

ВОЗМОЖНОСТИ ПАСПОРТИЗАЦИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПОРОД ПЧЕЛ ПРИ ПОМОЩИ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ (SSR)

Удина И.Г.¹ Калашиников А.Е.,¹ Кривцов Н.И.²

¹ Учреждение Российской Академии наук Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова, Москва

² Государственное научное учреждение Научно-исследовательский институт пчеловодства Российской академии сельскохозяйственных наук, Рязанская обл., г. Рыбное

Электронный адрес: aekalashnikov@vigg.ru

Тел.: (499) 135-42-26

Одной из основных проблем является межпородная гибридизация и сохранение генофондов отечественных популяций пчел (Кривцов Н.И., 2001, 2008; Бородачев А.В., Савушкина Л.Н., 2007; Гранкин Н.Н., 2008). Например, на Западном Приуралье наблюдается значительная метизация с южными породами (Колбина Л.М., Непейвода С.Н., 2009), что приводит к снижению продуктивности, зимостойкости пчел и снижению их устойчивости к болезням и вредителям (Салтыкова Е.С. и др., 2005). Необходимо отметить, что в России ещё сохранились резервы генофонда *Apis mellifera* L., которые можно использовать для восстановления популяции на границах его естественного ареала (Кривцов Н.И., 2008, Колбина Л.М., Непейвода С.Н., 2009).

Интенсивная межпородная гибридизация пчёл и последовавшее за этим снижение их зимостойкости и устойчивости к болезням и вредителям вызвало всплеск исследований в поиске новых адаптогенов. Но существенного эффекта не достигнуто, поскольку простейшие подкормки лишь компенсируют погрешности в технологии содержания пчёл, а высокоэффективные вещества требуют серьёзных исследований, с учётом особенностей иммунитета насекомых, чему уделяется недостаточно внимания (Салтыкова Е.С. и др., 2005).

Также известно, что высокая продуктивность пчелиных семей достигается в результате чистопородного разведения с учётом свойственного каждой породе пчёл комплекса экстерьерных и хозяйственно-полезных признаков (Салтыкова Е.С. и др. 2005, 2007, Кривцов Н.И. 2001, 2008). При использовании современных молекулярно-генетических методов в сочетании с классическими методами наблюдений, - учете гибели, регистрации демографических параметров, обеспечивается возможность более совершенной оценки адаптивного потенциала популяции, обеспечение определения приблизительной доли устойчивых особей. Фенотипические и генотипические особенности устойчивых пчел становятся гарантией сохранения вида в изменяющихся условиях существования, что характерно для биоценозов с нарастающим антропогенным давлением. Для совершенствования селекционно-племенной работы с пчелами требуются новые критерии отбора, помогающие выявить пчел с высокими племенными характеристиками и оценка пчел не только по фенотипическим признакам, но и по генотипу, что обеспечит возможность точной и быстрой идентификации пчел с высоким генетическим потенциалом по признакам продуктивности (Беньковская Г.В. и др., 2007).

Для сохранения биологического разнообразия пчел необходима надежная идентификация вирусных инфекций и исследование разнообразия отечественных популяций пчел с итоговой паспортизацией существующих отечественных пород при помощи анализа мтДНК и микросателлитного анализа (SSR). Микросателлиты пчел имеют ряд преимуществ перед другими маркирующими системами: они множественны, высокополиморфны, широко распространены по всем хромосомам, легко выявляются и идентифицируются. В настоящее время идентифицированы микросателлиты пчел, которые составляют многочисленную группу генетических маркеров удобных для целого ряда исследований, таких как: характеристика генетической структуры популяций и степени инбредности, оценки генетических расстояний между семействами, линиями, породами пчел, а также филогенетических исследований. Применение микросателлитных маркеров пчел даёт возможность определять корреляцию между хозяйственно-полезными признаками и определяющими их генетическими структурами, проводить селекционную работу с линиями, популяциями, породами и семьями, а так же вести отбор пчел с желательными признаками. Для медоносных пчел параметры паспортизации к настоящему времени остаются не разработанными, применение мтДНК-анализа не исчерпывает

всех необходимых возможностей получения информации для селекции и разработка достоверных маркеров является актуальной задачей.

Необходима оценка полиморфизма микросателлитных локусов генома отечественных пород пчел с целью использования статистически достоверных отличий для паспортизации пород в России. Нами впервые проведено генотипирование пород пчел отечественной селекции с использованием ряда микросателлитных маркеров (Solignac M. *et al*, 2007)., определен уровень гетерозиготности микросателлитных последовательностей ДНК и изучена частота встречаемости аллельных вариантов и генотипов в популяциях карпатской породы, среднерусской, кавказской и ряде гибридных популяций – гибр. среднерусская/серая горная.

Обнаружено, что все исследованные породы отличаются по частоте встречаемости аллелей микросателлитных маркеров A24, A88, A14 и A28. При этом для локуса A24 всего обнаружено 5, A88 – 7, а A14 – 8, а A28 - 12 различных аллелей. Показано, что аллели различаются как частотой представленных аллелей, так и их наличием либо отсутствием у конкретных пород. Таким образом, для наименее полиморфного локуса A24 обнаружено, что аллель A24(98 п.н.) присутствует только у кавказской популяции пчел с частотой 0,026, аллель A24(108) только у Карпатской породы с частотой 0,015. A24(96) присутствует у всех рассматриваемых пород, но существенно различается по частоте (от 0,091 до 0,456), а A24(104) имеет более сглаженное отличие (от 0,222 до 0,484).

Локус A88 также содержит аллели, наблюдаемые не у всех рассматриваемых пород. Таким образом, аллель A88(142) наблюдается только у среднерусской (татарской) популяции с частотой 0,044. Аллели A88(146 и 154) обнаружены лишь у карпатской породы с частотами 0,005 и 0,025. Аллель A88(140) не наблюдалась у среднерусской (татарской) популяции пчел, а в остальных случаях частота была в интервале 0,200-0,500. Аллели A88(150 и 144) обнаружены у всех пород с частотами в диапазонах 0,014-0,056 и 0,013-0,941 соответственно.

В локусе A14 аллель A14(244) наблюдалась лишь у пчел среднерусской (татарской) популяции с частотой 0,015, аллели A14(216 и 238) лишь в карпатской породе с частотой 0,010 и 0,005 соответственно. Аллель A14(232) обнаружена у среднерусской популяции и гибридной с частотами от 0,088 до 0,111 и не обнаружена у Карпатской породы и Кавказской популяции. Аллели A14(224, 230, 236, 228) наблюдались у всех рассматриваемых пород с частотами 0,2778-0,636, 0,0151-0,132, 0,005-0,103, 0,328-0,654 соответственно.

Локус A28 оказался наиболее полиморфным. При этом аллели A28(96, 156, 154, 152, 150, 148, 146, 144, 142) обнаружены лишь у пчел Карпатской породы с частотами в диапазоне 0,005-0,05. Аллель A28(132) наблюдалась у всех пород и частоты были в диапазоне от 0,095 до 0,691. Аллель A28(134) не была обнаружена у Среднерусской (татарской) популяции, а для остальных диапазон изменения частот составил от 0,025 до 0,056. Аллель A28(138) наблюдалась у всех представленных пород, и частота ее была в диапазоне от 0,0279 до 0,888.

Показано, что данные породы достоверно отличаются по данным анализа по четырем микросателлитным локусами. Данные локусы пригодны для применения с целью паспортизации пород пчел, но желательно для надежной идентификации пород применять до 6 информативных локусов. Для сохранения генетического разнообразия пчел необходима одновременно, как надежная идентификация вирусных инфекций, так и определение разнообразия отечественных популяций пчел с итоговой паспортизацией пород при помощи как анализа мтДНК, так и микросателлитного анализа.

Работа поддержана грантом РФФИ-офи_ц 08-04-13740-офи_ц.

Литература

1. Н. И. Кривцов, В. И. Лебедев. Перспективы развития отеч. пчеловодства // Зоотехния. 2001. №1. С.25-28.
2. Н.И. Кривцов. Прошлое, настоящее и будущее пчеловодства // Зоотехния. 2008. №1. С.38-40.
3. Бородачев А.В., Савушкина Л.Н. Состояние генофонда среднерусских пчел // Пчеловодство. 2007. №5. С.12-14.
4. Гранкин Н.Н. Тип среднерусских пчел «Орловский» // Пчеловодство. 2008. №4. С.8-9.
5. Solignac M., Mougél F., Vautrin D., Monnerot M., Cornuet J.M. A third-generation microsatellite linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, and its comparison with the sequence-based physical map // Genome Biol. 2007V.8. N.4. P.66.
6. Saltykova E.S., Ben'kovskaya G.V., Gaifullina L.R., Novitskaya O.P., Poskryakov A.V., Nikolenko A.G. Reaction of individual physiological barriers in bacterial infection in different races of the honeybee *Apis mellifera* // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2005. V.41. N.3. P.318-324.

7. Колбина Л.М., Непейвода С.Н. Породный состав пчел Удмуртии // Пчеловодство. 2009. №5. С.6-7.
8. Салтыкова Е.С., Беньковская Г.В., Николенко А.Г. Внутривидовые различия в механизмах формирования защитных процессов у медоносной пчелы *Apis melhfera* // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2007. Т.43. №2. С.162-167.