

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-20

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ *APIS MELLIFERA* НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ*

ANALYSIS OF THE GENETIC STRUCTURE OF THE HONEY BEE *APIS MELLIFERA* ON THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BELARUS

О. И. Добыш, А. И. Царь

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

O. I. Dobysh, A. I. Tsar

Institute of Genetics and Cytology NAS of Belarus, Minsk

✉ o.dobysh@igc.by, a.tsar@igc.by

Аннотация

Для точной идентификации медоносных пчел, принадлежащих к разным эволюционным ветвям, создана референсная выборка на основе анализа микросателлитных маркеров и статистической обработки данных.

Abstract

To accurately identify honey bees belonging to different evolutionary branches, a reference sample was created based on the analysis of microsatellite markers and statistical data processing.

Использование референсной выборки позволяет улучшить точность молекулярно-генетического анализа для установления принадлежности исследуемого объекта.

Объектом исследований служили рабочие пчелы *Apis mellifera*. Выделение ДНК проводили из торакса с помощью коммерческого набора «ДНК-Экстран-2». Анализ полиморфизма микросателлитных повторов ДНК проводили с использованием ПЦР с флуоресцентно-мечеными праймерами [1]. При наличии продукта реакции фрагменты разделяли на приборе ABI3500 Genetic Analyzer. Кластерный анализ проведен программой STRUCTURE 2.3.4 [2]. Количество кластеров (K) находилось в диапазоне от 1 до 10. Для визуализации результатов, их математического подтверждения методами Evanno [3] использована веб-программа STRUCTURE Harvester. По результатам анализа количество кластеров равно четырем (K = 4). Для каждой из исследованных особей в выборке определили вероятность ее принадлежности к какому-либо из предложенных кластеров. Чтобы получить референсную выборку пчел, из анализа исключались все образцы с долей принадлежности к какому-либо кластеру меньше 0,8. Повторно проводился кластерный анализ в программе STRUCTURE 2.3.4 (см. рисунок).

Так как кластерный анализ показал, что все исследованные образцы пчел разделились на 4 кластера, можно предположить наличие четырех генетических популяций пчел в анализируемой коллекции.

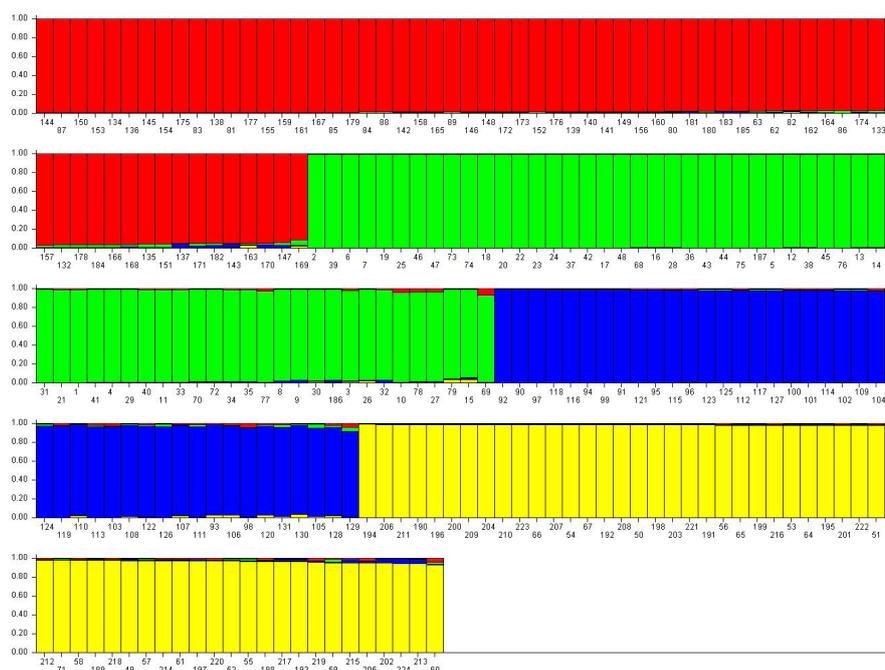
Показатели ожидаемой (H_e) и наблюдаемой (H_o) гетерозиготности, а также их стандартные отклонения (SD) рассчитаны при помощи программы Microsatellite Toolkit и представлены в табл. 1. Значение H_e и H_o схожи, что говорит о том, что система случайного скрещивания преобладает над инбридингом.

Таблица 1

**Показатели ожидаемой (H_e) и наблюдаемой (H_o) гетерозиготности,
их стандартные отклонения (SD) в популяциях**

Популяция	H_e	H_e SD	H_o	H_o SD
Зеленая	0,6782	0,0518	0,6352	0,0218
Желтая	0,7518	0,0386	0,5428	0,0286
Красная	0,7062	0,0514	0,7232	0,0211
Синяя	0,8677	0,0106	0,9360	0,0132

* Исследование выполнено в рамках НИР «Изучение генетического разнообразия популяции аборигенных животных Беларуси».



Структура распределения генотипов медоносной пчелы *Apis mellifera* на территории Республики Беларусь (K = 4)

Уровни генетической структуры популяции вычисляли на основе R-статистики Райта. Филогенетические отношения установлены путем расчета парных генетических расстояний Nei [4] с использованием GenAl-Ex 6.5 [5]. Для уточнения влияния различных факторов на генетическую структуру популяции использовали дополнительные генетические характеристики — коэффициенты инбридинга Райта, по величине которых судили об уровне дифференциации популяций и соотношении процессов интеграции и дезинтеграции на внутри- и межпопуляционном уровнях (табл. 2).

Таблица 2

Значение индексов F-статистики Райта для полиморфных локусов всех исследованных популяций пчел

Локус	Fis	Fit	Fst	Nm
HB-C16-05	0,110	0,226	0,130	1,667
HB-C16-01	0,032	0,111	0,081	2,823
HB-THE-03	0,162	0,261	0,118	1,865
A88	0,222	0,335	0,146	1,466
A113	-0,120	0,029	0,134	1,622
AP043	0,043	0,110	0,069	3,352
A24	0,009	0,172	0,165	1,269
A28a	-0,108	0,004	0,101	2,234

Низкие значения Fis и Fit в популяциях говорят о состоянии, близком к равновесному. Низкие значения Fst показывают, что популяции свободно скрещиваются, отсутствует тенденция к генетической изоляции. Так как Nm принимает значение больше 1, то в популяциях присутствует высокий уровень общих генов, что предотвращает генетическую дифференциацию между популяциями, вызванную дрейфом генов.

Использованный нами подход позволил создать референсную выборку, которую можно использовать в дальнейших исследованиях для точного установления эволюционной принадлежности образцов пчел.

Литература

1. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1973. Vol. 70, No. 12. P. 3321–3323.
2. Earl D.A. Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method // Conservation Genetics Resources. 2012. Vol. 4, No. 2. P. 359–361.

3. Evanno G. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study // *Mol. Ecol.* 2005. Vol. 14, No. 8. P. 2611–2620.
4. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research — an update // *Bioinformatics.* 2012. Vol. 28, No. 19. P. 2537–2539.
5. Pritchard J.K. et al. Inference of population structure using multilocus genotype data // *Genetics.* 2000. Vol. 155, No. 2. P. 945–959.