

ОЦЕНКА ЧИСТОПОРОДНОСТИ СЕМЕЙ темной лесной пчелы бурзянской популяции

Проблема сохранения генофонда темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. актуальна и в России, и в странах Европы. Бурзянская популяция — одна из уникальных аборигенных популяций подвида *A. m. mellifera*, находящаяся под охраной Государственного природного заповедника «Шульган-Таш» и занесенная в список охраняемых видов Красной книги Республики Башкортостан [1, 3]. С 1958 г. заповедник «Шульган-Таш» занимается охраной и изучением бурзянской бортовой пчелы. С 1986 г. этой работе стал способствовать Национальный парк «Башкирия», а с 1997 г. — заказник «Алтын Солок» [7]. Несмотря на более низкий региональный законодательный статус, заказник успешно справляется со своей задачей. Это достигается относительной простотой создания этой категории особо охраняемых природных территорий (ООПТ) и маневренности управления, что делает их важнейшим дополнением к заповедникам и национальным паркам. Расширение территории заповедника позволит повысить эффективность сохранения популяции местных пчел, поскольку жизнь их неразрывно связана с сохранением биоразнообразия медоносных ресурсов [7]. В 2012 г. все три перечисленные ООПТ вошли в состав Комплексного биосферного образования «Башкирский Урал», созданного под эгидой ЮНЭСКО.

Для принятия обоснованных решений по сохранению и управлению природной популяцией, в том числе и по вопросу о расширении территории заповедника, необходимо обладать актуальной информацией о ее состоянии. Первые генетические исследования по оценке чистопородности пчел бурзянской популяции начались в 1990-х годах в связи с массовой интродукцией южных подвигов пчел *A. m. caucasica* и *A. m. carpatica* в Республику Башкортостан [6]. Последующие исследования генетического разнообразия бурзянской популяции темной лесной пчелы проводили с привлечением разного числа микросателлитных локусов [2–4].

Цель исследования — оценка чистопородности и селективного преимущества семей

темной лесной пчелы в Бурзянском районе Республики Башкортостан.

Сбор образцов пчел вели в течение лета 2015 г.: из 13 семей Бурзянского района Республики Башкортостан (две семьи из деревни Иргизлы, расположенной на территории Национального парка «Башкирия», восемь — из заказника «Алтын Солок», две из села Старосубхангулово и одна из деревни Киекбаево) (рис. 1) отобрали по четыре рабочие особи. Пчел фиксировали в 96%-ном этаноле и хранили до выделения ДНК при минус 15°C. ДНК выделяли из мышц торакса с использованием набора ДНК-ЭКСТРАН-2 (Синтол, Москва).

Провели анализ полиморфизма локуса COI-COII мтДНК [8] и девяти микросателлитных локусов ar243, 4a110, A24, A8, A43, A113, A88, Ar049, A28 яДНК [9, 10]. ПЦР проводили в термоциклере BIO-RAD T100 (США) в объеме 15 мкл при температуре отжига для всех микросателлитных локусов 55°C и для локуса COI-COII мтДНК при 48°C.

Амплификаты разделяли в 8%-ном полиакриламидном геле с использованием 1%-ного раствора ТВЕ-буфера при окрашивании раствором бромистого этидия. Гели визуализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе Vilber Lourmat (Франция).

Значения уровней интрогрессии «южных» генов подвигов пчел эволюционной ветви С

Рис. 1. Географическое расположение анализируемых семей пчел на территории Бурзянского района (цифрами обозначены номера семей пчел)



(*A. m. caucasica* и *A. m. carpatica*) в семьях пчел эволюционной ветви М (*A. m. mellifera*) по ядерному геному были рассчитаны на основе анализа полиморфизма девяти микросателлитных локусов с использованием программы STRUCTURE 2.3.4. Интрогрессия по митохондриальному геному рассчитана из долей фрагмента Q, характеризующего «южные» подвиды, и фрагмента PQQ, свойственного темной лесной пчеле *A. m. mellifera*.

Генетические дистанции вычисляли по формуле M.Nei (1978) при помощи программы Population ver. 1.2.28 на основе данных о полиморфизме девяти микросателлитных локусов. Дендрограмма построена в программе Statistica 8.0 на основе генетических дистанций методом кластеризации ближайшего соседа.

Анализ полиморфизма локуса COI-COII мтДНК и девяти микросателлитных локусов выявил высокий уровень интрогрессии «южных» генов в

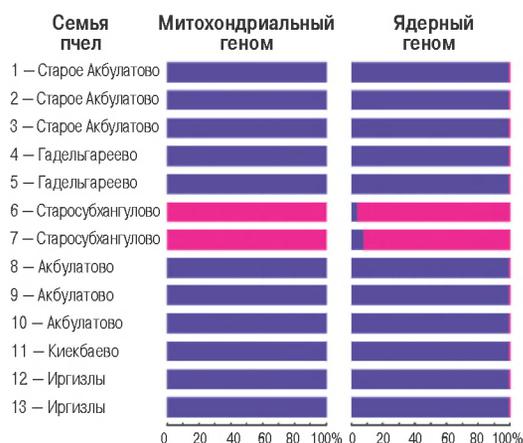


Рис. 2. Уровень интрогрессии «южных» генов в семьях пчел на территории Бурзянского района на основе анализа полиморфизма локуса COI-COII мтДНК и микросателлитных локусов яДНК: ■ — гены *A. m. mellifera*; ■ — гены «южных» подвидов

ядерном и митохондриальном геномах в семьях 6 и 7 из села Старосубхангулово (рис. 2). Вероятно, эти семьи пчел были недавно завезены сюда из южных регионов России.

На основе данных о полиморфизме микросателлитных локусов были рассчитаны показатели генного разнообразия и коэффициенты F-статистики Райта (табл. 1). По значениям коэффициентов инбридинга можно предположить, что бурзянская популяция пчел в целом не испытывает острого дефицита гетерозигот. Пчелиные семьи 6 и 7 из села Старосубхангулово характеризуются наибольшим уровнем наблю-

значения гетерозиготности и коэффициентов инбридинга пчелиных семей на территории Бурзянского района Республики Башкортостан

Семья пчел	Ho	Hs	Ht	Fit	Fis	Fst
1 – Старое Акбулатово	0,22	0,22	0,21	-0,11	0,04	-0,15
2 – Старое Акбулатово	0,16	0,14	0,13	-0,33	-0,20	-0,11
3 – Старое Акбулатово	0,16	0,21	0,19	0,11	0,28	-0,18
4 – Гадельгареево	0,28	0,30	0,28	-0,04	0,12	-0,16
5 – Гадельгареево	0,22	0,26	0,24	0,02	0,18	-0,17
6 – Старосубхангулово	0,33	0,20	0,19	-0,73	-0,65	-0,04
7 – Старосубхангулово	0,39	0,25	0,24	-0,66	-0,56	-0,06
8 – Акбулатово	0,22	0,15	0,14	-0,63	-0,52	-0,06
9 – Акбулатово	0,17	0,21	0,19	0,11	0,28	-0,18
10 – Акбулатово	0,22	0,22	0,21	-0,11	0,04	-0,15
11 – Киекбаево	0,28	0,16	0,15	-0,82	-0,76	-0,03
12 – Иргизлы	0,11	0,09	0,08	-0,33	-0,20	-0,11
13 – Иргизлы	0,11	0,09	0,08	-0,33	-0,20	-0,11
Среднее	0,20	0,17	0,24	0,21	-0,14	0,31

Примечание. Ho – наблюдаемая гетерозиготность; Hs – ожидаемая гетерозиготность внутри субпопуляций; Ht – общая ожидаемая гетерозиготность; Fit – коэффициент инбридинга внутри субпопуляций; Fis – коэффициент инбридинга особи относительно популяции; Fst – коэффициент инбридинга популяции относительно вида.

даемой гетерозиготности. Среднее же значение наблюдаемой гетерозиготности $H_o = 0,20$ сопоставимо с ранее полученным значением для бурзянской популяции пчел $H_o = 0,27$ [5]. Показатель коэффициента инбридинга внутри семей $F_{is} = -0,15$ немного больше по сравнению с ранее полученным для этой популяции: $F_{is} = 0,01$ [5].

В семьях южного происхождения из села Старосубхангулово отмечены самые высокие значения аутбридинга. В семьях 8 (деревня Акбулатово) и 11 (деревня Киекбаево) также наблюдался повышенный уровень аутбридинга, что могло быть следствием скрещивания матки с трутнями из отдаленных местностей Бурзянского района.

Коэффициент подразделенности бурзянской популяции пчел ($F_{st} = 0,31$) немного выше по сравнению с ранее полученной характеристикой ($F_{st} = 0,17$) [5]. Более высокое значение коэффициента подразделенности — показатель большего запаса генетического разнообразия, что положительно влияет на приспособляемость популяции.

На дендрограмме можно наблюдать характер генетических взаимоотношений между анализируемыми пчелиными семьями (рис. 3). Так семьи «южного» происхождения располагаются отдельно от остальных семей пчел и формируют группу I. Группа II чистопородных пчел делится на две подгруппы: в подгруппе II-1 — семьи пчел из деревень Акбулатово, Киекбаево и Ир-

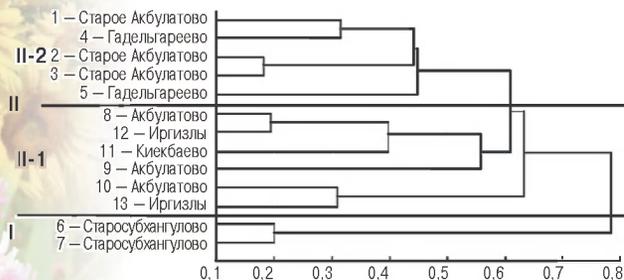


Рис. 3. Дендрограмма генетических взаимоотношений семей пчел на территории Бурзянского района

гизлы, а в подгруппе II-2 — семьи из деревни Старое Акбулатово и деревни Гадельгареево. По всей видимости, причина — в географической близости пасек этих подгрупп.

Для успешного сохранения и развития популяции пчел требуется поддержание высокого уровня генетического разнообразия в пределах чистопородного генофонда. Поэтому для селекции необходимо выявление чистопородных семей темной лесной пчелы с максимальной гетерозиготностью. Так, наиболее перспективными с этой точки зрения можно считать семью 1 из деревни Старое Акбулатово, семьи 4 и 5 из деревни Гадельгареево, семью 10 из деревни Акбулатово. Все они характеризуются наиболее высоким уровнем генетического разнообразия и наиболее низким уровнем интрогрессии генов южных подвидов, а также минимальным отклонением от равновесного распределения генотипов по Харди-Вайнбергу.

В связи с обнаружением в бурзянской популяции темной лесной пчелы завезенных семей «южного» происхождения следует провести ревизию существующих механизмов изоляции и сохранения аборигенного генофонда. Во-первых, необходимо добиться соблюдения закона об особо охраняемых природных территориях и повысить эффективность охраны бурзянских пчел в Национальном парке «Башкирия» и заказнике «Алтын Солок», а также в обязательном порядке вести работу по расширению территории Государственного заповедника «Шульган-Таш». Во-вторых, пристально следить за выполнением мониторинга генофонда бурзянской популяции темной лесной пчелы, что позволит отслеживать изменения генофонда и своевременно предпринимать меры по сохранению и устранению возникающих угроз.

Нарушения структуры генофонда могут возникать и без внешнего генетического воздействия. При недостаточной эффективной численности популяции или интенсивном узколинейном вос-

производстве маток на отдельных крупных пасеках вероятно его вырождение в результате инбридинга, что может привести к ослаблению адаптации, экологической пластичности и снижению численности популяции. Падение эффективной численности популяции до критического уровня, в свою очередь, часто приводит к ее гибели. Таким образом, генетический мониторинг целесообразно проводить как в подверженных гибридизации, так и в чистопородных популяциях темной лесной пчелы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта 14-04-97084 п_поволжье_a.

**М.Д.КАСКИНОВА, ¹Р.А.ИЛЬЯСОВ,
²М.Н.КОСАРЕВ, ¹А.В.ПОСКРЯКОВ,
¹А.Я.ШАРИПОВ, ¹А.Г.НИКОЛЕНКО**

¹Институт биохимии и генетики, г. Уфа,
²Государственный природный биосферный заповедник «Шульган-Таш», д. Иргизлы

Для принятия обоснованных решений по сохранению и управлению природной популяцией медоносной пчелы необходимо обладать актуальной информацией о состоянии ее генофонда. В данной работе проведена оценка генетических показателей пчелиных семей бурзянской популяции темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. на основе анализа полиморфизма локуса COI-COI мтДНК и микросателлитных локусов яДНК. В результате проведенных исследований выявлены две завезенные пчелиные семьи гибридного происхождения в селе Старосубхангулово. Своевременное выявление пчелиных семей гибридного происхождения — обязательное условие сохранения генофонда чистопородных популяций темной лесной пчелы.

Ключевые слова: медоносная пчела *Apis mellifera* L., бурзянская популяция темной лесной пчелы, мониторинг, генетический полиморфизм.

ЛИТЕРАТУРА

- Ильясов Р.А., Косарев М.Н., Юмагузин Ф.Г. Бурзянская бортевая пчела и бортевое пчеловодство на Южном Урале // Пчеловодство. — 2015. — № 7.
- Ильясов Р.А., Петухов А.В., Поскряков А.В., Николенко А.Г. Локальные популяции *Apis mellifera mellifera* L. на Урале // Генетика. — 2007. — Т. 43. — № 6.
- Ильясов Р.А., Петухов А.В., Поскряков А.В., Николенко А.Г. На Урале сохранились резерваты *A. m. mellifera* L. // Пчеловодство. — 2006. — № 2.
- Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Николенко А.Г. Современное состояние и сохранение *Apis mellifera mellifera* L. в России и странах Европы // Пчеловодство. — 2016. — № 1.
- Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Петухов А.В., Николенко А.Г. Анализ состояния генофонда современной популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera* Урала и Поволжья // Биомика. — 2015. — Т. 7. — № 3.
- Николенко А.Г., Поскряков А.В. Полиморфизм локуса COI-COI митохондриальной ДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* на Южном Урале // Генетика. — 2002. — Т. 38. — № 4.
- Юмагузин Ф.Г. К вопросу о расширении территории заповедника «Шульган-Таш» // Вестник ОГУ: — 2009. — № 6.

8. Garnery L., Solignac M., Celebrano G., Cornuet J.-M. A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. // *Experientia*. — 1993. — V. 49.
9. Haberl M., Tautz D. Tri- and tetranucleotide microsatellite loci in honey bees (*Apis mellifera*) — a step towards quantitative genotyping // *Molecular Ecology*. — 1999. — V. 8.
10. Solignac M., Vautrin D., Loiseau A. et al. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome // *Molecular ecology notes*. — 2003. — V. 3.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ: Каскинова Миллауша Дамировна, аспирант лаборатории биохимии адаптивности насекомых, e-mail: kaskinovamilyausha@mail.ru, 8-927-923-17-15; Ильясов Рустем Абузарович, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., e-mail: apismell@hotmail.com, 8-917-461-23-86; Поскряков Александр Витальевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., e-mail: possash@yandex.ru, 8-917-470-62-18; Косарев Михаил Николаевич, канд. с.-х. наук, директор Государственного природного биосферного заповедника «Шульган-Таш», e-mail: mnkos@mail.ru, (34-755)3-37-10, (34-755)3-37-37; Шарипов Аглям Якубович, канд. биол. наук, зам. директора по общим вопросам и пчеловодству Государственного природного биосферного за-

поведника «Шульган-Таш», e-mail: asharipov63@mail.ru, 8 (34-755)3-37-10; 3-37-21; Николенко Алексей Геннадьевич, д-р биол. наук, проф., зав. лабораторией биохимии адаптивности насекомых, e-mail: a-nikolenko@yandex.ru, 8-960-807-58-93.

THE ASSESSMENT OF THE BREED OF THE DARK EUROPEAN BEES COLONIES

FROM THE BURZYAN POPULATION

M.D.Kaskinova, R.A.Ilyasov, M.N.Kosarev,
A.V.Poskryakov, A.Y.Sharipov, A.G.Nikolenko

To make well-grounded decisions on conservation and management of natural populations of honey bee, we need to have the current information about the status of its gene pool. In this study we evaluated genetic parameters of bee colonies of Burzyan dark forest honeybee population of *Apis mellifera mellifera* L. on the basis of polymorphism analysis locus COI-COII mtDNA and nuclear DNA microsatellite loci. The studies of the nuclear and mitochondrial genomes identified two hybrid origin bee colonies. Timely detection of hybrid colonies will increase the chances of genetic conservation of native populations of the dark forest bees. Keywords: honey bee *Apis mellifera* L., Burzyan dark forest honeybee population, monitoring, genetic polymorphism microsatellites.