

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«КРАСНОЯРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЖИВОТНОВОДСТВА»
(ФГБНУ Красноярский НИИЖ)

**СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ ПЧЕЛОВОДСТВА В СИБИРИ**

Материалы региональной научно-практической конференции
(г. Красноярск, 26 марта 2015 года)

Красноярск 2015

ХАРАКТЕРИСТИКА ПЧЕЛОСЕМЕЙ СРЕДНЕРУССКОЙ ПОРОДЫ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ ПО КОМПЛЕКСУ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ

*Н.В. Островерхова, О.Л. Конусова, Ю.Л. Погорелов
НИ ТГУ, г. Томск*

Изучены генетические особенности медоносных пчел среднерусской породы (согласно данным морфометрического и мтДНК-анализа) с использованием 9 микросателлитных локусов A008, A043, A113, A024, Ap049, A081, H110, Ap243 и AC117. Между обследованными пчелосемьями для всех исследованных локусов установлено сходство по спектру аллелей, а также по частоте их регистрации. Обследованные пчелосемьи значительно отличаются по спектру аллелей по всем локусам от медоносных пчел европейских популяций (литературные данные).

В связи с массовой гибридизацией медоносных пчел, наблюдаемой как в России, так и в мире, особенно актуальным является вопрос поиска и сохранения популяций медоносной пчелы среднерусской породы (темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* L.), как наиболее адаптированной к условиям Сибири. Ранее нами было проведено исследование породного состава медоносных пчел на территории Томской области (Островерхова и др., 2015) и других районов Сибири (Красноярский и Алтайский края) с использованием анализа митохондриальной ДНК (мтДНК). Изучен полиморфизм локуса цитохромоксидаза I–цитохромоксидаза II (COI-COII) мтДНК, информативный для определения происхождения медоносных пчел (пчелосемей) по материнской линии (Никоноров и др., 1998). Согласно данным мтДНК-анализа было выявлено несколько пасек, все исследованные пчелы и пчелосемьи которых имели происхождение от среднерусской породы (зарегистрированы варианты RQQ или RQQQ локуса COI-COII). Для уточнения породной принадлежности данные пчелосемьи были исследованы методами морфометрического анализа, который отражает генетические особенности, передающиеся как по линии самок, так и по линии самцов.

Согласно данным морфометрического и мтДНК-анализа, наиболее перспективными для племенной работы пчелосемьями, относя-

шимися к среднерусской породе медоносной пчелы, оказались 2 пчелосемьи (пасека с. Могочино Молчановского района Томской области и пасека п. Якша Енисейского района Красноярского края) (табл. 1). Пасека с. Могочино является интенсивно развивающимся хозяйством, культивируется среднерусская порода, проводится отбор пчелосемей по хозяйственно-полезным признакам. Пасека п. Якша расположена изолированно, на протяжении 30 лет не испытывала влияния других пчел.

Цель настоящей работы – изучить генетическое разнообразие медоносных пчел выявленных семей среднерусской породы с использованием микросателлитных локусов.

Таблица 1 – Результаты морфометрического и мтДНК-анализа пчелосемей среднерусской породы

Географическая локализация		Кол-во исследованных рабочих особей, шт	Вариант локуса COI-COII мтДНК	Кубитальный индекс, усл. ед.			Гантельный индекс, усл. ед.			Дискоидальное смещение, %		
область, край	населенный пункт			Lim	M	sd	Lim	M	sd	-	0	+
Томская область	с.Могочино	43	PQQ	1,36–2,00	1,73	0,181	0,693–0,926	0,821	0,038	100,0	0,00	0,00
Красноярский край	п.Якша	30	PQQ	1,31–1,85	1,59	0,132	0,711–0,846	0,775	0,044	100,0	0,00	0,00
<i>Стандарты среднерусской породы</i>												
	<i>A. m. mellifera</i> **		PQQ, PQQ	1,30–2,10	1,70	–	0,600–0,923	–	–	–	–	–
	<i>A. m. mellifera</i> ***		Q	1,30–1,90	1,5–1,7	–	0,600–0,923	–	–	91–95, 100	5–10	0,00

Примечание. Lim – границы минимального и максимального значения; M – среднее арифметическое значение; sd – стандартное отклонение. ** – стандарт породы по значениям кубитального и гантельного индексов, принятые в Европе (Cauia et al., 2008); *** – стандарт породы, установленные в России (Полищук и др., 1990; Кривцов, 2011). Дискоидальное смещение приводится по стандартам, принятым в России.

Изучен полиморфизм девяти микросателлитных локусов A008, A043, A113, A024, Ap049, A081, H110, Ap243 и AC117 у медоносных пчел двух пчелосемей, для которых установлено соответствие среднерусской породе согласно данным морфометрического и мтДНК-анализа. ПЦР проводили согласно описанной ранее методике с применением специфических праймеров (Solignac et al., 2003). Генотипирование выполняли на базе Центра коллективного пользования ФГБНУ «НИИ медицинской генетики» (г. Томск) на генетическом анализаторе ABI Prism 3730 с применением стандартов длины молекул ДНК GeneScan500-ROX в условиях, рекомендуемых производителем. Анализ размера фрагментов осуществляли с помощью программного обеспечения GeneMapper Software.

Число зарегистрированных аллелей по разным локусам варьировало от 1 до 5 (табл. 2).

Таблица 2 – Характеристика аллельного спектра девяти микросателлитных локусов у медоносных пчел среднерусской породы *Apis mellifera mellifera*

Локус	Размер аллелей, пн	Частоты аллелей в пчелосемьях		Локус	Размер аллелей, пн	Частоты аллелей в пчелосемьях		
		с. Могочино	п. Якша			с. Могочино	п. Якша	
A008	153		0,096	A04	126	0,438	0,750	
	163	1,000	0,904	3	138	0,562	0,250	
A024	95	0,313	0,607	A08	124	0,813	0,857	
	103	0,687	0,393	1	133	0,187	0,143	
H110	162	0,813	0,929	AC1	176		0,100	
	166	0,063	0,071		17	180		0,360
	170	0,125				184	1,000	0,540
A113	212	0,167	0,071	Ap0	126	0,750	0,635	
	218	0,722	0,858		49	129		0,327
	226	0,056				138	0,250	0,019
	232	0,056	0,071			141		0,019
Ap243	255	0,313	0,607					
	262	0,375	0,179					
	268	0,062	0,179					
	271	0,188						
	274	0,062	0,036					

По локусам A008 и AC117 у всех исследованных пчел семьи из с. Могочино выявлены гомозиготные генотипы («163–163», локус A008) и («184–184», локус AC117). У пчел семьи из п. Якша по локусу A008 также преобладал гомозиготный генотип «163–163», частота

аллеля была равна $P_{163}=0,904$, с небольшой частотой встречался аллель «153» ($P_{153}=0,096$); по локусу AC117 частота аллеля «184» составила $P_{184}=0,540$, также выявлены аллели «180» ($P_{180}=0,360$) и «176» ($P_{176}=0,100$).

По локусам A043 и A024 в обеих семьях выявлен одинаковый спектр аллелей, но аллели «126» и «138» локуса A043 и аллели «95» и «103» локуса A024 регистрировались с разной частотой. Тогда как по локусам A081 и H110 наблюдалась сходная картина в обеих пчелосемьях. Так, по локусу A081 преобладал аллель «124» (частота встречаемости выше $P_{124}=0,813$); аллель «133» зарегистрирован с частотой более 0,143. По локусу H110 наиболее часто регистрировался аллель «162» (для пчелосемьи из с. Могочино $P_{162}=0,813$; для семьи из п. Якша $P_{162}=0,929$); аллель «166» встречался с низкой частотой в обеих пчелосемьях ($P_{166}=0,071$). В пчелосемье из с. Могочино также зарегистрирован аллель «170» ($P_{170}=0,125$).

Наибольшее генетическое разнообразие для исследованных пчелосемей показано по локусам A113, Ap243 и Ap049. По локусу A113 у пчел семьи из п. Якша зарегистрировано 3 аллеля размером 212, 218 и 232, среди которых наиболее часто регистрировался аллель «218» ($P_{218}=0,858$) и преобладал гомозиготный генотип «218–218». У пчел семьи с. Могочино также преобладал аллель размером 218 пн ($P_{218}=0,722$), реже встречался аллель «212», а также зарегистрированы аллели «226» и «232» с низкой частотой встречаемости ($P=0,056$). По локусу Ap243 выявлены аллели размером 255, 262, 268, 271 и 274. Однако в семье с пасеки п. Якша преобладал аллель «255» ($P_{255}=0,607$), аллели «262» и «268» зарегистрированы с одинаковой частотой ($P=0,179$), а аллель «271» не выявлен. Тогда как в семье с пасеки с. Могочино аллели «255» и «262» зарегистрированы приблизительно с одинаковой частотой ($P_{255}=0,313$; $P_{262}=0,375$), а аллель «271» – с частотой встречаемости $P_{271}=0,188$. По локусу Ap049 у пчел обеих семей преобладал аллель «126». Однако у пчел семьи из п. Якша выявлен также аллель «129» ($P_{129}=0,327$), который не зарегистрирован у пчел семьи с. Могочино. Тогда как аллель «138», зарегистрированный у пчел семьи с. Могочино с частотой встречаемости $P_{138}=0,250$, в другой семье (п. Якша) встречается редко ($P_{138}=0,019$).

Таким образом, для обеих семей для большинства исследованных локусов установлено сходство как по спектру аллелей (локусы A008, A043, A024, A081, H110, A113), так и по частоте их регистрации (локусы A008, A081, H110, A113). По локусам AC117, Ap049 и

Ar243 зарегистрированы некоторые различия в спектре аллелей и их частоте встречаемости.

В настоящем исследовании анализ полиморфизма по микросателлитным локусам проводился на уровне пчелосемьи, но мы посчитали возможным сопоставить полученные результаты с данными о разнообразии популяций пчел *Apis mellifera mellifera*. Сравнение данных по микросателлитным локусам A008, A043, A113 и A024, полученных в настоящем исследовании для пчелосемей среднерусской породы, обитающих на территории Сибири, с результатами генотипирования пчел *Apis mellifera mellifera*, обитающих на территории Европы (Бельгия, Швеция и Франция (Garnary et al., 1998; Franck et al., 1998) показало значительные отличия в спектре аллелей всех изученных локусов.

Для локуса A008 у пчел *Apis mellifera mellifera* европейских популяций зарегистрировано 12 аллелей размером от 148 до 166 пн. В популяциях Франции, Бельгии и Швеции с высокой частотой встречается аллель размером 148 пн – от 0,727 до 0,960 (кроме популяции Angers, Франция). Более «тяжелые» аллели размером 158–166 пн описаны у пчел *A. m. mellifera* с низкой частотой – от 0,010 до 0,117. В настоящем исследовании у пчел среднерусской породы преобладал аллель «163» (частота встречаемости более 0,900), причем в пчелосемье с пасеки п. Якша все пчелы являются гомозиготными по данному аллелю.

По локусу A024 аллельный спектр также значительно отличается. Для европейских популяций медоносной пчелы *A. m. mellifera* (исследованы только популяции Франции) характерно следующее: у пчел преобладает аллель размером 98 пн, частота встречаемости которого составляет 0,804–0,979. Для пчел пчелосемей, изученных в настоящем исследовании, характерны аллели «95» и «103», тогда как аллель «98» не зарегистрирован.

По локусам A043 и A113 также показаны различные спектры аллелей для пчел разных популяций (Бельгия, Швеция, Франция и Сибирь). Однако преобладающие аллели во всех популяциях имеют близкие размеры: в пчелосемьях Сибири по локусу A043 выявлены аллели «126» и «138», а у европейских пчел – аллели «128» и «141»; по локусу A113 у сибирских пчел преобладает аллель «218», тогда как у европейских пчел – аллель «220». Только аллель «232» (локус A113) выявлен с низкой частотой, как у сибирских, так и у европейских пчел. Возможно, данная ситуация связана с особенностями про-

ведения генотипирования в разных лабораториях и требует дополнительной проверки.

Можно предположить, что на территории Сибири медоносные пчелы *A. m. mellifera* обладают некоторыми генетическими особенностями, возможно, определяющими наилучшую приспособленность пчел к природным условиям региона. Однако для подтверждения данного предположения необходимы дальнейшие исследования популяций медоносной пчелы среднерусской породы на территории Сибири с использованием более широкого круга ДНК-маркеров.

Литература

1. Кривцов, Н.И. Порода для северных областей России / Н.И. Кривцов // Пути развития пчеловодства в России через успешный опыт регионов России, стран СНГ и дальнего зарубежья: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. – 2011. – С. 30-32.

2. Полищук, В.П. Пчеловодство. Справочное пособие / В.П. Полищук, В.П. Пилипенко. – Киев: Выща школа. – 1990. – 312 с.

3. Никоноров, Ю.М. Использование метода ПЦР для контроля чистопородности пчелосемей *Apis mellifera mellifera* L. в условиях южного Урала. Ю.М. Никоноров, Г.В. Беньковская, А.В. Поскряков и др. // Генетика. – 1998. – Т. 34. – № 11. – С. 1574-1577.

4. Островерхова, Н.В. Генетическое разнообразие локуса COI-COII мтДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в Томской области. Н.В. Островерхова, О.Л. Конусова, А.Н. Кучер и др. // Генетика. – 2015. – № 1. – С. 89-100.

5. Cauia, E. Preliminary researches regarding the genetic and morphometric characterization of honeybee (*A. mellifera* L.) from Romania. E. Cauia, D. Usurelu, L.M. Magdalena et al. // Zootehnie și Biotehnologii. – 2008. – V. 41. – № 2. – P. 2783-2786.

6. Franck, P. The origin of west European subspecies of honey bees (*Apis mellifera*): New insights from microsatellite and mitochondrial data. P. Franck, L. Garnery, M. Solignac, J.M. Cornuet // Evolution. – 1998. – V. 52. – № 4. – P. 1119-1134.

7. Garnery, L. Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*). II. Microsatellite loci. L. Garnery, P. Franck, E. Baudry et al. // Genetics Selection and Evolution. – 1998. – V. 30 (Suppl. 1). – P. 49-74.

8. Solignac, M. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) genome. M. Solignac, D. Vautrin, A. Loiseau et al. // Molecular Ecology Notes. – 2003. – Vol. 3. – P. 307-311.