей *A.m.mellifera* с оптимальным генетическим разнообразием. Мы считаем, что средний уровень гетерозиготности от 0,21 до 0,25, при отсутствии интрогрессия южных генов, будет оптимальным значением генетического разнообразия (соответственно и генетического потенциала) пчелиных семей бурзянской популяции.

Если взять за основу эти данные, оптимальными для практической селекции являются семьи Капова Пещера 24 и Байсалян 1 (условно - ее средняя гетерозиготность составляет 0,20).

Выводы

1. По митохондриальному геному по полиморфизму локуса COI-COII отобранные пчелиные семьи охарактеризованы как чистопородные семьи пчел.

2. По ядерному геному по полиморфизму 9 микросателлитных локусов ap243, 4a110, A24, A8, A43, A113, A88, Ap049, A28 выявлены следы интрогрессии южных генов от 0,5 до 2,0 %, при этом давлению южных пчел, в первую очередь, подвержены пасечные пчелиные семьи.

3.Средняя гетерозиготность отобранных пчелиных семей варьирует от 0,12 до 0,40, бортевые пчелиные семьи имеют гетерозиготность от 0,21 до 0,25, вероятно, что средняя гетерозиготность бортевых пчелиных семей является оптимальным значением генетического разнообразия пчел.

4. Считаем, что средний уровень гетерозиготности от 0,21 до 0,25 (оптимальное значение генетического разнообразия) при отсутствии интрогрессия южных генов будет оптимальным значением генетического потенциала пчелиных семей бурзянской популяции.

Литература

1. Богомолов, К.В. Инструментальное осеменение пчелиных маток / К.В.Богомолов, А.В.Бородачев // Проблемы и перспективы сохранения генофонда медоносных пчел в современных условиях: матер.междунар. научно-прак. конф. – Киров: НИИСХ Северо-Востока. – 2014. – С. 33-38.

2. Губин, В.А. Столетняя война / В.А.Губин // Пчеловодство. – 2000. – № 3. – С. 49-53.

3. Ильясов, Р.А. Локальные популяции *Apis mellifera mellifera* L. на Урале / Р.А.Ильясов, А.В.Петухов, А.В.Поскряков, А.Г.Николенко // Генетика. – 2007. – Т. 43. – № 2. – С. 19.

4. Ильясов, Р.А. Краткий отчет по теме: «Оценка генетического разнообразия бурзянской популяции темной лесной пчелы (*Apis mellifera mellifera* L.)» / Р.А. Ильясов // Заповедник "Шульган-Таш". – 2015. – 12 с. – /рукопись/.

5. Ильясов, Р.А. Генетические особенности островков популяции темной лесной пчелы на Урале / Р.А. Ильясов, А.В. Поскряков, А.В. Петухов, А.Г. Николенко // Пчеловодство. – 2015. – № 2. – С. 18-20.

6. Косарев, М.Н. Государственному природному заповеднику «Шульган-Таш» – 50 лет: краткая история деятельности, проблемы и перспективы / М.Н. Косарев // Биологическое разнообразие, спелеологические объекты и историко-культурное наследие охраняемых природных территорий Республики Башкортостан: сб. науч. тр. – Уфа: Информреклама, 2008. – С. 12-24.

7. Кривцов, Н.И. Генофонд пчел *Apismelliferamellifera*L. в России / Н.И. Кривцов // Пчеловодство – XXI век. Темная пчела в России: матер.междун. конф. – М.: Пищепромиздат, 2008. – С. 22-27.

8. Кривцов, Н.И. Порода пчел для северных областей России / Н.И. Кривцов // II междун. н.-практ. конф. – М.: ВК «Узорочье». – 2011. – 190 с.

9. De la Rúa, P. Molecular diversity of honeybee Apis mellifera iberica L. (Hymenoptera: Apidae) from Western Andalusia / P. De la Rúa, R. Hernández-García, B.V. Pedersen et al. // Arch. Zootec. – 2004. – V. 53. – P. 195-203.

10. De la Rúa, P. Molecular characterization and population structure of Apis mellifera from Madeira and the Azores / P. De la Rúa, J. Galián, B.V. Pedersen, J. Serrano // Apidologie. – 2006. – V. 37. – P. 699–708.

11. Garnery, L. A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial-DNA to study the genetic-structure of Apis mellifera L. / L. Garnery, M. Solignac, G. Celebrano, J.M.Cornuet // Experiential. – 1993. – V. 49. – P. 1016-1021.

12. Jensen, A.B. Varying degrees of Apis mellifera ligustica introgression in protected populations of the black honeybee, Apis mellifera mellifera, in northwest Europe / A.B. Jensen, K.A. Palmer, J.J. Boomsma, B.V. Pedersen // Molecular Ecology. – 2005. – V. 14. – P. 93-106.

13. Oleksa, A. Nuclear and mitochondrial patterns of introgression into native dark bees (Apis mellifera mellifera) in Poland / A. Oleksa, I. Chybicki, A. Tofilski, J. Burczyk // J. Apic. Res. – 2011.– V. 50. – P. 116–129.

14. Pritchard, J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data / J.K. Pritchard, M. Stephens, P.Donnelly // Genetics. – 2000. – V. 155. – P. 945-959.

15. Soland-Reckeweg, G. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, Apis mellifera / G. Soland-Reckeweg, G. Heckel, P. Neumann et al. // J. Insect Conserv. – 2009. – V. 13. – P. 317-328.