

ПЧЕЛА МЕДОНОСНАЯ

(*APIS MELLIFERA*) В ГЕНЕТИЧЕСКОМ ПОЛЕ
ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ



МОСКВА 2019

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Биологический факультет

ПЧЕЛА МЕДОНОСНАЯ
(*APIS MELLIFERA*)
В ГЕНЕТИЧЕСКОМ ПОЛЕ
ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ

Товарищество научных изданий КМК
Москва 2019

Пчела медоносная (*Apis mellifera*) в генетическом поле. Эколого-генетические характеристики. Под редакцией М.А. Монаховой. М.: Тов-во науч. изданий КМК. 154 с.

В сборнике собраны материалы по актуальным вопросам генетики, биологии развития и экологии пчелы: приводятся генетические и цитогенетические характеристики генома и кариотипа; обсуждаются вопросы определения пола, женского и мужского партеногенеза, генетической природы роения; рассматривается эпигенетическое репрограммирование генома в онтогенезе. Излагается представление об апимониторинге окружающей среды. Рассматриваются особенности проявления законов Менделя в пчеловодстве. Анализируются причины глобального кризиса в пчеловодстве – коллапса пчелиных семей (КПС) и проблемы сохранения генофонда среднерусской пчелы.

Настоящий сборник может быть рекомендован в качестве дополнительного материала по курсам «Общая генетика», «Генетика животных» и «Генетика пола», а также для студентов-биологов экологических, медицинских, ветеринарных, сельскохозяйственных и других направлений.

Рецензент:

Бородачев А.В. – д.с/х.н, профессор,
зав. отделом селекции НИИ пчеловодства РАН

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

Роль пчелы в поддержании равновесия и биоразнообразия экологической системы и жизнеобеспечения человека. Генофонд медоносной пчелы – национальное богатство России. Необходимость генетических подходов в решении проблемы сохранения генофонда среднерусской пчелы 5

1. Изучение биологии медоносной пчелы в лучших традициях ученых МГУ.

Уроки истории. *Сайфутдинова З.Н.*

Роль ученых МГУ в инициации научных исследований по изучению биологии и экологии медоносной пчелы и их просветительская деятельность в популяризации этих знаний..... 8

2. Особенности биологии развития и размножения. *Сайфутдинова З.Н.*

Пчелиная семья как высокоорганизованный социум. Особенности размножения и полиандрия. Циклы развития рабочих пчел, маток и трутней 19

3. Генетика пола. *Монахова М.А.*

Цитогенетические механизмы определения пола пчелы медоносной и их эволюция (гаплодиплоидный механизм 2n-n и система множественных аллелей генов пола). Молекулярная, функциональная организация и межвидовой полиморфизм секс-локуса. Генетическая природа «пёстрого расплода» 29

4. Партогенез в размножении пчелиной семьи. *Монахова М.А., Сайфутдинова З.Н.*

Цитогенетические механизмы естественного и экспериментального женского партеногенеза. Роль женского и мужского партеногенеза в процессах эволюции и адаптации вида..... 38

5. Генетическая природа роения. *Монахова М.А.*

Общебиологические представления о природе роения как о механизме адаптаций, связанного с увеличением генетического разнообразия и способом выхода из плена гомозиготности. Состояние генотипа матки и изменение экологических условий существования как причины роения..... 44

6. Генотип, фенотип и норма реакции в условиях температурного стресса.

Монахова М.А., Горячева И.И.

Влияние температурного режима улья на проявление нормы реакции фенотипических признаков. Роль температурного стресса в эмбриональной гибели и жизни пчелиной семьи 53

7. Законы Менделя в пчеловодстве. *Сайфутдинова З.Н.*

Особенности проявления законов Менделя в связи с гаплодиплоидным механизмом определения пола. Наследование фенотипических мутаций и мутаций, связанных с поведением (санитарно-гигиеническое поведение) в моногибридном и дигибридном скрещиваниях. Таблица мутаций медоносных пчел 61

8. Геном медоносной пчелы. *Монахова М.А., Горячева И.И., Сайфутдинова З.Н.*

Особенности структурно-функциональной организации генома по материалам меж-

дународного проекта «Геном пчелы». Цитогенетическая характеристика генома. Кариотип и различные способы классификации хромосом. Цитогенетическая нестабильность и эмбриональная полиплоидия кариотипа в онтогенезе 76

9. Кризис в пчеловодстве. Состояние генофонда и генетическая паспортизация *Apis mellifera*. Горячева И.И.

Массовая бесконтрольная межпородная гибридизация как причина разрушения генофонда *Apis mellifera*. Актуальная задача – определение породной принадлежности на основе ДНК паспортизации и создание природных резерватов аборигенных пород ... 90

10. Эпигенетическое репрограммирование генома в онтогенезе медоносной пчелы. Монахова М.А., Акимова Н.И.

Современные представления об эпигенетических механизмах репрограммирования генома. Динамика эпигенетических механизмов репрограммирования генома в ходе индивидуального развития пчелы медоносной. Влияние компонентов маточного молочка на кастовость женских особей 95

11. Экологический апимониторинг. Сайфутдинова З.Н., Монахова М.А.

Использование продуктов пчеловодства (мед, пыльца, перга, прополис, а также тела пчел) в экологическом мониторинге для регистрации солей тяжелых металлов и других генотоксических веществ. Преимущества апимониторинга при сборе материала для изучения экологического состояния неблагополучных территорий. Использование трутневого расплода в качестве тест-системы для обнаружения летальных эмбриональных мутаций 104

12. Коллапс пчелиных семей и вирусная концепция его возникновения.

Кокаева З.Г., Климов Е.А., Королев А.В.

Эколого-генетические причины коллапса пчелиных семей. Использование современных молекулярно-генетических методов в диагностике вирусных заболеваний пчел (ПЦР-анализ). Основные вирусные заболевания, их проявление и распространение 112

13. Биотехнологические методы в сохранении генофонда медоносных пчел.

Сайфутдинова З.Н.

Криоконсервация спермы трутня в жидком азоте, искусственное осеменение маток и культуры клеток как современные методы сохранения генофонда исчезающих аборигенных пород медоносных пчел 127

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Монахова М.А. 138

Основная литература 143

Словарь терминов 149

Сведения об авторах 154

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшими задачами человечества XXI века являются охрана окружающей среды и рациональное природопользование. Антропогенные воздействия на природу достигли таких масштабов, что вызывают необратимые изменения в экологических системах и в биосфере. В связи с этим приоритетным направлением в прикладных и фундаментальных исследованиях становится изучение способов сохранения и восстановления эволюционно сложившихся связей в живых сообществах.

Медоносная пчела играет важную роль в поддержании целостности и равновесия экологической системы. Это осуществляется за счёт опылительной деятельности, результатом которой является сохранение видового разнообразия и численности редких видов в естественных и искусственных биоценозах.

Во второй половине XX века интенсивная хозяйственная деятельность, сопровождающаяся глобальной химизацией сельскохозяйственных производств, привела к катастрофическому снижению численности насекомых-опылителей. Это нарушило фактически всю систему биоценоза, за счёт снижения численности энтомофильных растений, составляющих основу рациона диких животных и птиц, связанных сложными трофическими сетями. Пчела выполняет около 80% всей опылительной работы и только 20% приходится на долю остальных насекомых. Причём многие из диких насекомых-опылителей (бабочки, жуки, клопы, мухи и др.) нередко приносят гораздо больше вреда, чем пользы. Высока роль медоносных пчел как опылителей, существенно повышающих продуктивность лесных и луго-полевых сообществ.

Пчелы как опылители имеют громадное преимущество перед всеми остальными насекомыми: количество рабочих особей в семье медоносной пчелы примерно в 300 раз больше, чем в семье шмелей. Создавая в своих жилищах большие запасы корма, пчелы работают на цветках непрерывно и энергично. При вылетах в поле пчела за день может опылить до 4000 цветков. Летные пчелы одной сильной семьи посещают за день несколько миллионов растений.

Важным аспектом в деятельности пчелы является повышение продуктивности энтомофильных сельскохозяйственных культур. При помощи насекомых опыляются зерновые и кормовые культуры (гречиха, клевер, люцерна), плодово-ягодные (яблони, груши и др.), бахчевые и овощные. При пчелоопылении урожай различных культур повышается в несколько раз. Экономическая эффективность опылительной дея-

тельности пчел значительно (в 5–10 раз) превосходит прямой доход от реализации меда и воска.

Особое значение пчелы связано с жизнеобеспечением человека. Жизнедеятельность пчелы играет важную роль в реализации государственной программы «Здоровье нации», т.к. она является продуцентом целого ряда биологически активных веществ (мед, прополис, перга, маточное молочко, пчелиный яд).

Популяризация знаний о роли пчелы в экологии и жизнеобеспечении человека имеет большое значение при формировании экологического мировоззрения в процессе обучения.

В последнее время особую тревогу вызывает явление массовой гибели пчелиных семей (коллапс пчелиных семей (КПС) – colony collapse disorder (CCD)), которое первоначально было отмечено в США, а затем распространилось на всю Европу. По предварительным подсчетам, показатель смертности семей в начале века на пасеках Российской Федерации в среднем составил 72%. Причины этого явления неоднозначны, среди них рассматривают заражение клещом Варроа, вирусные инфекции, снижение иммунитета под влиянием неблагоприятных экологических факторов (использование гербицидов и пестицидов). К числу генетических причин, связанных со снижением устойчивости, относится массовая неконтролируемая межпородная гибридизация, нарушающая эволюционно сложившиеся адаптационные системы популяции.

Масштабы массовой гибели пчел таковы, что угрожают сохранению уникального генофонда медоносной пчелы, главным образом, среднерусской породы, относящейся к аборигенным породам, повсеместно распространённым в России. Генофонд среднерусской пчелы необходимо рассматривать как национальное богатство России, которое формировалось веками и в настоящее время нуждается в защите. Решение проблемы охраны генофонда среднерусской пчелы напрямую связано с разработкой эколого-генетических подходов. Неслучайно, именно *Apis mellifera* стала третьим представителем насекомых (после плодовой мушки *Drosophila melanogaster* и малярийного комара *Anopheles gambia*), у которого был полностью секвенирован геном. В этой работе принимало участие 90 лабораторий мира. Получение молекулярных характеристик и особенностей генома открывает большие возможности для использования пчелы медоносной в качестве генетического объекта. В отличие от других модельных генетических объектов (*D. melanogaster*, *C. elegans*, *M. musculus* и др.), пчела медоносная является социальным насекомым с чётко выраженной иерархией семейной организации, с гапло-диплоидным механизмом определения

пола и с эпигенетической регуляцией дифференцировки женских особей в направлении развития полового или бесполого потомства. Перечисленные выше особенности дают преимущество пчеле медоносной, т.к. позволяют одновременно изучать явления наследственности на клеточном, организменном и надорганизменном уровнях.

В последнее время особенно перспективным становится использование пчелы для изучения эпигенетических явлений репрограммирования генома в онтогенезе и анализа биохимических механизмов старения. Выходят на новый уровень исследования генетики поведения пчелы (Luco, 2010, Robertson et. al. 2005). Особый интерес представляют опыты по изучению эпигенетических механизмов переключения возрастных моделей поведения, связанных с характером выполняемых работ.

Целью настоящего сборника является привлечение внимания к медоносной пчеле как к объекту эколого-генетических исследований для решения целого ряда теоретических и прикладных задач, в первую очередь, непосредственно связанных с сохранением генофонда и восстановлением численности среднерусской пчелы.

А авторам хотелось бы выразить благодарность коллегам за помощь в подготовке данного учебного пособия, прочтение текста, пожелания и замечания по отдельным главам: Асланяну М.М., Ежовой Т.А., Кокшаровой О.А., Карцеву В.М., а также Тучиной Ю.А. и Пономареву А.С. за ценные советы и консультации.

1. ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИИ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ В ЛУЧШИХ ТРАДИЦИЯХ УЧЕНЫХ МГУ. УРОКИ ИСТОРИИ

Ученые МГУ внесли большой вклад в изучении биологии медоносной пчелы, её роли в экологических процессах и популяризации этих знаний. Измайловская пасека и пасека на Звенигородской биологической станции сыграли значительную роль в подготовке студентов к научным исследованиям и в повышении интереса к медоносной пчеле.

Вторая половина 19-го века – время быстрых преобразований общественной жизни России, это сопровождалось развитием естественно-научных исследований. Одним из выдающихся ученых-зоологов был профессор Московского университета К.Ф. Рулье. Он первым начал читать курс зоологии беспозвоночных, был известным просветителем и выдающимся популяризатором науки, среди объектов в обширный круг его интересов входила и медоносная пчела.



Рулье Карл Францевич (1814–1858) – профессор зоологии Московского университета. Основатель русской школы зоологов, один из первых зоологов-эволюционистов. В 1833 году он окончил Московскую медико-хирургическую академию, а в 1837 году ему (в 23 года!) была присуждена учёная степень доктора медицинских наук. Заведовал кабинетом естественной истории и музеем Московского университета. Учениками К.Ф. Рулье были выдающиеся деятели российской науки профессора А.П. Богданов, Я.А. Борзенков, Н.П. Вагнер, Н.А. Северцев, С.А. Усов.

Рулье уделял особое внимание жизнедеятельности пчёл и проблемам пчеловодства, изобрёл павильонный улей и описал условия содержания пчёл в закрытом помещении. Он написал увлекательнейшую научно-популярную книгу «Три открытия в естественной истории пчелы» (1857). Она до сих пор бережно хранится в библиотеке биологического факультета МГУ. В этой книге Рулье рассказывает о партеногенезе в происхождении трутней, о выяснении пола рабочих пчел и доказанной возможности воспитания матки из молодой личинки рабочей пчелы, наконец, об установлении факта спаривания маток с трутнями. Рулье объединил вокруг себя целую когорту моло-

дых учёных, из среды которых вышли крупные деятели пчеловодной науки.

Известным учеником К.Ф. Рулье был профессор МГУ А.П. Богданов. После смерти К.Ф. Рулье А.П. Богданов становится заведующим кафедрой Зоологии МГУ и директором Общества акклиматизации животных и растений (это общество было создано в 1857 году, первый директор – Рулье К.Ф., ученый секретарь – Богданов А.П.). Долгие годы он был директором Зоологического музея Московского университета. Но прежде всего, А.П. Богданов – профессор Московского университета. «Он говорил, что не знает более высокого поста, чем пост профессора, формирующего будущие поколения» (Шноль, 2012).

Анатолий Петрович Богданов

(1834–1896) – профессор Московского университета (с 1867), зоолог, антрополог, историк зоологии, основатель первых антропологических учреждений в России, популяризатор естественных наук, член-корреспондент Петербургской академии наук. По инициативе Богданова были организованы: Московский зоопарк (1864), Политехническая (1872) и Антропологическая (1879) выставки, положившие начало одноименным музеям в Москве, Императорское общество любителей естествознания, антропологии, этнографии и многое другое. А.П. Богданов являлся членом более 30 различных учёных обществ, как русских, так и иностранных.



Знаменитая Богдановская зоологическая школа МГУ славилась необычной широтой тематики научных исследований, выдвигаемых самой жизнью. Понимая исключительную роль пчелы в природных системах, Богданов А.П. продолжил изучение пчелы, сделав ее объектом зоологического практикума. В Богдановской школе были заложены основы фундаментальных и прикладных исследований в области биологии пчелы и рационального пчеловодства. Профессор А.П. Богданов был великим знатоком энтомофауны, блестяще знал медоносных пчел, заинтересовал многих студентов этими общественными насекомыми на своих лекциях и практических занятиях в зоологической лаборатории. Многие из его учеников стали выдающимися исследова-

дователями и среди них видные ученые пчеловоды с мировым именем Н.В. Насонов, Н.М. Кулагин, Г.А. Кожевников. Они продолжали научную и просветительскую деятельность в области пчеловодства, были достойными учениками своего учителя и в области организации выставок, и впервые в мире устроили плавучую выставку по пчеловодству. Н.В. Насонов вместе с другими активными членами общества акклиматизации арендовали баржу и отправились с выставкой по Оке и Москве-реке в июле 1887 г. Эта была первая передвижная выставка на воде, с целью ознакомления населения с последними достижениями в области пчеловодства, с ролью пчелы медоносной в природе и жизнеобеспечении человека. Передвижная выставка была организована на барже, в которой устроили павильон, где разместили различные пчеловодные принадлежности. Рядом с павильоном под навесом поместили медогонки, воскотопки, ульи всех известных тогда типов, а шесть из них были даже заселены пчелами. По бортам баржи стояли ящики, с высаженными в них медоносными растениями, кустарниками и деревьями.



Николай Викторович Насонов (1855–1939) – профессор зоологии Московского университета, внес значительный вклад в изучение биологии медоносной пчелы. Ему принадлежит свыше 150 научных работ. Н.В. Насонов изучал процесс выделения молочка пчелами, развития кишечного канала личинки пчелы. Он открыл у пчел ароматическую железу, расположенную между последним и предпоследним члениками брюшка, которая была названа пахучей железой Насонова. Он известен в пчеловодстве и своими работами по сравнительному изучению ульев разных конструкций.

Великолепно организованная первая плавучая выставка положила начало новой действенной пропаганде передового опыта в пчеловодстве. Вслед за ней по всей стране стали разъезжать передвижные выставки на плотках, баржах, в железнодорожных вагонах, и даже на телегах. Первая передвижная выставка обратила на себя внимание не только в России, но и в Западной Европе. Вторая передвижная выставка была организована в 1894 году, баржа следовала от Москвы до Калуги по Москве-реке и Оке, продолжалась дольше первой и охватила значительную территорию прибрежных районов.

Иван Алексеевич Каблуков (1857–1942) – профессор МГУ, российский и советский физикохимик. Впервые в России изучил физикохимические свойства мёда, воска, пыльцы и перги. Его первая статья называлась «О воске и его Суррогатах», опубликована в 1885 г., а в 1920 г вышла его монография «Мёд» – одна из лучших работ о мёде. Почётный член АН СССР (1932), создатель школы физикохимиков в России, Герой Труда.



На Всероссийской пчеловодной выставке летом 1889 года были представлены меда из различных регионов страны: Башкирии, Кубани, Костромской и Саратовской губерний, Дальнего Востока и средней Азии. После выставки образцы этих медов были переданы в химическую лабораторию Московского университета, возглавляемую академиком И.А. Каблуковым. Были проведены тысячи анализов русских медов, по результатам которых был сделан вывод, что отечественные меда по качеству не уступают иностранным, а по некоторым важным показателям намного превосходят их.

Активным участником первых передвижных плавучих выставок пчеловодства был ещё один ученик А.П. Богданова – Н.М. Кулагин. Он вместе с профессором И.А. Каблуковым разрабатывал программу лекций, докладов и учебных занятий, принимал в её работе самое активное участие, за что был отмечен Малым жетоном Общества акклиматизации. В начале июля 1896 года в Московском зоологическом саду состоялось открытие Третьей передвижной выставки пчеловодства, которую возглавил профессор Н.М. Кулагин.



Николай Михайлович Кулагин (1860–1940) – российский и советский зоолог, апиолог и пчеловод. Академик, профессор МГУ и Сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева (с 1894), Член-корреспондент Петербургской АН (с 1913; РАН – с 1917; АН СССР – с 1925), руководитель Комитета по охране памятников природы при Наркомпросе РСФСР (1919–1923). Автор более 300 научных работ. Основные труды по пчеловодству и методам борьбы с насекомыми – вредителями сельскохозяйственных культур, эволюции животного мира, размножению и наследственности.

Н.М. Кулагин был первым заведующим кафедрой энтомологии биологического факультета университета с 1925 по 1940 год. Его работы были посвящены вопросам пчеловодства, интерес к которому он сохранил в течение всей своей жизни, а традиция в изучении биологии пчелы передавалась следующим поколениям ученых и сохранилась по сей день. Основные труды Н.М. Кулагина по пчеловодству: «Кормление пчел. Чем питаются пчелы, и чем, когда и как нужно кормить пчел» (1925), «Уборка пчел на зиму» (1931).

Большую роль в учебной и просветительской деятельности по пчеловодству сыграла Измайловская пасека, родоначальником которой надо считать царя Алексея Михайловича Романова (1629–1676). В 1864 году на заседании Императорского Русского Общества акклиматизации животных и растений, по предложению директора А.П. Богданова, прозвучала идея возрождения Измайловской пасеки как «образцового пчельника». Организаторы этого «образцового пчельника», а среди них было много ученых МГУ, проводили в Измайлове серьезные исследования в области биологии пчелы, занимались подготовкой профессиональных кадров и развернули широкую просветительскую деятельность среди пчеловодов-любителей. В результате их работа получила широкое признание и в 1900 году Измайловская Опытная пасека была удостоена Гран-при на Всемирной выставке в Париже.

Фонды музея Измайловской пасеки пополнялись экспонатами плавающих выставок. Первый «научный» музей занимал просторное деревянное здание с большими окнами. Внутри вдоль стен располагалась коллекция ульев, подобранных так, «чтобы ясно и наглядно можно было показать, и объяснить историческое развитие устройства ульев, начиная с колоды». Стены музея украшали портреты самых знаменитых пчеловодов, русских и зарубежных. На самом почетном месте – портрет родоначальника Измайловской пасеки — царя Алексея Михайловича. И, конечно, в музее обширно демонстрировались необходимые в пчеловодстве инструменты, инвентарь, начиная от «шляпы с тюлевой сеткой» до «паровой воскотопки».

Измайловская первая учебная пасека долгие годы являлась основной научно-практической школой для пчеловодов всей страны, а для студентов МГУ полигоном для их первых научных исследований. С 1910 по 1920 год Измайловской опытной пасекой заведовал выдающийся ученый, ученик А.П. Богданова Г.А. Кожевников. По словам самого Кожевникова, эта пасека являлась его вторым университетом, где он преподавал на пчеловодных курсах ботанику, а в 1918 году – химию мёда и воска, и технику пчеловодства.

Григорий Александрович Кожевников (1866–1933) – профессор Московского университета, российский и советский энтомолог, географ, охотовед, эколог, специалист в области биологической эволюции, основоположник заповедного дела России, первый председатель Всероссийского общества охраны природы. По мнению зарубежных ученых: «Сегодня ретроспективно мы можем видеть, что Кожевников нащупывал путь к величайшей в XX веке революции в биологии: синтезу экологии, генетики и эволюционной теории» (цит. по Шаборшову, 2002).



Хотя широкая общественность больше знала Кожевникова как защитника природы, директора Зоологического музея, охотоведа, зоогеографа, который впервые ввёл в Московском университете курс зоогеографии, основным направлением исследований Г.А. Кожевникова было изучение домашней пчелы и явлений полиморфизма у общественных насекомых. Работы Г.А. Кожевникова по эволюции медоносных пчел и их инстинктах продолжают оставаться актуальными и в наше время. Им выполнены и опубликованы такие крупные работы, как «Строение органов размножения трутня», «Свойства различных пород пчел», «Жизнь пчел», «Анатомические исследования роевых и свищевых маток», «Материалы по естественной истории пчелы», «Значение температуры окружающего пчел воздуха для их жизни и температуры самих пчел», «О полиморфизме у пчелы и других насекомых», «К вопросу об инстинктах», «Биология пчелиной семьи». Г.А. Кожевников открыл переходные формы между маткой и рабочей пчелой. Кроме научных работ, Кожевников опубликовал большое количество научно-популярных книг и статей, из которых особенной известностью пользуются «Как живут и работают пчелы» (1929) и «Естественная история пчелы» (1931). Он являлся постоянным активным участником различных пчеловодных съездов, собраний, конференций.

Студент Московского сельскохозяйственного института Николай Вавилов был потрясён лекцией «Будущее человека», прочитанной Кожевниковым в Политехническом музее в 1909 году. «Глубокоуважаемый профессор! Прослушав Вашу лекцию, я был поражен той

перспективой будущего, которую Вы изобразили. Я понял из Вашей лекции, в каком хаосе познания бродили мы... – Явилось сильное желание... выяснить себе, как жить сообразно требованиям биологии, захотелось разобраться в вопросах о вырождении человечества. Общее естествознание, проходимое нами в высшей школе, почти не дает ответа на затронутые Вашей лекцией вопросы». Профессор Г.А. Кожевников подробно ответил студенту, и вскоре получил от него письменную благодарность за помощь и советы «от себя и от лица товарищей по самообразованию».

Особенно поражали педагогические способности профессора Г.А. Кожевникова, умение увлекать учеников делом своей жизни – изучением биологии медоносной пчелы. Значимость ученого можно определить по количеству известных его учеников, у Кожевникова их много. Под руководством профессора Г.А. Кожевникова вырос талантливый организатор исследований по пчеловодству **Ф.А. Тюнин (1891–1960)**. В 1919 г. он создал Тульскую опытную станцию по пчеловодству, а в 1930 г. организовал Научно-исследовательский институт пчеловодства. **Л.И. Перепелова (1896–1991)** на биологическом отделении Московского университета под руководством профессора Г.А. Кожевникова успешно защитила дипломную работу по морфологии яичников рабочих пчел. В 1926 г. она впервые в нашей стране обнаружила акарапидоз у пчел. **П.М. Комаров (1890–1968)** выдающийся русский биолог, обогативший науку своими исследованиями по физиологии медоносных пчел, селекции и матководству. Он также учился в Московском университете на биологическом отделении физико-математического факультета по специальности энтомология у профессора Г.А. Кожевникова. Так молодое поколение ученых продолжало традиции ученых МГУ и, пользуясь полученной научной базой, практическими исследовательскими навыками и достижениями научно-технического прогресса, вели актуальные разработки по важнейшим проблемам пчеловодной отрасли.

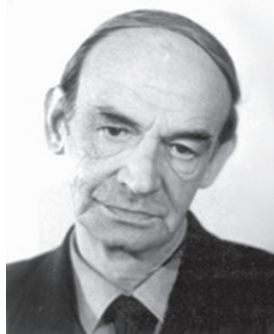
После создания биологического факультета МГУ в 1930 г. по совету Г.А. Кожевникова практические работы на медоносной пчеле продолжались на базе Звенигородской биостанции (ЗБС) МГУ. После войны, в начале пятидесятых годов на Верхних дачах была открыта лаборатория пчеловодства, для которой был построен специальный деревянный дом с подвалом для зимовки 50-ти пчелиных семей. В те годы велико было значение пасеки ЗБС в научно-исследовательской работе студентов и на летних практиках. В это время появляется возможность изучения зрительного поведения и ориентации пчел. Это направление связано с именем профессора кафедры энтомологии Г.А.

Мазохин-Поршнякова. Г.А. Мазохин-Поршняков, крупнейший в СССР и России специалист по зрению и поведению насекомых, занимался и поведением пчел. Им впервые в мировой науке изучены механизмы опознания пчелами окраски и формы, открыта их способность к визуальному обобщению. Его основные работы «Зрение насекомых», «Руководство по физиологии органов чувств насекомых», «Руководство к большому практикуму по энтомологии» (редакция и отдельные главы).

Георгий Александрович Мазохин-Поршняков (1924–1998) – советский и российский энтомолог, доктор биологических наук, профессор, лауреат Государственной премии СССР (1987), основатель нового в России биофизического направления в энтомологии, глава школы по изучению биофизики и физиологии органов чувств насекомых. Участник Великой Отечественной войны с 1941 г.



Старший научный сотрудник кафедры энтомологии Ланге А.Б. изучал жизненный цикл опасного для пчел паразита клеща варроа (*Varroa jacobsoni*), его работы в этой области стали классическими и широко цитируемы. А.Б. Ланге предпринял ряд важнейших исследований по популяционной биологии этого серьезнейшего вредителя пчел, которые до настоящего времени сохраняют свою актуальность в связи массовой гибелью пчел (коллапс пчелиных семей), наблюдаемой по всем континентам.



Б.Н. Ланге (1888–1969). В 1944 году окончил Московский государственный университет по кафедре энтомологии, специализируясь по группе членистоногих — клещам. Получил известность как автор раздела Хелицеровые в популярной книге «Жизнь животных» (3 т.), в Большой советской энциклопедии и Большой медицинской энциклопедии.

Заведующий кафедрой генетики и селекции А.С. Серебровский в сложные годы для генетической науки принял руководство докторской

диссертации Г.А. Аветисяна, посвященной генетике и селекции медоносной пчелы. Впоследствии Г.А. Аветисян становится заведующим кафедрой пчеловодства в ТСХА. В 1931–1935 гг. профессор А.С. Серебровский был заведующим генетической лаборатории Всесоюзного института животноводства, где наряду с другими объектами велись исследования и на пчеле. В своей книге «Гибридизация животных», изданной в 1935 году, он относит пчелу медоносную к числу главных сельскохозяйственных объектов и отмечает, «что богатейшие ресурсы этого семейства ещё совершенно недостаточно использованы человеком» и что «мощное оружие искусственного осеменения пришло уже и сюда».



Александр Сергеевич Серебровский (1892–1948) – советский генетик, член-корреспондент АН СССР (1933), академик ВАСХНИЛ (1935). С 1930 года и до конца своей жизни заведующий основанной им кафедрой генетики на биологическом факультете МГУ. Основные работы в области генетики животных, теории гена, генетики популяций. На рубеже 1920–1930-х годов выдвинул ряд важных теоретических положений: сформулировал гипотезу о делимости гена, ввел понятие генофонда популяции и заложил основы геногеографии.

Традиции ученых МГУ в исследовании биологии пчелы продолжались. Проф. кафедры зоологии беспозвоночных МГУ В.В. Алпатов, посвятил свои исследования изучению различных подвидов медоносной пчелы на территории СССР. В.В. Алпатов, будучи ближайшим учеником Кожевникова, унаследовал от него интерес к изучению медоносной пчелы. Исследования Алпатова внутривидовой изменчивости медоносной пчелы принесли ему мировую известность. Разработанную им классическую методику биометрического изучения экстерьерных особенностей пород пчёл, широко применяли в СССР и во многих зарубежных странах. Многолетние исследования Алпатова по межпородным различиям пчёл обобщены им в книге «Породы медоносной пчелы» (1948), не потерявшей своего значения до настоящего времени. Этим вопросам посвящены также свыше 53 его печатных работ. Он первым предсказал необходимость районирования пород пчёл в стране. За заслуги в изучении медоносных пчёл Международная Фе-

дерация пчеловодных объединений «Апимондия» избрала Алпатова своим почётным членом.



Владимир Владимирович Алпатов (1898–1979) – апиолог, доктор биологических наук, профессор МГУ. Владея несколькими иностранными языками, Алпатов систематически знакомил советских пчеловодов с достижениями зарубежного пчеловодства. В начале 60-х годов он участвовал в организации Института научной информации АН СССР. С 1964 года, после восстановления в правах генетики как науки, Алпатов читал на биологическом факультете МГУ курс лекций под названием «Введение в теорию информации». Являлся председателем секции

пчеловодства Всероссийского общества охраны природы. Автор более 370 научных работ, из них около 200 посвящено селекции пчел.

Ученик профессора В.В. Алпатова Ф.А. Лаврехин читал на биологическом факультете МГУ лекционный курс и вел практикум «Биология медоносной пчелы», был одним из руководителей учебно-научной пасеки на Звенигородской биостанции. Таким образом, с самого начала создания биологического факультета МГУ медоносная пчела занимала достойное место в научно-исследовательских работах, учебных занятиях и летних практиках на ЗБС. В настоящее время в связи с кризисом в пчеловодстве, вызванным ухудшением экологической обстановки и массовой гибелью пчел (коллапс пчелиных семей КПС), пчела медоносная нуждается в защите. Учитывая особую роль пчелы в поддержании экологического равновесия и в жизнеобеспечении человека, изучение эколого-генетических процессов жизнедеятельности медоносной пчелы должно занять достойное место в научно-исследовательских и учебных программах биологов всех направлений.



а



б



в



г

История и современность в фотографиях: царская пасека (а, в) и звенигородская биостанция МГУ (б, г, г). Доцент М.А. Монахова со студентами кафедры генетики на летней практике – знакомство с биологией медоносной пчелы (ЗБС, 2008, фото Кокаевой З.Г.), (а – <http://vaostory.ru/images/photos/18cd782c6861b4eaad8c28c2cbd28a9d.jpg>, б – https://pastvu.com/_p/d/2/q/j/2qj1ddb2tm67whr6pi.jpg, в – <http://www.foto-fokus.su/wp-content/gallery/137/DSCF1139p.jpg>).

2. ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ И РАЗМНОЖЕНИЯ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ

Пчелиная семья – высокоорганизованный социум с четким кастовым разделением на половые и бесполое женские особи. Особенностью размножения пчелы медоносной является полиандрия – спаривание матки с несколькими трутнями, и гаплодиплоидный механизм определения пола. Рассмотрены циклы развития рабочих пчел, маток и трутней. Показана роль маточного молочка в эпигенетических механизмах формирования кастовости.

Пчела медоносная (*Apis mellifera*, $2n=32$) относится к классу насекомых (*Insecta*), отряду перепончатокрылых (*Hymenoptera*), семейству апиды (*Apidae*) роду настоящие пчелы, в который входят еще три вида: большая индийская пчела (*Apis dorsata*, $2n=16$), малая индийская пчела (*Apis florea*, $2n=16$), средняя индийская пчела (*Apis cerana*, $2n=32$).

Пчела медоносная является общественным насекомым, её жизнь протекает исключительно в составе семьи. Пчелиная семья – это организованное сообщество генетически и функционально взаимосвязанных между собой организмов. Все особи одного улья в количестве от 20 до 80 тысяч представляют собой социум, отличительной особенностью структуры которой является морфофункциональный полиморфизм. Особи пчелиного социума выполняют различные специфические функции и не могут существовать друг без друга. Пчелиная семья, как целостная система, соответствует пяти основным критериям организованного сообщества (по Эйзенбергу, 1965): разделение труда, основанное на специализации, сложная система коммуникации, когезия – стремление членов сообщества держаться вместе, постоянство состава сообщества и затрудненный доступ в жилище для особей другой семьи того же вида. Основное свойство пчелиной семьи – это разделение труда между его членами.

Структура пчелиного социума. Полиморфизм пчелиной семьи характеризуется наличием трех видов особей, обеспечивающих их взаимное существование: а) пчелиная матка; б) трутни; в) рабочие пчелы (рис. 2.1). Матка и трутни выполняют функции, связанные исключительно с процессом размножения. Рабочие пчелы участвуют в обеспечении всех остальных многочисленных функций, связанных с жизнеобеспечением пчелиной семьи (сбор нектара и пыльцы, переработка их в мед и пергу, выделение воска, строительство и чистка сотов, кормление и воспитание личинок, уборка улья, защита пчелиной семьи от врагов и вредителей, поддержание теплового режима, санитарно-гигиенических условий и др.).

Матка – это единственная полноценная женская особь пчелиной семьи с развитыми половыми органами (яичниками), главная её функция, связанная с размножением пчелиной семьи – откладывание яиц. Никаких других работ в улье она не выполняет. Матка выделяется среди рабочих пчёл более крупными размерами тела – от 18 до 25 мм (рабочие пчёлы – от 12 до 15 мм) – и сравнительно короткими крыльями по отношению к длине тела. По сравнению с рабочими пчёлами хоботок у матки короче. Она, как и рабочие пчёлы, имеет жало, но использует его лишь в борьбе с другими матками.



Рис. 2.1. Особи пчелиной семьи. Слева направо: трутень, пчелиная матка, рабочая пчела (<https://web-selo.ru/wp-content/uploads/2018/04/trutni-rabochie-pchely-samka.jpg>).

Так как назначение матки – продолжение рода, и она является основой пчелиной семьи, органы размножения у пчелиной матки сильно развиты. Яичники состоят из 180–200 яйцевых трубочек; в них формируются и развиваются яйца. Плодная матка может откладывать от 1500 до 2500 яиц в сутки на протяжении всей своей жизни, которая по пчелиным меркам достаточно долгая и может достигать 5–7 лет.

Отличительной генетической особенностью размножения у медоносных пчел является полиандрия, т.е. в процессе осеменения матки может участвовать около 10–15 трутней. Полиандрия у медоносных пчел открыта и детально изучена отечественным исследователем – Викторией Владимировной Тряско в 1951–1956 гг. Спаривание пчелиной матки происходит один раз в её жизни и осуществляется в полете (рис. 2.2) При этом происходит только осеменение матки, оплодотворение (слияние яйцеклетки со сперматозоидом) регулируется самой маткой в момент откладки яиц. В дальнейшем плодная матка может откладывать как оплодотворённые, так и неоплодотворённые яйца. При



Рис. 2.2. Брачный полет трутня (справа), момент спаривания матки с трутнем (слева) (https://trendxmexico.com/images/novosti-i-obshestvo/truten-eto-samec-pcheli_5.jpg, http://itd1.mycdn.me/image?id=849172135018&t=20&plc=WEB&tkn=*bb8yx0NE7SOlhFu0faEKakzkw1Q).

её осеменении сперма трутней, попадает в семяприемник (в среднем около 5-ти млн. сперматозоидов), где хранится в течение всей жизни матки. Созревшие яйца поступают из яичников сначала в парные, а затем – в непарный яйцевод. Из неоплодотворённых яиц развиваются только самцы-трутни, которые наследуют лишь признаки матери, а по генотипу аналогичны генотипу её гамет. Из оплодотворённых яиц развиваются пчелиные матки и рабочие пчёлы. Они наследуют свойства и маток, отложивших яйца, и трутней, с которыми эти матки спаривались.

Трутни – мужские особи пчелиной семьи, главное назначение которых осеменение матки. Так как спаривание с пчелиной маткой происходит на лету, вся конституция их тела приспособлена к выполнению этой функции. Трутни имеют крупное тело, мощно развитые мускулатуру и крылья, что позволяет им развивать скорость полета до 60 км в час. Большие фасеточные глаза помогают хорошо ориентироваться в процессе брачного полета. Трутни не имеют жала, поэтому, несмотря на их большие размеры (длина тела 15–17 мм и вес около 0,2 г.), абсолютно беззащитны. Они не могут обеспечивать себя кормом вне улья. На выкармливание личинки трутня пчёлы расходуют в три раза больше кормов, чем на вскармливание личинки рабочей пчелы.

К середине лета в период бурного размножения семьи количество трутней может достигать нескольких сотен, но они временные обитатели пчелиной семьи. Часть трутней заканчивает своё существование во время брачных вылетов, сразу после акта спаривания трутень погибает. Основная же их масса, не участвующая в спаривании, погибает в конце лета, после завершения периода размножения, так как изго-

няется из улья. Долгое время считалось, что единственной функцией трутней является осеменение матки, поэтому пчеловоды массово истребляли трутневый расплод в ульях, в целях экономии меда. Однако, выяснилось, что массовое вырезание трутневого расплода приводит к снижению общей продуктивности даже самых сильных пчелиных семей. Обнаружено, что в период интенсивного медосбора, когда основная масса пчел находится в полете за нектаром, трутни обсиживают рамки с пчелиным расплодом, обогревая их и поддерживая необходимый тепловой режим для их развития. Уничтожение трутневого расплода недопустимо также в связи с тем, что только обилие трутней обеспечивает отбор среди мужских особей и повышает гарантию встречи с молодой маткой наиболее сильных и здоровых особей.

Рабочие пчелы – это самые многочисленные представители пчелиной семьи женского пола, в отличие от матки, имеющие недоразвитую половую систему, и поэтому в нормальных семьях не способные к осеменению и откладке оплодотворённых яиц. Осенью и зимой в семье их насчитывается до 20 тысяч, а в летний период их количество достигает 50–80 тысяч. Рабочие пчелы составляют основу пчелиной семьи, все они сёстры, произошедшие от одной матки, и одного или разных отцов-трутней. Для выполнения различных работ пчелы имеют специальные приспособления: хоботок для сбора нектара, корзиночки на задних ножках для складывания цветочной пыльцы (обножка) и транспортировки (рис. 2.3), на передних ножках волоски-щеточки для сметания пыльцы, на средних – шпора для сбрасывания пыльцы в ячейку сота.



Рис 2.3. Рабочая пчелка с обножкой в корзиночках задних пар ног (<http://titcat.ru/images/articles/2018/11/01/Hraniteli-chelovechestva/Hraniteli-chelovechestva1.jpg>).

Среди рабочих пчел происходит возрастное разделение труда. Все выполняемые пчелами работы можно разделить на множество специализаций, которые сменяются с возрастом, а также в зависимости от их физиологического состояния и потребности семьи.

В первую неделю своей жизни, молодые пчелы занимаются уборкой сотов и чисткой ячеек (*уборщицы сотов*). К следующему виду деятельности – кормлению личинок старшего возраста медом и пергой пчелы приступают с 3–4-го дня после вылупления (*воспитательницы*). Со второй недели своей жизни, когда у них полностью развиваются железы (гипофарингиальные и верхнечелюстные), вырабатывающие маточное молочко, пчелы начинают кормление им личинок младшего возраста (*кормилицы*). В конце второй недели жизни у пчел начинают вырабатываться, ферменты, необходимые для переработки нектара и пыльцы, и они приступают к транспортировке нектара в улье и укладке пыльцы в сотах (*приёмщицы*). К уборке ульев пчелы приступают примерно на 9-й день жизни (*уборщицы ульев*). К 12-тому дню жизни у пчёл развиваются восковые железы, и они способны к другому виду деятельности – производству воска и строительству сот (*строительницы*). На защиту улья пчелы способны переключаться примерно с конца второй недели, ко времени окончания выработки яда в специальных железах (*сторожа*). И лишь к 21-му дню с момента вылупления пчелы приступают к важнейшему виду своей деятельности – сбору нектара и пыльцы (*разведчицы, фуражиры*). Этой деятельностью (а также защитой улья) они занимаются до конца своей жизни.

Одной из наиболее сложных и загадочных форм поведения пчел-разведчиц является их удивительная способность передавать информацию о местонахождении источника нектара и пыльцы с помощью специальных сигнальных движений – «танца». Впервые сигнальные движения пчел описаны Карлом Фришем, за эти исследования он был удостоен Нобелевской премией в 1973 году. Прилетевшая с разведки пчела исполняет «танец» на вертикальном соте в окружении пчел и мобилизует их на вылет к обнаруженным источникам нектара и пыльцы, а во время роения помогает рою найти новое жилище. Танец является своеобразным языком пчел для коммуникации и согласованных действий особей пчелиной семьи. Существуют и другие способы взаимодействия членов пчелиного сообщества. Наиболее распространенным в пчелиной семье является язык запахов: различные биологически активные вещества (феромоны, маточное вещество и др.), выделяемые одними членами сообщества специфически влияют на поведение и физиологическое состояние других особей семьи. Существуют также звуковые сигналы различной частоты и значимости, с помощью которых пчелы и матки общаются между собой.

Синтез идей генетики и физиологии в анализе сложных программ поведения по ориентации пчел были начаты под руководством профессора М.Е. Лобашева в Институте физиологии им. И.П. Павлова (Колтуши, Ленинградская обл.) в 1949 г. Сотрудница лаборатории М.Е. Лобашева, известный специалист по поведению пчел Н.Г. Лопатина написала увлекательную книгу «Сигнальная деятельность в семье медоносной пчелы» (1971).

Все виды коммуникаций: танцы, запаховая и звуковая сигнализация, пищевые контакты (трофаллакис) превращают пчелиную семью в единое целое – сверхорганизм, или суперорганизм по Моритцу (Moritz et al., 1992). Интеграция поведенческой биологии насекомых с современными достижениями геномики привели к новой области исследований – социогеномике, в котором медоносная пчела с её уникальными эколого-генетическими характеристиками, стала основным модельным объектом (Robinson et al., 2005, 2008, Smith et al., 2008, Thölken et al., 2019).

Трудолюбие членов пчелиного сообщества – рабочих пчел – поразительно: подсчитано, что для заполнения одной ячейки медом им необходимо посетить до 100 цветков. В это время они могут совершать в день до 30 вылетов из улья. Пчёлы летают на расстоянии до 3 км от улья, со скоростью полета в среднем 28–30 км/час. Считается, что за весь летний период они могут налетать расстояние длиной, равной примерно длине экватора (более 40 тыс. км). В результате такой многогранной активной деятельности жизнь рабочих пчел недолговечна, они быстро изнашиваются. Продолжительность жизни летной пчелы в среднем около 35 дней. Зимой, когда семья находится в относительном покое, пчелы живут около 8–9 месяцев. Весной перезимовавшие пчелы постепенно заменяются молодыми.

Особенности развития особей пчелиного социума. Пчелиная матка, отложив яйца, больше не заботится о своём потомстве. Развивающихся из яиц личинок выращивают уже рабочие пчёлы. Яйца и личинки в открытых ячейках называют *открытым расплодом*, а личинки и куколки в запечатанных ячейках – *печатным расплодом*.

Развитие пчелы. Оплодотворённые яйца, только что отложенные маткой в пчелиные ячейки, приклеены нижним концом перпендикулярно ко дну (см. рис. 2.4 *Ва*). Затем, по мере развития, яйца постепенно опускаются; к концу третьих суток они уже лежат на доньшках ячеек. По положению яиц в ячейке можно установить дату откладки их маткой. К концу третьих суток пчёлы-кормилицы добавляют к яйцу капельку молочка, выделяемого их железами. После этого оболочка яйца размягчается, и из него вылушивается маленькая личинка (рис 2.4. *Вб*). Первые трое суток личинки рабочих пчёл получают молочко. Они

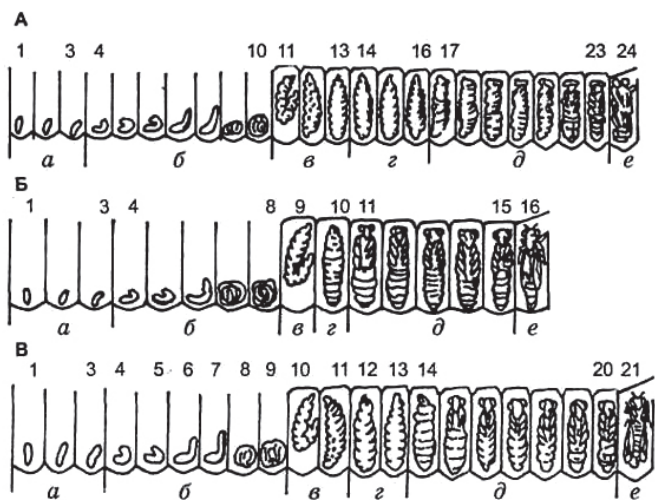


Рис. 2.4. Развитие особей пчелиной семьи: А – развитие трутня, Б – развитие матки, В – развитие рабочей пчелы. Стадии развития: а – яйцо; б – личинка; в, г – предкуколка; д – куколка; е – имаго. Цифрами обозначены сутки. (https://yandex.ru/images/search?cbir_id=1577772%2F94Aewlq0zbE1x3PCbmsvWQ).

быстро растут, и к концу третьих суток вес их увеличивается почти в 200 раз. В последующие дни этих личинок пчелы кормят смесью мёда и перги. Через 6 суток личинки вырастают настолько, что занимают весь объём ячеек. После этого они больше не получают пищи, и пчелы запечатывают ячейки пористыми крышечками из воска с примесью перги. В запечатанной ячейке личинка прядёт кокон. Образуется он из затвердевающих в виде нитей выделений прядильной железы, которыми личинка окружает себя перед окукливанием. Перед прядением кокона личинка очищает свой кишечник, откладывая его содержимое в угол ячейки. Претерпевая сложные изменения, личинка превращается в куколку; органы личинки распадаются (этот процесс называется *гистолизом*), и развиваются новые органы будущего взрослого насекомого. Куколка сначала имеет белый цвет, затем она постепенно темнеет. Через 12 дней после запечатывания ячеек из куколки развивается взрослая молодая пчела. Она прогрызает крышечку ячейки и выходит из неё на свет (рис. 2.5).

Развитие рабочей пчелы со времени откладки яйца до выхода взрослого насекомого длится в течение 21 суток, из них стадии: яйца – 3 суток, личинки в открытой ячейке – 6 суток, личинки и куколки в запечатанной ячейке – 12 суток (табл. 2.1).

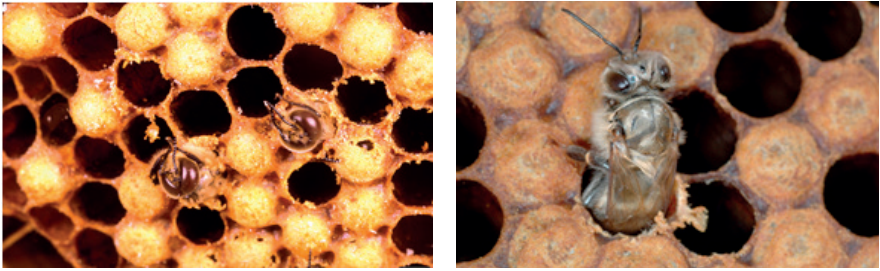


Рис. 2.5. Рождение пчелы – выход рабочих пчел из ячеек (фото В.М. Карцева).

Развитие матки. При подготовке пчёл к роению пчёлы выращивают матку в специально отстраиваемых для этого больших ячейках сота – *мисочках*, затем достраиваемых до *маточников*. Такие маточники пчёлы отстраивают обычно на нижних и боковых рёбрах сота (рис. 2.6 а). В отличие от горизонтальной ориентации пчелиных ячеек, маточники имеют вертикальную ориентацию. Вышедшие из них матки называются *роевыми*, количество их может достигать нескольких десятков. В случае внезапной гибели старой матки пчёлы могут отстраивать маточники и на обычных пчелиных ячейках сота, в которые матка ранее уже отложила оплодотворённые яйца. Маточники, отстроенные из обычных ячеек сота и вышедшие из них матки, называются *свищевыми* (рис. 2.6 б).

Из отложенного яйца через три дня вылупляется личинка. В отличие от личинок рабочих пчел, которые кормятся маточным молочком лишь три дня, личинки матки получают маточное молочко весь период развития, вплоть до запечатывания ячейки, т.е. 6 дней. При этом ли-

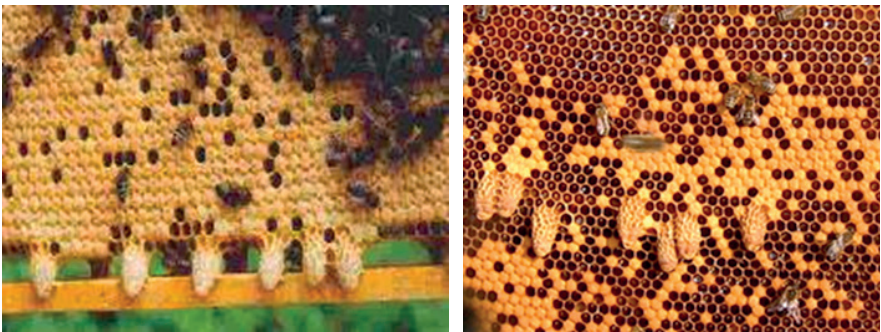


Рис. 2.6. Роевые маточники на нижнем крае сота (а), и свищевые маточники посередине сота (б) (<http://beeproduct.narod.ru/pic-matochniki.jpg>, <https://pbs.twimg.com/media/B8BOEVGlcAA3NiC.png>).

чинка быстро растёт. Через 8–9 дней после откладки яйца пчёлы запечатывают маточник пористой крышечкой из смеси воска и перги. В запечатанном маточнике личинка (предкуполка) в течение 7,5–8 дней превращается в куколку, а затем во взрослое насекомое – молодую матку. Развитие матки от яйца до взрослого насекомого длится 16–17 суток (рис. 2.2Б). Через 3–4 дня после выхода из маточника молодая матка начинает вылетать на ориентировочные облёты для ознакомления с местностью и расположением улья. На 7–10-й день своей жизни она вылетает для встречи с трутнями («брачные вылеты»).

Интересной особенностью развития женских особей пчелиной семьи является то, что матка и рабочие пчёлы развиваются из генетически идентичных личинок. Однако, как уже было указано выше, взрослые женские особи отличаются своими морфофизиологическими особенностями (развитием воспроизводительной системы), различием выполняемых функций, а также продолжительностью жизни, которая может отличаться в десятки раз. Обнаружено, что эти особенности обусловлены различиями в питании личинок: тех личинок, которым суждено стать матками, кормят только маточным молочком, выделяемым видоизменёнными верхнечелюстными слюнными железами. Если же личинку после трёх дней её жизни начинают кормить мёдом и пергой (белковый корм, приготовленный из пыльцы растений), то из личинки развивается рабочая пчела с недоразвитыми половыми органами. Предполагается, что в данном случае мы сталкиваемся с явлением *эпигенетической* регуляции, при которой химические компоненты маточного молочка влияют на экспрессию определённых генов генетической системы пчелы. Показано, что некоторые компоненты маточного молочка ингибируют синтез и активность ДНК-метилтрансферазы (DNMT-3), и гистоновой деацетилазы (HDAC), что активизирует экспрессию многих генов у матки, которые не транскрибируются у рабочих пчёл. Всего же между двумя пчелиными группами обнаружен 561 ген со значительными различиями в метилировании (см. главу 10).

Развитие трутня. Трутни, в отличие от матки и рабочих пчел, развиваются из неоплодотворённых яиц, которые матка откладывает в ячейки сот, имеющие несколько больший объём по сравнению с обычными пчелиными ячейками. К концу третьего дня из яиц вылупляются личинки. Так же как в случае развития рабочих пчёл, пчёлы-кормилицы первые три дня кормят личинку трутня молочком, а затем – пергой. Стадия личинки в открытой трутневой ячейке продолжается 6,5 суток, а стадия личинки и куколки в запечатанной ячейке – 14,5 суток. Общее развитие трутня, таким образом, совершается в течение 24 суток (см. рис. 2.2А).

Таблица 2.1. Сроки развития особей медоносной пчелы

Особи	Длительность развития яйца	Длительность развития личинки	Длительность развития куколки	Общая длительность развития
Рабочая пчела	3	6	12	21
Матка	3	5	8	16
Трутень	3	7	14	24

В таблице 2.1 приведены обобщенные сроки развития особей пчелиной семьи, из которой видно, что самый короткий срок развития у пчелиной матки (около 15 суток), самый длительный – у трутней (24 дня).

Жизни пчелиной семьи присуща сезонная цикличность. Деятельность пчелиной семьи достигает наибольшей степени активности в летний период во время цветения растений. К осени пчелиная матка прекращает яйцекладку, трутни изгоняются из семьи, а с наступлением холодов пчелы собираются в центре гнезда в клуб. В центре клуба, где находится матка, за счёт интенсивной деятельности мускулатуры крыльев рабочих пчёл поддерживается температура 22–25 °С. Среднерусская пчелиная семья способна запасть большое количество меда и перги и выдерживать период зимовки до 6 месяцев.

В конце февраля матка снова начинает кладку яиц, температура в улье повышается до 37 градусов. Когда внешняя температура воздуха повышается до 15 градусов, пчелы совершают первый очистительный облет, с выбросом каловых масс, которые накопились в период зимних месяцев. После этого пчелиная семья приступает к массовому наращиванию расплода, количество которого определяется числом перезимовавших рабочих пчел.

3. ГЕНЕТИКА ПОЛА

У пчёл имеются две системы регуляции пола отражающие эволюционные этапы его формирования: гапло-диплоидный механизм определения пола (при котором самки диплоидные и самцы гаплоидные) и более древний механизм регуляции пола, связанный с наличием серии множественных аллелей гена пола локализованных в Sex-локусе. Матка и рабочие пчёлы гетерозиготны, а трутни гомо или гемизиготны по гену пола. Отличительной особенностью Sex-локуса является высокий уровень рекомбинации и межвидового полиморфизма. Генетические системы определения пола направлены на уменьшение количества особей мужского пола.

Биологическая природа механизмов формирования пола давно занимала умы ученых, поражая своей целесообразностью. Создание хромосомной теории наследственности позволило описать цитогенетические механизмы определения пола и ответить на вопросы о том, каким образом у большинства видов животных поддерживается соотношение особей мужского и женского пола на уровне 1:1 и почему у пчёл на одного трутня приходится сотни особей женского пола?

Пол, как правило, закладывается уже в момент оплодотворения, и развитие его в мужскую или женскую сторону контролируется, как и любые другие признаки, генетически. Гены пола, могут располагаться в аутосомах или специализированных хромосомах, получивших название половых хромосом, что позволяет регулировать соотношение полов в потомстве на уровне 1:1. Различают несколько типов цитогенетических механизмов формирования пола.

Тип XX-XY. По этому типу формируется пол у млекопитающих, в том числе и человека, а также у дрозофилы. X-хромосома детерминирует развитие пола в женскую сторону; Y – в мужскую.

Конкретные механизмы, связывающие развитие мужского или женского пола с определенным сочетанием половых хромосом, у разных организмов, различны. Так, у человека, в Y-хромосоме находится SRY-ген. Он кодирует тестикул – детерминирующий фактор (TDF), определяющий развитие мужского пола.

Особый случай представляет собой формирование пола у дрозофилы. У дрозофилы в Y-хромосоме находится ген фертильности, ответственный за плодовитость самца. И в этом случае, пол определяется балансом числа X-хромосом и числа наборов аутосом (диплоидный организм содержит два набора аутосом). В X-хромосомах расположены гены, определяющие развитие по пути самки, а в аутосомах – по пути самца.

В женском генетическом наборе кроме аутосом (неполовых хромосом) имеется две X-хромосомы, одна из которых получена от отца, а

другая — от матери. Мужской пол кроме аутосом имеет X- и Y-набор половых хромосом, причем Y-хромосома может быть получена только от отца, а X — только от матери. В этом типе определения пола женский пол является гомогаметным, то есть образующим один тип гамет.

При образовании половых клеток в мейозе все женские яйцеклетки получают по одной X-хромосоме, а поэтому потенциально несут информацию о формировании только женского пола. Мужской пол — гетерогаметный, образует два типа половых клеток (X и Y) в соотношении 1:1.

В конечном итоге пол будущего организма зависит от того, каким сперматозоидом — X или Y — оплодотворена яйцеклетка. При условии свободного сочетания X- и Y-сперматозоидов с яйцеклетками, при одинаковой жизнеспособности X- и Y-сперматозоидов, а также одинаковой жизнеспособности зигот соотношение зигот XX и XY должно быть 1:1 независимо от нашей воли и желания.

В основе количественного соотношения полов лежит универсальный, общебиологический механизм мейоза определяющий расхождение половых хромосом. Однако у человека наблюдается сдвиг этого показателя: на 100 девочек рождается 96 мальчиков, есть и семьи, где рождаются дети одного пола. Первый случай объясняется большей эмбриональной гибелью организмов мужского пола, второй — разной чувствительностью и избирательной гибелью X- и Y-сперматозоидов.

Тип ZW-ZZ. По этому типу формируется пол у птиц и тутового шелкопряда. Здесь гомогаметным полом является мужской пол, а гетерогаметным — женский.

Во избежание путаницы символика обозначения половых хромосом (X и Y) заменена на Z и W, W — определяет развитие в сторону женского пола.

Тип XX-X0. По этому типу формируется пол у некоторых насекомых (кузнечиков, бабочек). Он определяется генами, расположенными в X-хромосоме и развитие в сторону женского или мужского пола связано с числом этих хромосом. Самка имеет две половые X-хромосомы, то есть гомогаметна; самцы гетерогаметны.

Тип 2n-n. Гаплодиплоидный. По этому типу формируется пол у перепончатокрылых, в том числе пчел, шмелей, ос и наездников. Он определяется плоидностью особи. Женские особи: матка и пчелы, развиваются из оплодотворенных яиц, имеющих двойной набор хромосом. Мужские особи, трутни, развиваются из неоплодотворенных яиц, имеющих одинарный набор хромосом. У пчёл не обнаружено половых хромосом, а гены пола расположены в Sex-локусе 8-ой хромосомы. У

самок этот ген находится в гетерозиготном состоянии, а самцов в гомо или гемизиготном состоянии.

Эволюция генетических механизмов определения пола у пчел.

У пчелы медоносной описано сосуществование двух систем определения пола: гапло-диплоидной и системы множественных аллелей гена пола. Предполагается, что это обстоятельство отражает эволюционные преобразования генетической системы определения пола, связанные с переходом пчелы от одиночного к семейному существованию (Шаскольский, 1971). Согласно автору, можно предположить существование трех этапов в становлении (совершенствовании) генетических механизмов систем определения пола у пчелы. Эти системы эволюционировали в связи с развитием и усложнением пчелиной семьи.

I этап. Исходная система – это самый древний механизм становления пола, относится к типам XY (XX/XY) или XO (XX/XO) и определяется гетерохромосомами. Он широко распространен в мире насекомых. Такая система существует при диплоидности самцов и самок и обеспечивает равновероятное появление особей мужского и женского пола в соотношении 1:1.

II этап. Замена первой системы на вторую определяется многими факторами – прекращением одиночного существования, переходом к социальному существованию, функциональной специализацией особей в ней (матка, рабочие пчелы и трутни), резким сокращением числа размножающихся самок и уменьшением потребности в самцах.

Совершенствование механизма определения пола, на этом этапе связано с возникновением серии множественных аллелей генов пола. Этот механизм позволяет существенно снизить долю самцов в потомстве (иногда до 2–8%), так как их появление определяется гомозиготным состоянием аллелей гена пола (X^aX^a , X^bX^b и др.) и зависит от насыщения популяции этими аллелями. С увеличением количества аллелей в популяции уменьшается вероятность их перехода в гомозиготное состояние. На этом этапе еще нет различий в пloidности, самки и самцы диплоидны.

III этап. Гапло-диплоидная система определения пола заключается в гаплоидности нормальных самцов и диплоидности самок. В этом случае феномен появления диплоидных трутней связан с гомозиготным состоянием аллелей Sex-локуса. Такие личинки удаляются рабочими пчелами. Появление этой системы связано, по-видимому, с дальнейшим развитием семьи, увеличением численности ее особей до нескольких тысяч, при этом потребность в трутнях ограничивается только сезонным размножением. Инстинкт удаления ненужных трут-

ней сохраняется и в другом случае: когда рабочие особи при резком похолодании или сокращении взятка выбрасывают уже зрелый трутневый расплод.

Впервые мысль о гапло-диплоидном механизме определения пола у пчелы была высказана Дзержоном более 150 лет тому назад (Dzierzon, 1861): матка и рабочие пчелы развиваются из оплодотворенных, а трутни – из неоплодотворенных яиц.

Почти через столетие О. Маккенсен (Mackensen, 1951), изучая процесс наследования при близкородственных скрещиваниях (скрещивание матки с одним из братьев – трутнем), обнаружил явление пестрого расплода и дал ему генетическое обоснование. Он сравнивал полученные результаты с результатами наследования у наездника-хабробракона семейства браконид (отряд перепончатокрылых), у которого кроме гапло-диплоидного механизма определения пола был обнаружен ген пола «Х». В популяции он представлен серией множественных аллелей (различные состояния одного и того же гена). При записи аллелей этого гена используют буквенное обозначение: X^a , X^b , X^c , X^d и т.д.

Маккенсен предположил, что аналогичный механизм определения пола может быть и у пчел. Из оплодотворенных яиц развиваются нормальные особи женского пола только в случае гетерозиготного состояния аллелей, то есть X^aX^b , X^aX^c , X^bX^c и др. Гомозиготные же по аллелям этого гена зародыши (X^aX^a , X^bX^b , X^cX^c и др.) развиваются в диплоидных трутнях. Гомозиготное состояние аллелей гена пола имеет полуплетальный эффект, такие зародыши обладают пониженной жизнеспособностью и погибают на ранних стадиях развития, давая картины «пестрого расплода» (рис 3.1).



Рис. 3.1. Картина пестрого расплода в гнездовой рамке, среди запечатанного расплода личинок рабочих пчел видны пустые ячейки, из которых пчелы удалили погибшие личинки (<http://24medok.ru/wp-content/uploads/h.jpg>).

Почти одновременно с этой работой были опубликованы исследования Лейдлоу с соавторами (Laidlow et al., 1956), подтверждающие наличие системы множественных аллелей. В бразильской популяции, состоящей из более чем 60 семей, автору удалось обнаружить 12 аллелей этого гена.

Предположение Маккенсена о генетической природе «пёстрого расплода» было блестяще экспериментально подтверждено работами Войке (1963) при использовании техники искусственного осеменения пчелиных маток трутнями-братьями. Эти результаты были доложены на XIX Международном конгрессе по пчеловодству.

Оригинальность данной работы заключается в том, что автор определял пол насекомого еще в запечатанном расплоде по анатомическим особенностям зачатков половых органов личинок. Изучался расплод только тех маток, в семьях которых отмечалось около 50% «пестрого расплода». Было обнаружено, что половина зародышей потомства таких маток несет признаки женского пола, а другая половина – мужского. Таким путем удалось доказать, что эмбриональная гибель зародыша связана с геном пола, и что различные сочетания половых аллелей Sex-локуса лежат в основе явления «пестрого расплода»

Автором было также высказано предположение о том, что диплоидные зародыши трутней погибают не сами по себе: такие зародыши сразу после выхода из яиц распознаются и уничтожаются рабочими пчелами.

Структура Sex-локуса. У пчел не обнаружено специализированных половых хромосом, однако описаны половые гены (Sex или X-гены), ответственные за формирование пола, которые сосредоточены в особом участке одной из аутосом – SDL (sex determination locus), или Sex-локусе. Sex-локус локализован на хромосоме 8 (Beye, Moritz, 1996) и его длина составляет примерно 26 тыс. п.н. SDL содержит 5 генов: *GB11211*, *GB13727*, *fem*, *csd* и *GB30480* (рис. 3.2).

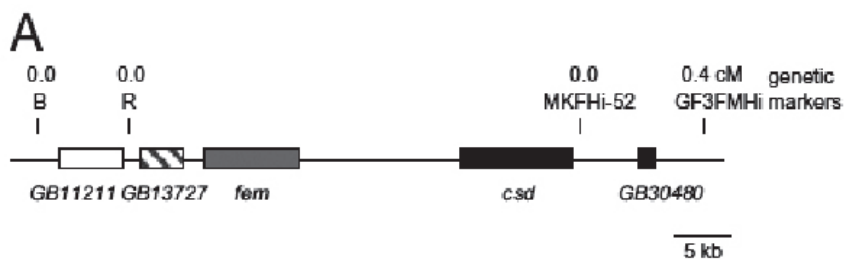


Рис. 3.2. Структура SDL локуса *A. mellifera*. На схеме обозначены 5 генов Sex-локуса (По Hasselmann et al., 2008).

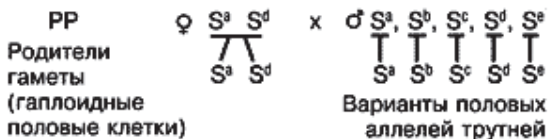
Многочисленные эксперименты с использованием РНК-интерференции показали важную роль в детерминации пола только двух генов: *fem* (*feminizer*) и *csd* (*complementary sex determiner*). Функции остальных генов, входящих в состав SDL, остаются мало изученными. Показано, что главная роль в определении пола принадлежит гену *csd*, который кодирует серин-богатый белок. Этот белок участвует в процессе альтернативного сплайсинга мРНК *fem*. Во время сплайсинга транскрипта *fem*, специфичного для женского пола, происходит удаление трёх ключевых для детерминации пола экзонов: №3, 4 и 5. Экзон 3 содержит стоп-кодон, который приводит к преждевременной терминации трансляции. У самок этот стоп-кодон вырезается из мРНК в составе экзона. Это способствует нормальному протеканию процесса трансляции и синтезу функционального белка. У трутней экзоны 3, 4 и 5 остаются в составе мРНК. За счёт стоп-кодона в экзоне 3 происходит преждевременная терминация трансляции, и образуется укороченный (нефункциональный) белок. Таким образом синтезируются пол-специфичные белки Fem, которые относятся к SR-типу и содержат аргинин-серин-богатый домен. Эти белки участвуют в активации каскада реакций детерминации пола. (Hasselmann et al., 2008). Предполагается, что ген, кодирующий белок Fem, возник раньше, чем ген *csd*. Ряд исследователей полагает, что *csd* возник в результате дупликации предкового гена *fem*. После расхождения *fem* и *csd*, эволюция последнего протекала в направлении увеличения числа мутаций. Интересно отметить, что для гена *fem* накопление мутаций не характерно. Таким образом, ген *csd* может находиться в разных аллельных состояниях. Согласно последним данным, ген *csd* имеет 87 аллелей. Однако автор предполагает что расширение ареала исследования природных популяций *A.mellifera* позволит обнаружить до 100 аллелей этого локуса. (Lechner et al., 2013).

Секвенирование генома пчелы позволило получить молекулярные характеристики Sex-локусов. В данной работе были секвенированы гены *csd*, так же как и другие, случайно выбранные нейтральные геномные участки (в отношении которых не описано действие отбора) трёх близкородственных видов: *A.mellifera*, *A.cerana* и *A.dorsata*. (Cho, Huang, et al., 2006). Обнаружена, высокая частота рекомбинации Sex-локуса, в 7 раз превышающая уровень рекомбинации в нейтральных геномных участках. Наряду с этим отмечается высокий уровень межвидового полиморфизма гена *csd*, связанного с нуклеотидными заменами. В литературе обсуждается эволюционное значение этих характеристик.

Множественные аллели гена пола на изолированной пасеке. Как уже отмечалось выше, большой процент «пестрого расплода»

наблюдается именно на изолированных пасеках, где процветает близкородственное разведение. Число пустых ячеек значительно варьирует и в отдельных семьях может достигать 50%. В этом случае обычно винят матку (старая, больная, слабая) и стремятся ее заменить на другую, чаще со своей же пасеки, но все опять повторяется, поскольку истинная природа этого явления связана с особенностями генетических механизмов определения пола у пчелы медоносной.

Проиллюстрируем это на схеме, используя обозначения аллелей гена пола X. В зарубежной литературе их называют Sex-гены и



обозначают символом S. Чтобы не путать X – символ половых генов с X-хромосомой, целесообразно использовать символ S для обозначения половых генов и в отечественных публикациях.

Рассмотрим на примере возможность комбинирования половых аллелей в локальной популяции.

В данном примере матка образует два типа гамет, каждая из которых несет по одному аллелю гена пола S^a или S^d. Гаплоидные трутни, а также их гаметы несут только по одному аллелю из возможной серии множественных аллелей: S^a или S^b, S^c, S^d и др. При оплодотворении возможны различные комбинации аллелей в зиготе. Для их воспроизведения воспользуемся решеткой, где по горизонтали расположим аллели гамет трутней, а по вертикали – матки. Для удобства используем только буквенные обозначения аллелей.

Родители	♂ a	b	c	d
♀ a	♂ aa	♀ ab	♀ ac	♀ ad
d	♀ da	♀ db	♀ dc	♂ dd

Все гетерозиготные по гену пола особи будут нормальными особями женского пола, а гомозиготные – диплоидными трутнями, которых пчелы уничтожат, что и приведет к картине «пестрого расплода».

Если трутни окажутся братьями матки, несущими одинаковые с ней половые аллели, то процент пестрого расплода будет максимальным – 50%.

Очевидно, чтобы избежать высокой концентрации одноименных аллелей на пасеке при искусственном выводе маток, необходимо использовать несколько донорских семей. Это особенно важно на изолированных пасеках.

В большинстве случаев пчелы сами преодолевают эту проблему. Случайные пункты, где происходят встречи матки с трутнями, нередко бывают удалены от пасеки на значительные расстояния, что умень-

шает вероятность родственного спаривания. С другой стороны, полиандрия (осеменение несколькими трутнями), несомненно, ценное биологическое приспособление, уменьшающее вероятность концентрации одноименных аллелей в одной популяции. Идентификация половых аллелей приобретает большое значение при искусственном осеменении маток. В этом случае генетический контроль производителей – важное условие селекционно-генетических исследований.

К сожалению, различные половые аллели не имеют фенотипического проявления, позволяющего проводить их идентификацию по внешнему виду. В связи с этим большое значение приобретает поиск их молекулярных маркеров. В настоящее время ведутся работы по картированию генома пчелы с их использованием. Первые результаты по картированию Sex-локуса были получены в 2004 г. (Hasselmann et al., 2004). Обнаружены фланкирующие последовательности, позволяющие идентифицировать половой локус и маркировать его на генетической карте (Beue et al., 1999). Одна из его отличительных особенностей – чрезвычайно высокий уровень рекомбинации, позволяющий определить его как «горячую точку». Обнаружен также большой полиморфизм фланкирующих участков по степени повторяемости. Все это свидетельствует о большом функциональном значении этого локуса в системе жизнеобеспечения вида. Sex-локус становится предметом изучения не только прикладной, но и фундаментальной науки.

Гаплоидный геном трутней как генетический полигон для очищения популяции от генетического груза. Переход на гапло-диплоидный механизм определения пола дал огромные преимущества медоносной пчеле связанные с появлением цитогенетического механизма адаптации и ознаменовал исключительную роль трутней в этом процессе.

Гаплоидная генетическая система самцов, обладающая одинарным набором хромосом, а, следовательно, и генов, представляет собой полигон, на котором проявляются возникающие вредные рецессивные мутации, снижающие жизнеспособность и адаптационный потенциал вида. Их проявление приводит к гибели особей, носителей этих генов. Таким образом, популяция имеет возможность освободиться от так называемого «генетического груза». Именно на уровне генетической системы трутней идет отбор наиболее приспособленных к конкретным условиям существования генетических комбинаций.

В практике пчеловодства в последнее время в целях повышения медовой продуктивности пчелиной семьи получил широкое распространение приём удаления трутнёвого расплода, т.к. трутни не участвуют в сборе нектара. Однако, уничтожая трутневый расплод, мы

тем самым препятствуем реализации одной из самых совершенных программ адаптации вида, которая формировалась миллионы лет эволюции. Именно она придает генетическому аппарату пчелы удивительную пластичность, которая позволила *Apis mellifera* освоить все континенты, за исключением Антарктиды.

В отличие от человека, природа наделила пчелу механизмом, позволяющим ей самостоятельно регулировать пол у потомства. Время откладки и число неоплодотворенных яиц, из которых появляются самцы, определяются коротким периодом, связанным с размножением. Человеку же, в отличие от пчелы, природа не доверила самостоятельно регулировать соотношение полов в семье, возможно, из-за несовершенства социума *Homo sapiens*, ведь эволюционный возраст пчелы намного больше, чем у человека.

4. ПАРТЕНОГЕНЕЗ В РАЗМНОЖЕНИИ ПЧЕЛИНОЙ СЕМЬИ

Существование женского и мужского партеногенеза у пчёл отражает эволюционные этапы совершенствования генетической системы размножения. Благодаря партеногенезу сохраняется целостность материнского генотипа в потомстве особей мужского и женского пола, происходит элиминация вредных рецессивных мутаций в геноме гаплоидных трутней, регулируется численность мужских особей пчелиной семьи.

Удивительной особенностью размножения медоносной пчелы является способность к мужскому и женскому партеногенезу. Аррентокия – мужской партеногенез, в результате которого неоплодотворенное яйцо развивается в гаплоидного самца, и телетокия – женский партеногенез, при котором из неоплодотворенного яйца, отложенного маткой или пчелой-трутовкой, возникает диплоидная самка. Трутовки представляют собой разновидность рабочих пчел, у которых в случае гибели матки начинают развиваться яичники, и таким образом, они приобретают способность откладывать неоплодотворенные яйца.

Мужской партеногенез – это давно описанное явление, связанное с гаплодиплоидным механизмом определения пола. В отличие от мужского партеногенеза, который является обычным способом размножения пчелиной семьи, женский партеногенез – довольно редкое явление, которое было впервые замечено в естественных популяциях, а в дальнейшем вызвано в экспериментальных условиях.

Впервые партеногенетические самки были обнаружены Хевитом в потомстве туниских пчел (Hewitt, 1862). В природных условиях, в потомстве одной нормальной матки частота появления партеногенетических самок обычно не превышает 1% (Mackensen, 1943, Tucker, 1958). Однако у трутовок южноафриканских пчел большая часть неоплодотворенных яиц (около 80%) способна развиваться в нормальных диплоидных самок (Kerr et al., 1958). Партеногенетическое развитие может осуществляться двумя путями. С одной стороны, оно сопровождается изменением в делении созревания, приводящего с выпадением редукционного деления к одноступенчатому мейозу, в результате чего возникает диплоидное ядро дробления. В другом случае, в результате нормального двухступенчатого мейоза, в отложенном неоплодотворенном яйце происходит редукция числа хромосом. Последующее восстановление диплоидности осуществляется за счет различных механизмов слияния гаплоидных ядер.

Классическая схема оогенеза представлена на рис 4.1. Оогонии – гетерозиготны – Аа. Половые клетки маркированы парой аллельных генов А и а.



Рис 4.1. Классическая схема оогенеза.

На данной схеме обозначено расхождение аллельных генов в 1 делении и их распределение между яйцеклеткой и редукционными тельцами.

Одной из особенностей оогенеза, является образование из диплоидной оогонии – лишь одной полноценной яйцеклетки с гаплоидным набором хромосом. При двухступенчатом мейозе в результате первого (редукционного) деления образуется две клетки (ооцит 1-го порядка и первое редукционное тельце) с гаплоидным числом хромосом. Эти клетки отличаются по размерам, т.к. вся цитоплазма остаётся в ооците 1-го порядка, дающего начало яйцеклетки. Во втором делении мейоза, которое по своему цитогенетическому механизму не отличается от митоза, деление первого редукционного тельца, приводит к образованию двух гаплоидных телц. При делении ооцита 2-го порядка образуется второе редукционное тельце и ядро яйцеклетки (будущего пронуклеуса). В результате формируется четыре гаплоидных клетки, но только одна из них, окружённая большим слоем цитоплазмы, даёт начало яйцеклетке. Судьба трёх остальных гаплоидных ядер – различна. Некоторые из них могут сливаться с женским пронуклеусом, восстанавливая диплоидность ядра яйцеклетки, дегенерировать, или в случае полиспермии – сливаться со сперматозоидами, давая начала соматическим тканям гинандроморфов.

Согласно Маккензену и Такеру, появление гомозиготных рецессивов в телетокическом потомстве виргинных маток, гетерозиготных по

гену-маркёру, свидетельствует о том, что партеногенетический механизм развития диплоидных самок осуществляется аутомиктическим путем (восстановление диплоидности без оплодотворения), в этом случае потомство маток не повторяет генотип гетерозиготной матери (Mackensen, 1943; Tucker, 1958).

Однако анализ частот появления гомозиготных рецессивов от гетерозиготных маток с генами-маркерами и сравнение с теоретически ожидаемыми частотами показали, что наблюдавшиеся в опыте результаты нельзя объяснить только за счёт процесса мейоза в тетраплоидной ткани. Они могут соответствовать только одному из способов восстановления диплоидности при мейозе, а именно последующему объединению двух ядер из четырех, образующихся при делении созревания (Tucker, 1958). При этом женский пронуклеус сливается с продуктом деления первого направительного тельца. Варианты слияния зависят от ориентации веретена деления.

Явление партеногенеза обнаруживается среди различных рас *Apis mellifera*. Особенно это касается маток трутенок, способных к откладке неоплодотворённых яиц. Явление женского партеногенеза наиболее изучено у *Apis mellifera capensis*.

Так, Руттнеру удалось получить несколько поколений *Apis mellifera capensis* от пчел-трутенок без оплодотворения, только за счет аутомиктического типа партеногенеза.

Цитологические механизмы аутомиктического партеногенеза были установлены позднее. Ruttner, Verma (1983) и Verma, Karol (1993) описали нормальное прохождение процесса мейоза: была описана нормальная профазы с образованием хиазм и прохождением диакинеза. Во время анафазы II образуются 4 ядра, располагающиеся на одной линии, параллельной поверхности яйца (рис. 4.2). Эти гаплоидные ядра формируются из хроматиновой массы и не отделены мембранами. У плодных маток пронуклеусы мигрируют внутрь яйца, где сливаются с ядром спермия, формируя диплоидное ядро зиготы. В случае аутомиктического партеногенеза восстановление диплоидности происходит за счёт слияния центральных прилежащих ядер: пронуклеуса яйца и ядра, образующегося после деления первого редукционного тельца. Два других гаплоидных ядра дегенерируют.

В экспериментальных условиях женский партеногенез может быть спровоцирован нагреванием, так же как при искусственном партеногенезе тутового шелкопряда. В этом случае также имеет место только одно деление созревания (Астауров, 1940).

У виргинных маток увеличение частоты спонтанного партеногенеза может быть достигнуто задержкой времени вылета для спаривания,

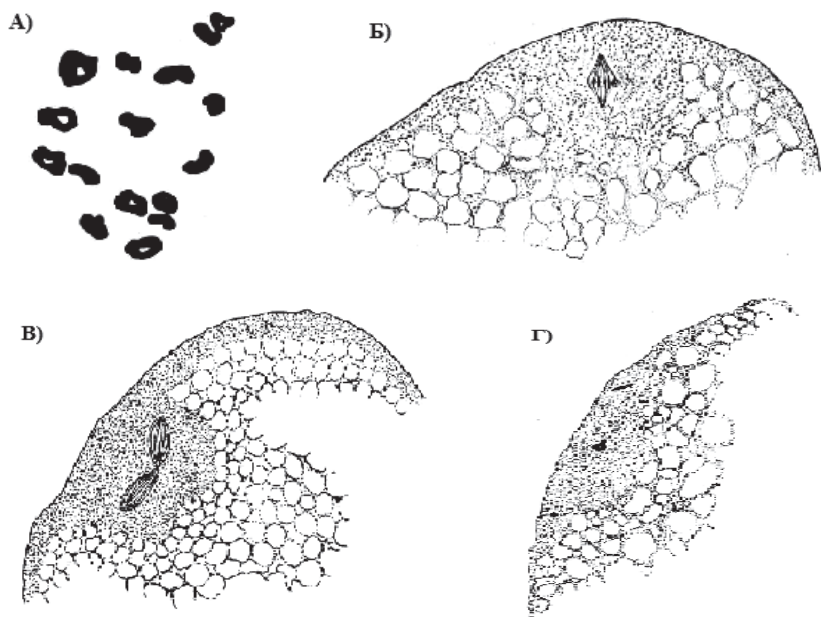


Рис. 4.2. Различные стадии деления созревания при партеногенезе *Apis mellifera capensis*. А – диакинез I, Б – анафаза I, В – анафаза II, Г – телофаза II (По Verma, Ruttner, 1983).

а также увеличением концентрации углекислого газа, используемого в случае инструментального осеменения. Кроме того, плодная матка, изолированная в пробирке, через некоторое время начинает откладывать неоплодотворённые яйца, это обстоятельство вероятно связано с тем, что в нормальных условиях матка в процессе яйцекладки погружает брюшко в ячейку, где происходит его сжатие, при этом открываются семенные протоки, создавая условия для выхода сперматозоидов. У пчелы активация яйца не связана с оплодотворением, и развитие оплодотворенных и неоплодотворённых яиц начинается после откладки. В этот момент заканчивается первое и начинается второе деление созревания и одновременно деление ядра первого редукционного тельца. Деление дробления в неоплодотворённом яйце (в дальнейшем из которых развиваются трутни) начинаются примерно на $\frac{3}{4}$ часа позже, чем в оплодотворенном.

Созревающее яйцо пчелы представляет собой удобную модель для экспериментального воздействия и управления процессом мейоза, т.к. все стадии его развития проходят вне тела матки, в отложенной ячейке. Ниже в табл. 4.1. приводится динамика стадий созревания, описан-

ная Verma (1983), которая позволяет целенаправленно воздействовать на ту или иную стадию и управлять цитологическим механизмом партеногенеза.

Согласно заключению Тряско (1969), явление спонтанной телитокии не должно рассматриваться только как результат случайных нарушений, возникающих на ранних стадиях развития яйца. Распределение маток по числу произведенных партеногенетических самок не соответствует пуассоновскому распределению для случайных редких событий. На наследственную обусловленность этой способности указывает связь частоты появления самок от виргинных маток с их расовой принадлежностью, интенсивностью яйцекладки, выживаемостью партеногенетического потомства и усиление данной способности под влиянием искусственного отбора.

Таблица 4.1. Временная корреляция мейотической активности в яйце трутвовок *Apis mellifera capensis* до и после их откладки при $t=26^{\circ}\text{C}$ (Цит. по Verma, Ruttner, 1983)

Время относительно откладки яиц	Стадии деления созревания	Комментарии
Перед откладкой	1). Рост ооцита 2). Начало первого деления созревания 3). Стадии диакинеза и метафазы I с 16 бивалентами 4). Начало стадии анафазы I	Прохождение первого мейотического (редукционно-го) деления – $n=16$ Веретено деления располагается параллельно продольной поверхности яйца
Сразу после откладки	Полное прохождение анафазы I	Расположение веретена деления сохраняется
0,5–1 ч после откладки	Прохождение телофазы I	Формируются 2 ядра в том же положении, что и веретено деления
3–4 ч после откладки	Прохождение анафазы II с двумя веретенами деления в периплазматической области	Оба веретена деления параллельны продольной поверхности яйца
4–4,5 ч после откладки	Формируются 4 ядра, 2 из которых сливаются, формируя зиготу	Происходит восстановление диплоидного набора хромосом ($2n=32$)
4,5–5 ч после откладки	Движение ядра зиготы внутрь зоны желтка и дегенерация полярных телец	-
5–6 ч после откладки	Первый распад веретена деления	-
Более 6 ч после откладки	Формирование бластодермы	Диплоидный набор хромосом ($2n=32$) в соматических клетках

Интересной особенностью процесса размножения пчелы является способность яйцеклетки к полиспермии, т.е. возможность участия в оплодотворении яйцеклетки сразу нескольких сперматозоидов, один из которых сливается с пронуклеусом яйцеклетки, а другие могут объединяться с гаплоидными ядрами редукционных телец. Это обстоятельство, в конечном итоге, приводит к появлению гинандроморфов. В некоторых семьях описана повышенная частота появления гинандроморфов среди фенотипически рабочих пчёл. Применение микросателлитного анализа при идентификации отцовских линий обнаружило возможность участия в оплодотворении двух и более сперматозоидов от разных трутней (Aamidor et al., 2018).

Появление у пчел мозаиков и гинандроморфов описано многократно. К их образованию приводят сохранение активной роли более чем одного сперматозоида в яйце и нарушение в ходе делений созревания или в поведении ядер направительных телец, этому способствует временное понижение температуры (Drescher, Rothenbuler, 1963). Последние результаты открывают большие возможности для использования генома пчелиного яйца и процесса оплодотворения в качестве привлекательной модели для клеточной инженерии. Изучение цитологических механизмов женского партеногенеза представляет не только теоретический интерес, но имеет и практическое значение, связанное с возможностью получения инбредных линий и закрепления гетерозиса.

Возможности, которые дает пчела для изучения генетики, биологии развития и эмбриологии, используются еще недостаточно. Существование у медоносной пчелы двух способов полового размножения с оплодотворением и без оплодотворения, необходимо рассматривать как сохранение эволюционных этапов совершенствования генетических механизмов размножения. Появление мужского и женского партеногенеза связано с приспособлением к семейной форме существования и разделением на касты с четко ограниченными функциями. Исключительная роль матки в семье приводит к тому, что её потеря приводит к гибели семьи. Поэтому партеногенетический способ размножения в случае гибели матки, позволяет рабочим пчёлам-трутовкам из неоплодотворённых яиц получить нормальное потомство. В случае затруднения спаривания неоплодотворённые яйца нормальной матки также развиваются партеногенетически, давая начало диплоидному потомству. Женский партеногенез позволяет воспроизводить материнский генотип в потомстве и закреплять эффект гетерозиса. Мужской партеногенез позволяет пчелиной семье контролировать количество особей мужского пола и формирует гаплоидную систему генома трутня, которая способствует проявлению вредных рецессивных мутаций и, таким образом, в каждом поколении очищает генотип от генетического груза.

5. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА РОЕНИЯ

Биологические причины роения связаны с состоянием генетической системы пчелиной семьи, в первую очередь, матки. Основными факторами, провоцирующими роение, являются гомозиготность, накопление вредных рецессивных мутаций, несбалансированность генетических систем в гибридных геномах. Закладка большого количества маточников, предшествующая роению, создаёт условия для отбора наиболее благоприятных генетических комбинаций. Улетающий рой способствует освоению новых экологических ниш и создает условия для выхода из плена гомозиготности.

Несмотря на то, что уже более двух столетий пчела подвергается одомашиванию, процесс роения все еще остается самым неуправляемым элементом ее социального поведения. Роение — это способ размножения и расселения пчел, связанный с делением семьи, когда часть пчел со старой маткой покидают улей (рис. 5.1). Считается, что роение наносит большой экономический ущерб пчеловодству, поскольку в результате перехода семьи в роевое состояние уменьшается летная деятельность пчел, снижается медовая продуктивность. В связи с этим борьба с роением становится непременным условием рентабельного и рационального пчеловодства.

Основные причины роения чаще всего связывают с абиотическими факторами: несоответствие силы семьи объему занимаемого пространства, что приводит к скученности, плохой вентиляции, изменению температурного режима и общего микроклимата улья. В связи с этим основная стратегия борьбы с роением обычно сводится к ран-



Рис. 5.1. Пчелиный рой на ветке дерева (фото Карцева В.М.).

нему расширению гнезда, делению семей пополам, формированию отводков, а также к постановке магазинных надставок, увеличивающих объём внутриульевого пространства. Однако сам по себе экологический климат улья не определяет необходимость вступления в роевое состояние, а лишь способствует его протеканию, растягивая или ускоряя его во времени.

Замечено, что вступление пчелиной семьи в роевое состояние носит необратимый характер. Его можно лишь растянуть во времени или отсрочить с помощью перечисленных выше приемов. Именно это наблюдается в том случае, когда в целях предотвращения роения используют приём удаления маточников, т.к. через некоторое время семья вновь их закладывает. Процесс «запущенного роения» нередко сохраняется и после деления семьи пополам, пришедшей в роевое состояние, даже в безматочной ее половине: нередко заложив свищевые маточники, пчелы отпускают рой с одной из вышедших молодых маток.

Для выяснения истинных причин роения мы предприняли попытку рассмотреть это явление с точки зрения общебиологических и генетических представлений, сознательно опустив все стороны социальной реорганизации роевой семьи.

Генетический контроль размножения. Не вызывает сомнения, что роение как важный элемент размножения вида представляет собой наследственно детерминированный процесс, контролируемый генетически. Несомненно, что у пчел имеются системы генетического контроля, определяющие способы размножения: через тихую смену маток или роение. Тихая смена маток происходит в случае гибели или снижения жизнеспособности матки до уровня, не позволяющего ей откладывать необходимое количество яиц. Заложенные таким образом маточники называются свищевыми маточниками. Оба варианта размножения (путём тихой смены маток или роения) связаны с выводом новой матки, которая не является генетической копией старой, так как развивается из оплодотворенного яйца, получившего половину генов от отца. Свищевых маточников, как правило, несколько, количество же роевых может достигать нескольких десятков (рис 5.2).

Какой же вариант размножения с точки зрения генетических представлений предпочтителен для вида? Какие преимущества для вида дает роевой способ размножения? Чтобы ответить на эти вопросы, определим генетическое значение роения. Какой генетический смысл заложен в закладке большого числа маточников и отделении роя? Генетическое значение этого явления заключается в создании условий для увеличения комбинаторики генотипов молодых маток и селек-



Рис. 5.2. Гнездовая рамка со множеством роевых маточников на разных стадиях развития (открытых и запечатанных) (http://beebazar.ru/wp-content/uploads/2011/06/img_7232.jpg).

тивного отбора наиболее приспособленных особей. Комбинативный полиморфизм генотипов молодых маток, создаётся, с одной стороны, путём меж- и внутрихромосомных рекомбинаций при образовании материнских половых клеток, а, с другой – разнообразием отцовских генотипов. Это даёт большой спектр генетического разнообразия ещё неоплодотворённых яиц, которое усиливается после оплодотворения в условиях полиандрии. С генетической точки зрения, роение представляет собой не только способ размножения, но и биологический механизм адаптации к постоянно изменяющимся условиям среды.

О большом генетическом разнообразии маточников свидетельствует разнообразие их размеров, форм, скорости развития, но даже когда они кажутся фенотипически одинаковыми, вышедшие из них матки характеризуются большим спектром генетической комбинаторики и различаются между собой как дети одной матери и одного или нескольких отцов. Отбор маток осуществляется как рабочими пчелами, так и борьбой между матками и носит приспособительный характер, т.к. в результате в семье остаётся только одна матка, которая обладает наилучшими физиологическими характеристиками и высокой яйценоскостью. Закладывание большого количества маточников – прогрессивное явление, дающее преимущество виду, поскольку, чем больше генетическое разнообразие маток, тем больше возможности для естественного отбора наиболее приспособленных вариантов и процветания вида в целом.

Другой важный момент роения характеризуется делением семьи и сменой территории обитания. Обычно первый рой улетает со старой, ранее оплодотворённой маткой. Последующие рои отходят уже с молодыми, ещё не оплодотворёнными матками. И только в этом случае создаются условия для оплодотворения неродственными трутнями, увеличивая вероятность гетерозиготности. Это позволяет избежать близкородственного спаривания и даёт виду огромные преимущества.

С нашей точки зрения, роение следует рассматривать как своеобразный способ выхода из генетического плена гомозиготности по основным жизненно важным генам. В пределах изолированных пазек, в условиях неконтролируемого спаривания и близкородственного разведения (инбридинга) может происходить накопление вредных рецессивных мутаций, действие которых в гетерозиготном состоянии не проявляется. Но с переходом в гомозиготное состояние в результате близкородственного разведения они проявляют свое действие, что приводит носителей этих мутаций к эмбриональной гибели или сопровождается снижением их жизнеспособности.

В селекционных программах всегда учитывается такой показатель, как инбредный минимум – максимально допустимое число родственных скрещиваний, превышение которого ведет к инбредной депрессии.

Неродственное спаривание между особями отдаленных популяций способно одним актом оплодотворения перевести большое число генов потомства в гетерозиготное состояние и тем самым вызвать эффект гибридной мощности (гетерозис) по многим показателям продуктивности, жизнеспособности и устойчивости, в т.ч. по медовой продуктивности.

Какими же механизмами может определяться степень инбредного минимума? У пчелы к этим механизмам можно отнести чрезвычайно полиморфную систему множественных аллелей sex-локуса, состоящую, по крайней мере, из 12 аллелей. Так, насыщение популяции одноименными рецессивными аллелями sex-локуса приводит к появлению гомозиготных по этим аллелям особей.

Как уже отмечалось выше, гены пола в гомозиготном состоянии обладают полуплетальным эффектом. Личинки, несущие их, оказываются диплоидными трутнями со сниженной жизнеспособностью. Такие личинки узнаются и удаляются рабочими пчёлами на ранних стадиях развития, что создает картину пестрого расплода (чередование запечатанных ячеек с открытыми, из которых пчёлы выбросили погибшие личинки). Число таких нежизнеспособных личинок может достигать 50%. Какой процент расплода соответствует инбредному

минимуму, не установлено. Однако 50% – это уже ситуация SOS. Она может явиться одним из возможных механизмов переключения семьи на роевой способ размножения, при котором противороевые приемы уже неэффективны.

Одной из генетических причин, провоцирующих роение, является структурно-функциональные состояния генотипа матки. К их числу относятся:

1 – накопление в генотипе матки вредных рецессивных генов в гомозиготном состоянии (результат инбридинга). Состояние генотипа матки может влиять на продолжительность жизни матки, на способность к яйценоскости, на уровень маточных феромонов, которые влияют на поведение пчелиной семьи

2 – накопление вредных рецессивных мутаций в репродуктивных клетках старых маток в процессе гаметогенеза (т.е. в процессе образования этих клеток). Нередко отдельные компоненты лекарственных средств, могут быть отнесены к мутагенам. Эта опасность особенно возрастает в случае несоблюдения рекомендуемых доз лекарственных препаратов, а также времени их использования и периодов развития пчелиной семьи. Накопление рецессивных мутаций в репродуктивных клетках маток может привести к снижению жизнеспособности у потомства (в первую очередь, у рабочих пчёл) при выполнении различных обязанностей.

3 – нестабильность генотипа межпородных гибридов. Известно, что в ряде случаев у межпородных гибридов может происходить снижение функциональной активности, за счёт несбалансированности работы генов разных пород в одном генотипе. У межпородных гибридов между среднерусской и серой горной кавказской эта несогласованность может проявиться в том, что генотип серых горных кавказских пчёл не способен обеспечивать длительную зимовку, которая длится в средней полосе России 6 месяцев и легко переносится среднерусской пчелой.

Изменение эколого-географических условий существования популяции как причина роения. В многочисленных исследованиях, проведённых на модельном генетическом объекте *D. melanogaster* на природных и экспериментальных популяциях, было показано, что процесс экологической адаптации всегда сопровождается структурной реорганизацией цитогенетической системы, в первую очередь, инверсиями. Инверсии представляют собой структурные изменения внутри отдельных хромосом, при которых определённая часть хромосомы переворачивается на 180°. Это приводит к проявлению известного генетического явления, получившего название «эффekt положения»,

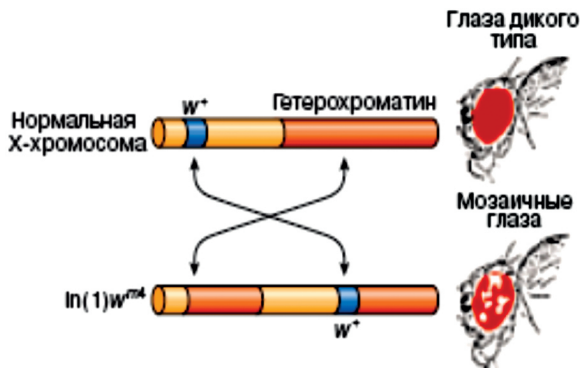


Рис. 5.3 Изменение экспрессии гена *white* при изменении его положения. Изменение положения гена *white* в результате инверсии приводит к образованию мозаичных глаз у дрозофилы (Цитировано по Жимулёву, 2002).

т.е. изменение функционирования гена при изменении его положения (рис. 5.3).

Н.П. Дубинин с соавторами, работая на политенных хромосомах *D. melanogaster*, установили широкое распространение инверсий в диких природных популяциях *Drosophila*, а также их качественные и количественные межпопуляционные различия.

Генетическое значение инверсий как механизма адаптации было впервые убедительно продемонстрировано ещё в 1937 году Дубининым Н.П. и соавторами в опытах на *D. melanogaster*: с искусственно созданными популяциями, содержащимися при различных температурных режимах. Было обнаружено, что особи, несущие разные инверсии (т.е. расположенные в разных районах хромосом), обладают различной степенью приспособляемости. В дальнейшем было показано, что влияние инверсий носит доминантный характер, так как реакция гомозиготных и гетерозиготных особей на понижение температуры оказалась одинаковой.

Инверсионный полиморфизм как механизм адаптации следует отнести к разряду общебиологических явлений. Так, в работах сербских авторов (Stanimirovic et al., 2005) на географически изолированных популяциях пчелы было показано, что процесс экологической адаптации сопровождается структурными реорганизациями хромосом (рис 5.4 и рис. 5.5).

Структурная реорганизация цитогенетической системы в виде инверсий даёт материал для последующего отбора наиболее удачных вариантов.



Рис. 5.4. Карта изолированных популяции *A. mellifera* Сербии (Stanimirovic, 2005).

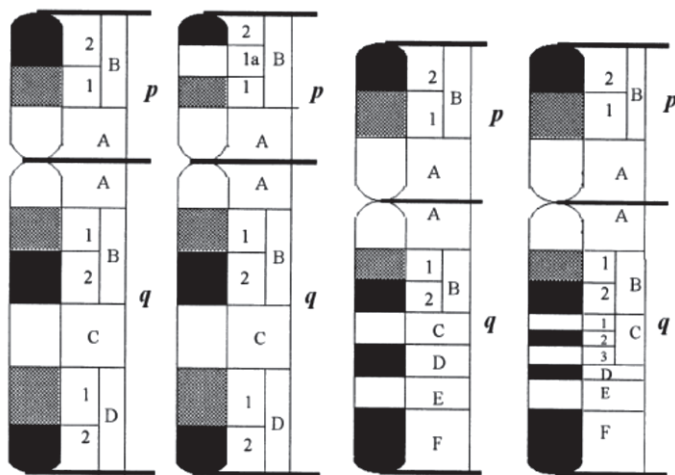


Рис. 5.5. Различие в распределении эу- и гетерохроматиновых районов при дифференциальном окрашивании хромосом у пчел разных экотипов Сербии (Stanimirovic, 2005).

Таким образом, по крайней мере, 4 рассмотренные нами выше состояния генотипа могут спровоцировать роение. Среди них: гомозиготность матки, летальные и полулетальные мутации в половых клетках старых маток, несбалансированность геномов у межпородных гибридов, а также инверсионный полиморфизм, возникающий в популяции при изменении экологических условий существования. Все вышеизложенные причины, приводят к изменению генетической конституции пчелиной семьи, и поэтому они провоцируют роение, т.к. в процессе роения создаются возможности для отбора наиболее удачных генетических конституций, адаптированных к конкретным условиям. Эти возможности проявляются в виде закладки многочисленных маточников, отличающихся большим спектром полиморфизма. Об этом необходимо помнить, когда южные популяции пчёл завозятся в северные регионы. И таким образом, создаются условия для провокации цитогенетической изменчивости и нестабильности, которые всегда сопровождают адаптацию.

В отличие от роения, в основе тихой смены матки лежат физиологические процессы, определяющие ее репродуктивное состояние.

Генетические основы роения позволяют объяснить целый ряд так называемых нештатных ситуаций, описанных выше. К их числу относится и роение семьи с молодой маткой, что может быть спровоцировано ее генетическими особенностями, то есть гомозиготностью. Действительно, стремление сохранить породу в чистоте с помощью географической изоляции создает для этого реальные условия. Природа включает механизм стихийного роения тогда, когда на изолированных пасеках происходит близкородственное разведение. Поэтому периодическая смена маток, отбор линий производителей, межлинейное спаривание с целью получения межлинейных гетерозисных гибридов – является одной из генетических стратегий любительского и промышленного пчеловодства.

Генетический подход к роению позволяет ответить на ряд волнующих вопросов. Эффективен ли отбор по признаку ройливости? Да, эффективен: при отборе неройливых пчел происходит отбор семей с наиболее стабильным генотипом, адаптированным к данным условиям существования и поэтому не требующим роения.

Почему разные породы обладают разной степенью ройливости? Исторически отбор на ройливость как способ адаптации наиболее интенсивно шел у пород, занимающих более неблагоприятные условия. Это относится к среднерусским пчелам, населяющим различные эколого-географические ниши обитания.

Принято считать, что семьи с молодыми матками не роятся. Репродуктивные клетки молодой матки несут меньше генетического груза,

отягощенного вредными генами. Это дает ей генетические преимущества. Но роение семьи с такой маткой может быть спровоцировано гомозиготностью и нестабильностью ее генотипа.

Изложенная генетическая концепция роения должна рассматриваться, скорее, как рабочая гипотеза, основанная на целом ряде хорошо изученных общебиологических и генетических механизмов. В этой концепции умышленно сделан акцент на менее изученные генетические моменты роения и сознательно опущены другие факторы, которые могут оказать косвенное влияние на этот процесс.

6. ГЕНОТИП, ФЕНОТИП И НОРМА РЕАКЦИИ В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

Температурный режим пчелиного улья оказывает существенное влияние на степень выраженности генетически детерминированных признаков фенотипа и неспецифическую устойчивость. Температурный оптимум личиночного развития составляет 33–35 °С, верхняя граница колебания температуры 38–39 °С, а нижняя – 28–29 °С. Тепловой и холодовой шок сопровождается изменением функциональной активности эмбриональных генов и вызывает гибель личинок.

Медоносная пчела обладает широким диапазоном и уровнем естественной устойчивости, сформировавшимся в процессе эволюции вида. Это обстоятельство, наряду с другими причинами, позволило ей широко распространиться по всей планете. Однако в настоящее время в связи с явлением коллапса проблема устойчивости пчел к биотическим и абиотическим факторам внешней среды остается одной из ведущих проблем мирового пчеловодства. Несмотря на совершенство методов пчеловодства и интенсивное использование ветпрепаратов для профилактики и лечения инфекционных и паразитарных болезней, гибель семей до и после зимовки всё ещё сохраняется на высоком уровне. Почему же искусственно созданные популяции с генетически детерминированными и эволюционно закрепленными механизмами устойчивости в условиях интенсивного пчеловодства не могут реализовать свой наследственный потенциал?

При ответе на поставленный вопрос необходимо учитывать, что процесс domestikации пчёл сопровождался изменением условий их обитания, которое связано с переселением диких пчёл из дупла в резко отличающиеся условия ульевого содержания. Это сопровождалось изменением температурного режима и режима влажности и требовало от пчелиной семьи мобилизации значительных сил для адаптации к изменённым условиям. Наиболее значительные колебания температурного режима в условиях ульевого содержания наблюдаются при использовании различных приёмов пчеловодения, связанных с расширением гнезда, частым осмотром, перестановкой рамок и т.д. Ещё опытные пчеловоды прошлого столетия предупреждали нас о том, что одной из причин ослабления пчелиных семей, снижения их устойчивости является изменение температурного режима в условиях ульевого содержания. Одним из первопроходцев ульевого содержания был отечественный пчеловод Ветвицкий Н.М., который обратил внимание на влияние температурного режима в наиболее ответственный период зимовки на состояние семьи. Необычная устойчивость дикой

аборигенной пчелы (темной лесной пчелы) в значительной мере под-держивалась, отбиралась и закреплялась условиями микроклимата дупла (Голуб, 2007). В связи с этим необходимо иметь в виду, что в процессе наследования происходит передача потомству не конкрет-ных признаков или свойств, а лишь возможности их реализации. Эта возможность в ряде случаев определяется факторами внешней сре-ды, то есть фенотип – результат взаимодействия генотипа и условий развития, среди которых температурный режим играет значительную роль. Классический пример влияния температурного режима в пери-од раннего онтогенеза на степень выраженности признака приведен в работе Т. Моргана (Морган, 1919, цит. по Шмальгаузену, 1968). Длина крыльев у плодовой мушки дрозофилы с мутацией *vestigial* (короткие крылья) зависит от температурных условий выращивания личинок. При высоких температурах (32 °С) у мух развиваются крылья почти нормальной длины. При более низких температурах (18–25 °С) крылья становятся практически рудиментарными (рис. 6.1). Температурный фактор способен влиять на норму реакции, т. е. степень выраженности признака, контролируемого генами.

Количественные изменения морфометрических признаков у пчел при различных температурных режимах наблюдала М.Д. Еськова

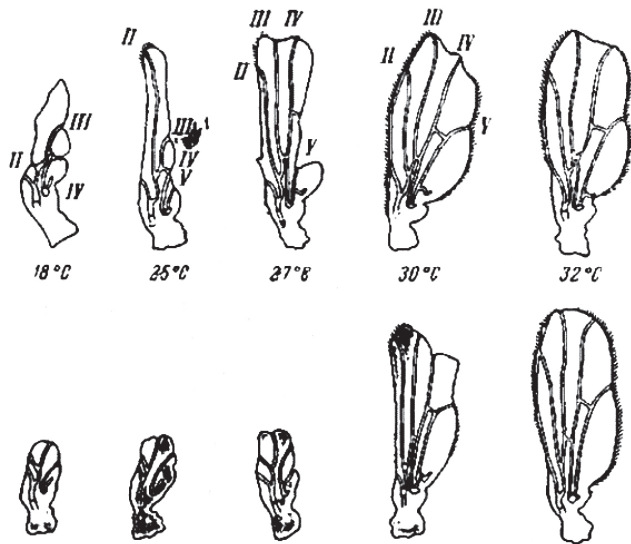


Рис. 6.1. Зависимость формы и величины крыльев у *D. melanogaster* с мутацией *vestigial* от температуры. Верхний ряд – самцы, нижний – самки. (По Шмальгаузену, 1968).

(Еськова, 2010). Согласно автору, у пчел, развивавшихся при относительно высокой температуре, сокращались размеры тела и крыльев, а также увеличивалась длина хоботка. Температурный фактор способен влиять на «норму реакции», то есть степень выраженности признака, контролируемую генами.

Устойчивость – это генетически детерминированное свойство организма обеспечивать жизнеспособность при значительных неблагоприятных воздействиях. Она является результатом взаимодействия множества функционально связанных генов, объединенных в сложные иерархические системы генетических сетей, и факторов внешней среды.

Для формирования устойчивого фенотипа пчел исключительно важным является эмбриональный период развития. В это время отклонение температурного режима от оптимального приводит к нарушению целого ряда биохимических и морфогенетических процессов, и как следствие к снижению неспецифической устойчивости.

Пчелиный расплод в условиях температурного стресса. Температурный стресс – это неспецифическая комплексная ответная реакция организма на экстремальные температурные условия развития, направленная на поддержание внутриклеточного гомеостаза. В отличие от взрослых особей, которые способны длительно выдерживать колебания температуры в широких диапазонах, пчелиный расплод проявляет особую чувствительность к температурным условиям существования. Оптимальная температура в расплодной части гнезда лежит в узком диапазоне – от 33 до 35 °С. Оптимальной считается температура, при которой наблюдается наименьшая гибель появляющихся из расплода пчел. Оптимальный температурный диапазон одинаков как для развития рабочих пчел, так и для развития маток и трутней. По данным Е.К. Еськова (Еськов, 1995), при температуре 33–35 °С до стадии имаго не доживает 2% расплода рабочих пчел, 4% расплода трутней и 6% расплода маток. Верхний предел температурной зависимости лежит на уровне 38–39 °С, нижний – на уровне 28–29 °С. За гранью указанных температур отмечается почти 100%-ная гибель расплода. Зависимость его гибели от температурных условий существования показана на графике (рис. 6.2). Витальный температурный диапазон развития лежит в относительно узком диапазоне – 10 °С.

Разные стадии развития расплода неодинаково реагируют как на колебания температуры в пределах витального диапазона, так и времени этого воздействия. Повышение температуры за пределы оптимума ведет к большей гибели расплода, чем понижение температуры. Раз-

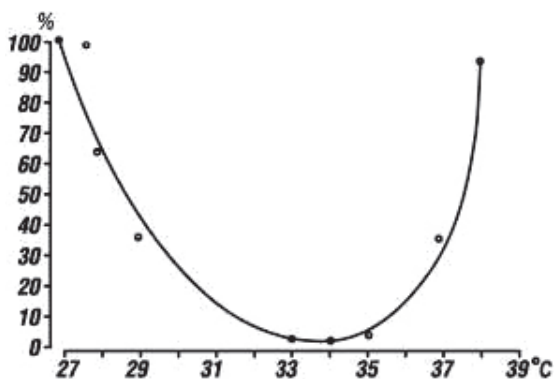


Рис. 6.2. Гибель пчел различных режимов инкубации (% ось ординат) в течение их развития от предкуколки до имаго при относительной влажности воздуха $71 \pm 7\%$ и постоянной температуре (Еськов, 1995).

личные стадии развития неодинаково реагируют на колебания температурных условий.

Эмбриональная стадия. Из яиц, инкубируемых при оптимальной температуре и относительной влажности в пределах 71–82%, вылупляется около 95% личинок. При инкубации при 30 °C – гибель эмбрионов возрастает в 5–8 раз, при инкубации при 38 °C – в 6–10. Однократная (1,5 ч) экспозиция яиц при 0 °C ведет к гибели лишь 16% эмбрионов; остальные (около 80%) нормально заканчивают постэмбриональное развитие выходом пчел из ячеек.

Личиночная стадия развития. На личиночной стадии развития пчелиный расплод нуждается в частых контактах с пчелами, поддерживающими оптимальный температурный режим в улье. Как было установлено, при инкубации в искусственных условиях динамика гибели личинок в течение первых трех суток существенно не отличается при колебаниях температуры в диапазоне 7,5 °C. От колебаний температуры существенно зависят изменения массы личинок: при 29 °C за первые сутки масса тела уменьшалась в среднем на 2%, на 2-е – на 6,8% и на 3-и сутки – на 14% от нормы. При 34 °C изменения были выше в среднем в 1,8 раза, при 37 °C – в 2,5 раза. Гипертермия многократно сокращает продолжительность жизни личинок и предкуколок. Через сутки жизни при 29,5 °C на стимуляцию током не реагировало 4% особей, на 2-е сутки – 6% и на 3-и сутки – 10% особей; при 37 °C

отсутствовала реакция на стимуляцию током у 14, 20 и 39% особей, соответственно. Несмотря на то, что время жизни некоторой части личинок значительно превосходило продолжительность личиночной стадии, ни одна из них не превратилась в куколку.

Колебания температуры на более поздних стадиях развития, например, на стадии запечатанного расплода, хотя и не влияют на сам процесс органогенеза, тем не менее сопровождается гибелью большого числа уже почти сформированных особей. Инкубация запечатанного расплода при 28 °С приводит к элиминации 62% развивающихся пчел. Пчелы погибают, не предпринимая попыток выйти из ячеек, хотя и достигают того этапа развития, на котором возможна локомоторная активность.

Таким образом, все стадии доимагинального развития высоко чувствительны к колебаниям температуры за пределами оптимальной. При этом, как уже отмечалось, гипертермия ведет к более серьезным последствиям, чем гипотермия.

Температурный стресс как реакция адаптации. У всех животных переключение нормальной жизни клетки на стрессовую осуществляется на многих уровнях регуляции. Тепловой стресс (тепловой шок) – это стресс, вызванный изменением термического состояния организма при нагревании, охлаждении или длительного воздействия высоких или низких температур. Температурный стресс сопровождается репрограммированием генома – тормозится экспрессия генов, активность которых характерна для жизни клетки в нормальных условиях, и активируются гены стрессовых белков (Жимулев, 2007). При воздействии высоких температур (мРНК – информационная РНК) кодирующие стрессовые белки обнаруживаются уже через 5 мин от начала стресса, а сами стрессовые белки появляются в клетках уже через 15 мин после начала теплового шока. Их синтез активируется, достигая максимума за 2–4 ч теплового шока, а затем при снятии его, начинает ослабевать. После окончания температурного воздействия синтез специфических белков прекращается, и возобновляется синтез белков, характерный для клетки при нормальных температурных условиях. При этом мРНК стрессовых белков быстро разрушаются в клетках, тогда как сами белки могут сохраняться существенно дольше, обеспечивая, по-видимому, повышение устойчивости клетки к нагреванию.

Длительное пребывание клеток в условиях теплового шока обычно также приводит к ослаблению и прекращению синтеза стрессовых белков. В этом случае включаются механизмы регуляции экспрессии генов стрессовых белков по принципу обратной связи.

Стрессовые белки представлены белками теплового шока (БТШ), низкомолекулярными белками теплового шока (нмБТШ), а также рядом ферментов (включая антиоксидантные ферменты). Главная функция БТШ состоит в правильной укладке вновь синтезированных полипептидов и в реукладке неверно уложенных и поврежденных полипептидных цепей.

В отличие от теплового шока холодовой шок в пределах положительных низких температур не вызывает денатурации белков, но ведет к изменению конформации молекул и изменению биохимических реакций. При холодовом стрессе происходит стабилизация вторичной структуры нуклеиновых кислот и, как следствие, ингибирование важнейших генетических процессов (ДНК-репликации, генной транскрипции и трансляции). Снижается активность многих ферментов и общего метаболизма, а также проницаемость мембран, что затрудняет транспорт веществ в клетку. Однако в клетках существует ряд механизмов, помогающих адаптироваться к гипотермии. Так, описан механизм, связанный с разобщением окисления и фосфорилирования в митохондриях. Воздействие низкотемпературного стресса также вызывает синтез специфических стрессовых белков, по аналогии с белками теплового шока, названных белками холодового шока (БХШ), которые вовлекаются в синтез белков и укладку мРНК.

Морфологическим проявлением генетической активности в ответ на повышение температуры на цитологическом уровне является формирование специфически активных районов хромосом – пуфов. Пуфы теплового шока на политенных хромосомах слюнных желез личинок дрозофилы образуются при повышении температуры с 20 до 37 °С там, где они не появлялись при нормальной температуре. Такие же пуфы возникают в ответ на ферментные яды, блокирующие окислительное фосфорилирование. Реакция клеток на индуцирующие факторы очень быстрая. Формирование пуфов начинается уже через одну минуту после повышения температуры, и в течение 20–30 мин они достигают максимальных размеров, а затем в течение нескольких часов регрессируют (рис. 6.3.) (Жимулев, 2007).

Обнаружена еще одна ответная реакция, возникающая под действием теплового и холодового шока, – активизация перемещений мобильных генетических элементов (МГЭ) (Пивоварова, Васильева, 2004). В экспериментах с некоторыми мутантными линиями плодовой мушки *Drosophila melanogaster* была показана активизация перемещений МГЭ под действием высоких и низких температур в период созревания мужских половых клеток (при спермиогенезе). Известно, что такое явление может сопровождаться генетическими эффектами,

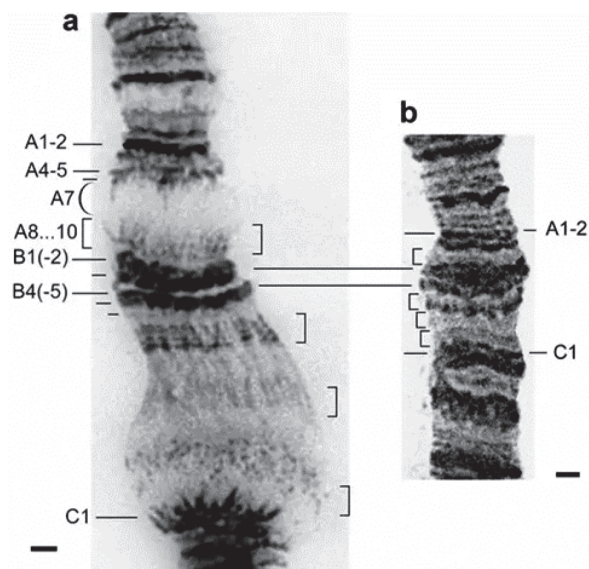


Рис. 6.3. Пуфы теплового шока дрозофилы и соответствующий фрагмент политенной хромосомы без пуфов. а) фрагмент политенной хромосомы после тепловой обработки, б) соответствующий фрагмент без тепловой обработки (контроль). Буквами обозначены группы дисков, цифрами с буквами – отдельные диски (Цит. по Novikov D.V. et al., 2007).

связанными с активацией и инактивацией генов, а также появлением структурных изменений хромосом. В силу этого генетические последствия теплового стресса могут проявляться в ряду следующих поколений.

Температурный стресс и жизнь пчелиной семьи. Приведенные выше данные неопровержимо свидетельствуют о том, что колебания температурного режима выше и ниже оптимальных значений вызывают серьезные изменения на молекулярном и цитологическом уровнях и способны привести к гибели организма. Особенно чувствительными к колебанию температуры оказываются эмбриональные стадии, так как в это время происходят закладка всех органов и становление всех жизненно важных функций организма. Нарушение теплового режима нарушает временную согласованность работы эмбриональных генов, что и является одной из причин проявления летальности пчел, недоразвития органов и снижения показателей общей жизнеспособности отдельных особей. Все это, безусловно, сказывается на жизнеспособ-

ности пчелиной семьи в целом. Пчелы, пережившие тепловой или холодовой стресс, по всей видимости, обладают сниженными показателями жизнеспособности, уменьшенной способностью к полноценному выкармливанию потомства и сбору нектара. Систематические температурные стрессы, несомненно, снижают общую неспецифическую и специфическую устойчивость пчелиной семьи.

Ряд приёмов так называемого «интенсивного» пчеловодства – ранняя выставка на облет, раннее применение противороевых мер: деление семьи пополам, создание отводков, расширение гнезд, а также ранняя постановка магазинных надставок, частый осмотр пчел – ведут к нарушению теплового режима улья. Он изменяется также при частом и небрежном осмотре семей, переносе рамок, при избыточном открытии верхних и нижних летков в ранний весенний период. Последствия температурного стресса наиболее опасны в тот период, когда идет наращивание силы семьи. В летнее время аналогичные последствия испытывает семья при гипертермии. Особенно чувствительными к нарушению оптимального теплового режима оказываются слабые и средние по силе семьи. Именно они в полной мере испытывают все негативные последствия температурного шока, которые существенно ослабляют их силу к моменту медосбора и создают предпосылки для развития заболеваний. Нарушения теплового режима могут быть относительно быстро компенсированы только сильными семьями (за счет активной деятельности рабочих пчел, направленную на вентиляцию или сокращение леткового отверстия). Не зря же основным принципом пчеловодства старых пчеловодов является – «Всё спасение – в сильных семьях».

7. ЗАКОНЫ МЕНДЕЛЯ В ПЧЕЛОВОДСТВЕ

Характерной особенностью наследственности пчелы является неодинаковое, несимметричное наследование признаков у разных полов, вызванное развитием самок из оплодотворенных, а самцов (трутней) из неоплодотворенных яиц. Несимметричное наследование отражается в характере расщепления при моно- и дигибридном скрещиваниях. Приведена таблица мутаций медоносных пчел.



**Грегор Иоанн Мендель
(1822–1884)**

Основные закономерности наследования были описаны Г. Менделем в опытах над растительными гибридами гороха. Успеху исследований способствовал целый ряд особенностей гороха как генетического объекта: способность к самоопылению, что позволяет получать чистые гомозиготные линии, наличие четко выраженных контрастирующих морфологических признаков, возможность получения большого количества потомства от одного растения и проведение посемейного анализа. Будучи опытным пчеловодом и председателем общества пчеловодов г. Брно, в дальнейшем, желая подтвердить обнаруженные им на горохе правила наследования, Г. Мендель предпринял попытки повторить опыты на пчеле, но они не дали желаемых результатов. Об этом этапе работы можно узнать из книги «Johann Gregor Mendel as a Beekeeper» (Vecerek, 1965).

Чтобы проверить законы наследственности, Мендель скрещивал желтую кипрскую матку с местными трутнями (с контрастирующей темной окраской). Он содержал получившиеся пчелиные семьи под наблюдением почти 3 года; они были хорошими производителями меда, но были весьма агрессивны, нападали на людей даже вдали от улья. Мендель отказался от работы с этими пчелами.

Сложность использования пчелы как генетического объекта заключается в отсутствии контроля за спариванием: пчелиная матка один раз в своей жизни вылетает из улья и осеменяется в полете десятью и более трутнями (явление полиандрии), поэтому её потомство оказывается генетически неоднородным.

Важнейшей особенностью наследственности пчелы является неодинаковое, несимметричное наследование признаков у разных полов, вызванное развитием маток и рабочих пчел из оплодотворенных, а трутней из неоплодотворенных яиц. Развиваясь из неоплодотворен-

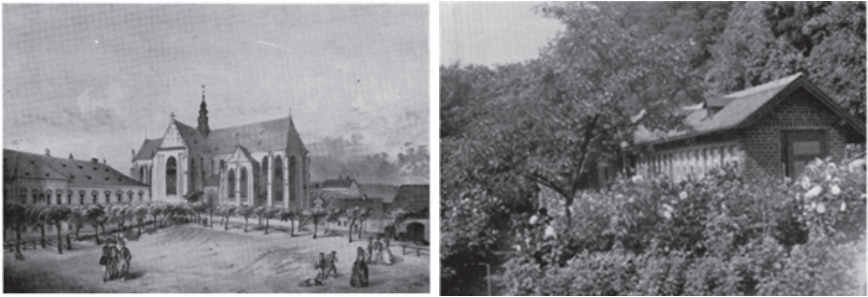


Рис. 7.1. Монастырь в г. Брно (фото слева), медовый домик Менделя за монастырем (фото справа) (Vecerek, 1965).

ных яиц, трутни имеют генотип сходный с генотипом гамет матери. Поэтому при анализе результатов скрещивания мы наблюдаем различное фенотипическое проявление генов у мужских и женских особей.

В настоящее время с применением метода инструментального осеменения появилась возможность проводить генетический анализ, используя неоплодотворенных девственных маток и сперму от трутней с известным генотипом. У медоносной пчелы описано большое количество мутаций, с отчетливо выраженными морфологическими проявлениями. Ниже мы приводим таблицу наиболее распространенных мутаций у пчелы (таблица 7.3).

Для примера мы выбрали встречающуюся у медоносных пчел мутацию *cordovan*, у мутантов окраска тела светло-коричневая, в то время как у диких пчел окраска тела темно-коричневая, почти черная. Проиллюстрируем наследование этого признака окраски тела и особенности проявления законов Менделя при моногибридном скрещивании на медоносной пчеле.

Моногибридное скрещивание при полном доминировании

Пример 1. Гомозиготная кожисто-коричневая матка спаривается с темно-коричневыми трутнями (рис. 7.2 А).

Обозначим гены окраски тела у пчел и представим генетическую схему этого скрещивания: **С** – ген темно-коричневой окраски дикого типа пчел (темный), **с** – ген светло-коричневой окраски мутантных пчел (светлый).

А). генотип Р	♀ сс	Х	♂ С	Б). генотип Р	♀ Сс	Х	♂ с
фенотип	светлый		темный	фенотип	светлый		темный
гаметы	с		С	гаметы	С с		с
F ₁	♀ Сс	:	♂ с	F ₂	♀ Сс :	♀ сс :	♂ Сс : ♂ с
фенотип	темный		светлый	фенотип	темный, светлый,	темный,	светлый

В представленной схеме моногибридного скрещивания гомозиготная матка по рецессивному гену *c*, и имеющая генотип *cc*, скрещивается с гаплоидным трутнем с генотипом *C*, в первом поколении все дочери будут гетерозиготными, иметь генотип *Cc*, а все особи мужского пола, развиваясь из неоплодотворенных яиц, имеют генотип *c*. Второе поколение получается от скрещивания между собой сестёр и братьев первого поколения, в нашем примере гибридные матки производят два типа гамет с генами *C* и *c* и при оплодотворении трутнями-братьями дадут во втором поколении самок *Cc* и *cc*, и гаплоидные самцы F_2 будут двух типов с генотипами *C* и *c*. Расщепление по фенотипу представлено на рис. 7.2.

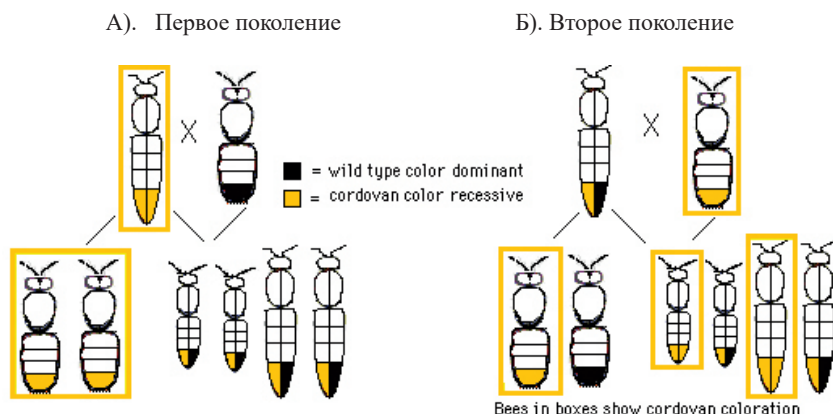


Рис. 7.2. Гомозиготная светло-коричневая матка спаривается с темно-коричневыми трутнями: первое (А), и второе (Б) поколения (<http://www.glenn-apiaries.com/principles.html>).

Таким образом, во втором поколении у самок получается расщепление и по фенотипу, и по генотипу 1:1, среди самцов также имеется различие по окраске тела в соотношении 1:1. Если в дальнейшем эти два типа самцов будут участвовать в скрещивании с гетерозиготной самкой *Cc*, и при соблюдении условий равновероятного участия сперматозоидов в оплодотворении и одинаковой жизнеспособности зигот произойдет расщепление по фенотипу 3:1, а по генотипу 1:2:1, но только среди самок. А среди самцов расщепление по фенотипу 1:1. В этом и заключается своеобразие проявления законов Менделя на медоносной пчеле – несимметричное наследование признаков у самок (рабочих пчел) и самцов (трутней).

В нашем примере на основе проведенных скрещиваний проявляются две закономерности наследования:

– единообразие гибридов первого поколения – все особи женского пола (самки-матки и рабочие пчелы) единообразны, у них проявляется доминантный признак;

– при скрещивании этих гибридов первого поколения с трутнями происходит расщепление потомства по признаку на два фенотипических класса, проявляется рецессивный признак у гибридов второго поколения. Расщепление по фенотипу и по генотипу 1:1.

Анализ потомства женского пола ведется в основном на рабочих пчелах, численность которых большая, и они составляют основу семьи. Но генетическая особенность самцов медоносных пчел, позволяет судить о генотипе матки, и, если среди сыновей матки есть расщепление по изучаемому признаку, это свидетельствует о её гетерозиготности, даже без использования анализирующего скрещивания. Это особенно хорошо иллюстрируется на примере наследования признаков с неполным доминированием или промежуточном наследовании.

Моногибридное скрещивание, неполное доминирование

По промежуточному наследованию или неполному доминированию у медоносных пчел наследуются мерные экстерьерные признаки: – длина хоботка, размеры тергитов, длина и ширина переднего крыла, кубитальный индекс, длина и ширина восковых зеркалец и некоторые другие – и, по-видимому, контролируются они многими генами (Риб, 2008).

Промежуточный характер наследования у пчел может быть проиллюстрирован по признаку «длина волосков», создающих опушённое тело особей медоносной пчелы. Признак «длина волосков» выбран потому, что он может быть очень наглядно представлен на рисунке.

Пример 2. Гомозиготная длинноволосая матка спаривается с коротковолосыми трутнями (рис. 7.3). Обозначим **H** – ген длинноволосости, **h** – коротковолосости.

Схема скрещивания:

генотип P	♀ HH	X	♂ h
фенотип	длинные		короткие волоски
гаметы	H		h
F ₁	♀ Hh		♂ H
фенотип	промежуточные		длинные волоски

Потомство F₁ – все особи женского пола (рабочие пчелы и матки-дочери) наследуют волоски промежуточной длины, а все трутнии

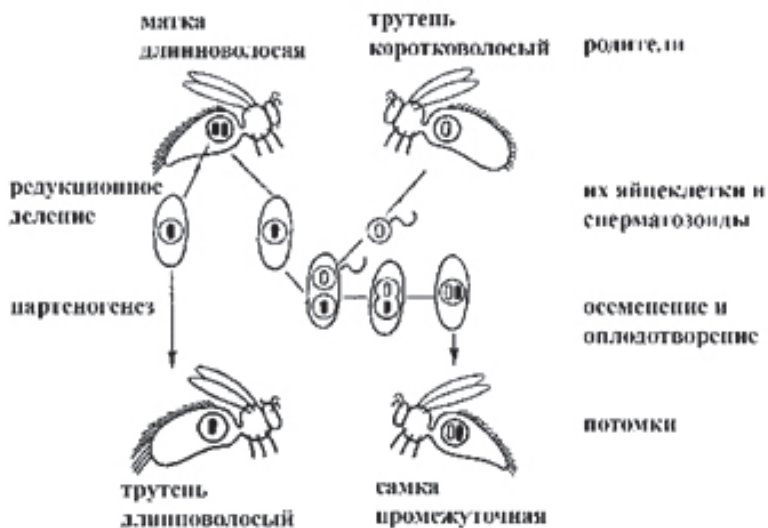


Рис. 7.3. Гомозиготная длинноволосая матка спаривается с коротковолосыми трутнями (первое поколение) (Риб, 2008).

(сыновья) имеют длинные волосы (рис. 7.3). Классического единообразия по признакам в первом поколении не наблюдается. Гетерозиготны, единообразны и имеют промежуточное наследование только самки. Гемизиготные самцы-сыновья наследуют признак матери.

Для получения второго поколения скрещиваем самцов и самок первого поколения: гетерозиготная матка (с волосками промежуточной длины) спаривается с длинноволосыми трутнями (рис. 7.4).

Во втором поколении получим: половина самок (рабочие пчелы) имеют длинные волосы (генотип HH), половина рабочих пчел имеют волосы промежуточной длины (генотип Hh), расщепление по фенотипу 1:1.

Половина трутней имеет длинные волосы, а другая половина трутней имеет короткие волосы.

Схема скрещивания:

генотип F_1	$\text{♀ } Hh$	\times	$\text{♂ } H$
фенотип	промежуточные		длинные волосы
гаметы	\underline{H} \underline{h}		\underline{H}
генотип F_2	$\text{♀ } HH$ $\text{♀ } Hh$		$\text{♂ } H$ $\text{♂ } h$
фенотип	длинные промежуточные		длинные короткие волосы

Таким образом, неполное доминирование гена проявляется только у самок и может быть фенотипическим маркером на отбор по гетеро-

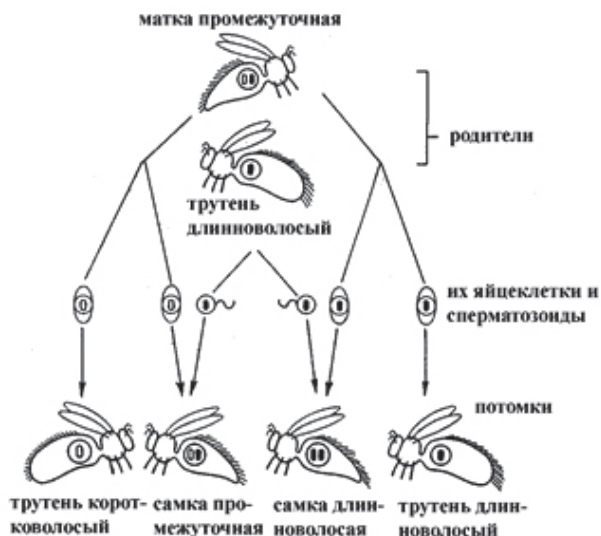


Рис. 7.4. Гетерозиготная матка (с волосками промежуточной длины) спаривается с длинноволосыми трутнями (второе поколение) (Риб, 2008).

зиготному типу. У трутней не может появиться промежуточный признак в виду их гемизиготности. Потомство F_2 имеет расщепление по признаку среди самок и среди самцов в отношении 1:1.

Из приведенного примера, ещё раз убеждаемся, что по проявлению наследуемого морфологического признака среди трутней в пчелиной семье можно выявить, что матка гетерозиготна.

При инструментальном осеменении возможно оплодотворение матки спермой от двух видов трутней. При равновероятном участии сперматозоидов в оплодотворении возможно получение особей второго поколения в следующих генотипических комбинациях (см. схему и рис. 7.5).

Пример 3. Гетерозиготная матка (с волосками промежуточной длины) спаривается с одинаковым количеством длинноволосых и коротковолосых трутней (вариант возможен только при искусственном осеменении маток спермой от трутней двух типов по длине волосков).

Схема скрещивания:

генотип F_1	♀ Н h	X	♂ Н	♂ h		
фенотип	промежуточные		длинные	короткие волосы		
гаметы	<u>Н</u> <u>h</u>		<u>Н</u>	<u>h</u>		
генотип F_2	♀ НН	♀ Нh	♀ Нh	♀ h h	♂ h	♂ Н
фенотип	♀длинные, промежуточные, короткие			♂короткие, длинные волосы		

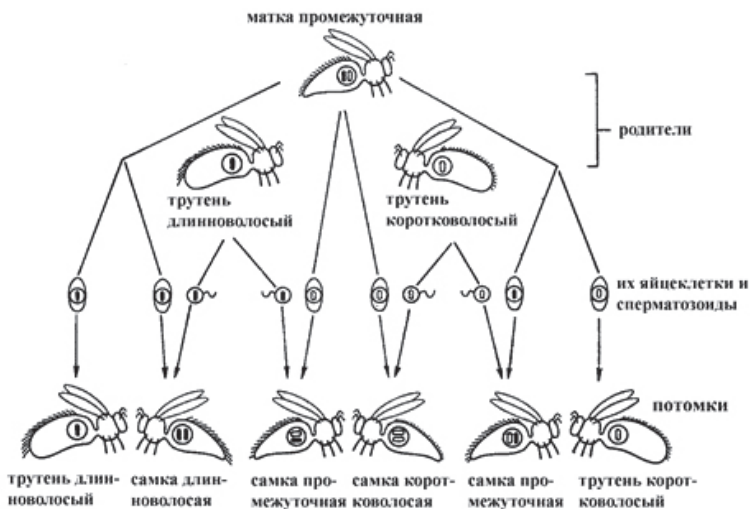


Рис. 7.5. Гетерозиготная матка (с волосками промежуточной длины) спаривается с одинаковым количеством длинноволосяй и коротковолосяй трутней (Риб, 2008).

Таким образом, получаются следующие потомки: расщепление по фенотипу будет соответствовать расщеплению по генотипу 1:2:1. Одна часть длинноволосяй, две части с промежуточной длиной волос и одна часть коротковолосяй пчел. Потомство мужского пола будет двух типов и иметь генотипы гамет маток, т.е. N и n, поэтому половина самцов будут длинноволосяйми и половина коротковолосяйх. Трутни имеют расщепление в отношении 1:1.

Дигибридное скрещивание

Рассмотрим дигибридное скрещивание на примере наследования у пчел гигиенического поведения. Пчелиные семьи с гигиеническим поведением рабочих особей устойчивы к американскому гнильцу – опасному инфекционному заболеванию, при котором инфицированные личинки погибают в старшем возрасте или на стадии куколки. Рабочие пчелы с гигиеническим поведением способны вскрывать ячейки с больными личинками и удалять погибших личинок из улья. Обнаружено, что гигиеническое поведение контролируется двумя несцепленными рецессивными генами (Rotenbuhler, 1964). Ген **u** (**un**sapping cells) позволяет рабочей пчеле обнаружить и вскрыть ячейку сота, содержащую больную личинку. Другой ген **r** (**removing brood**) позволяет рабочим пчелам удалить личинку и выбросить его из улья.

Трутни являются лишь носителями этих генов. Если неплодную гомозиготную матку, полученную из обнаруженной семьи с гигиеническим поведением пчел скрестить с трутнем, несущим гены негигиенического поведения, то все F_1 первое поколение женского пола пчел не будет проявлять гигиеническое поведение, но они будут гетерозиготными и поэтому будут носителями этой черты. Важно помнить, что, когда вы имеете дело с рецессивным признаком, он не будет отображаться в первом F_1 поколении. Но если продолжить отбор по селекционной программе, то можно закрепить этот признак в следующих поколениях. Тогда все пчелы в этой селекционной линии будут его проявлять. Исследователи во главе с Ротенбулером достигли этого с использованием искусственного осеменения в закрытой популяции. Обозначим гены и изобразим схему дигибридного скрещивания гетерозиготной матки по этим признакам с трутнями из отселекционированной линии по гигиеническому поведению. В принципе это будет анализирующее скрещивание для выявления дигетерозиготности или гомозиготности матки по доминантному негигиеническому поведению.

Обозначим:

U – ген неумения вскрывать ячейки с больными личинками

u – ген вскрывания ячеек с больными личинками (uncapping cells)

R – ген неумения выкидывать больные личинки

r – ген умения выкидывать больные личинки (removing brood)

Если матка окажется гомозиготной, то в первом поколении мы имеем следующую схему скрещивания, с негигиеническим потомством F_1

генотип P	♀ UURR	X	♂ ur
фенотип	не гигиенический		
гаметы	U R		u r
потомство F_1	♀ UuRr		♂ UR
фенотип	не гигиенический		

Если же матка окажется гетерозиготной, тогда в первом поколении мы имеем следующую схему скрещивания:

генотип P	♀ UuRr	X	♂ ur
фенотип	не гигиенические		
гаметы	U R U r u R u r		u r
потомство F_1	♀ UuRr	♀ Uurr	♀ uuRr
		♀ uurr	♂ UR
			Ur
			uR
			ur

Для выявления расщепления по генотипу, представим это скрещивание в виде таблицы (табл.7.1.).

Таким образом, среди самок и самцов имеем расщепление по генотипу и по фенотипу 1:1:1:1 (рис.7.6 А). Для закрепления гигиенического поведения, нужно отобрать семьи с гигиеническим поведением

Таблица 7.1. Схема скрещивания гетерозиготной матки с трутнем из отселекционированной линии по гигиеническому поведению

Гаметы ♀	UR	Ur	uR	ur
Гаметы ♂				
ur	UuRr не вскрывают не выкидывают	Uurr не вскрывают выкидывают	uuRr вскрывают не выкидывают	uurr вскрывают выкидывают

пчел, вывести от них маток и скрестить с самцами из этих же семей (рис. 7.6 Б).

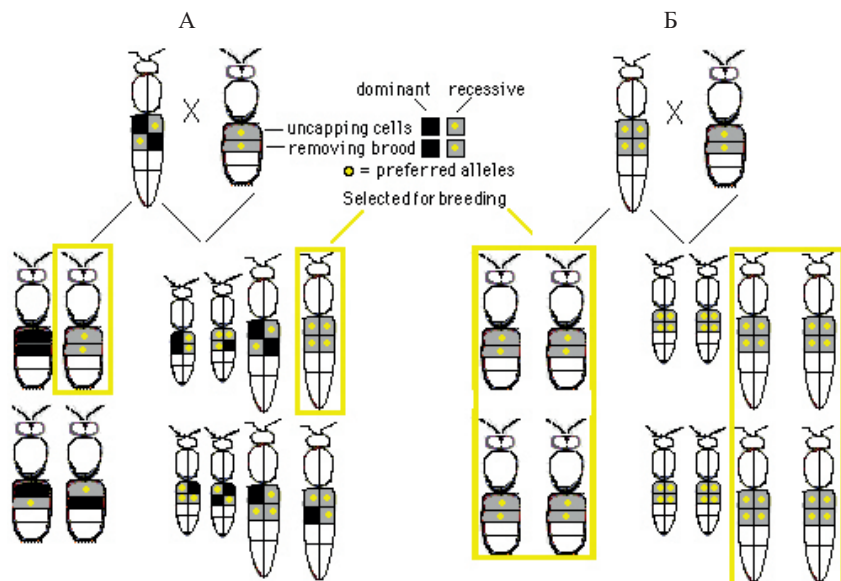


Рис. 7.6. Скрещивание дигибридной матки с трутнем, имеющим рецессивные гены (А). Закрепление признаков гигиенического поведения в потомстве (Б) (<http://www.glenn-apiaries.com/principles.html>).

Если дигибридных маток не скрещивать по вышеизложенной схеме, и они неконтрольно будут спариваться с трутнями от таких же маток, то такие бессистемные осеменения приведут к исчезновению полезных рецессивных признаков по гигиеническому поведению в популяции пчел. Например, дигетерозиготная матка скрещивается с четырьмя трутнями, имеющими различные генотипы, аналогичные генотипам гамет матери и представляющих 4 возможные комбинации генов гиги-

енического поведения. В графе мужские гаметы представлены гаметы четырех типов самцов (табл. 7.2). При таком скрещивании мы получаем расщепление по фенотипу 9:3:3:1, причем интересующий признак появляется только, в одном случае из 16. Поэтому при случайных спариваниях в природных популяциях вероятность появления особей (рабочих пчел) с гигиеническим поведением очень мала. Проиллюстрируем это на схеме. Заполним решетку Пеннета дигибридного скрещивания: дигетерозиготная матка по признакам гигиенического поведения скрещивается с трутнями от таких же дигетерозиготных маток:

генотип P	♀ UuRr	X	♂ UR	♂ Ur	♂ uR	♂ ur
фенотип	не гигиенический					
гаметы	UR	Ur	uR	ur	UR	Ur
	UR	Ur	uR	ur	uR	ur

Генотипы и фенотипы F_1 при таком скрещивании представлены в решетке Пеннета.

Таблица 7.2. Схема скрещивания дигетерозиготной матки с четырьмя трутнями, имеющими различные генотипы

Гаметы ♂♂♂♂	UR	Ur	uR	ur
Гаметы ♀				
UR	UURR не вскрывают не выкидывают	UURr не вскрывают не выкидывают	UuRR не вскрывают не выкидывают	UuRr не вскрывают не выкидывают
Ur	UURr не вскрывают не выкидывают	UUrr не вскрывают выкидывают	UuRr не вскрывают не выкидывают	Uurr не вскрывают выкидывают
uR	UuRR не вскрывают не выкидывают	UuRr не вскрывают не выкидывают	uuRR вскрывают не выкидывают	uuRr вскрывают не выкидывают
ur	UuRr не вскрывают не выкидывают	Uurr не вскрывают выкидывают	uuRr вскрывают не выкидывают	uurr вскрывают выкидывают

Благодаря полиандрии в естественных условиях размножения при свободном спаривании популяция особей медоносной пчелы чрезвычайно разнообразна, даже в пределах одной семьи. Результирующая схема иллюстрирующая гетерогенность пчелиной семьи по многим генам, представлена ниже на рис. 7.7.

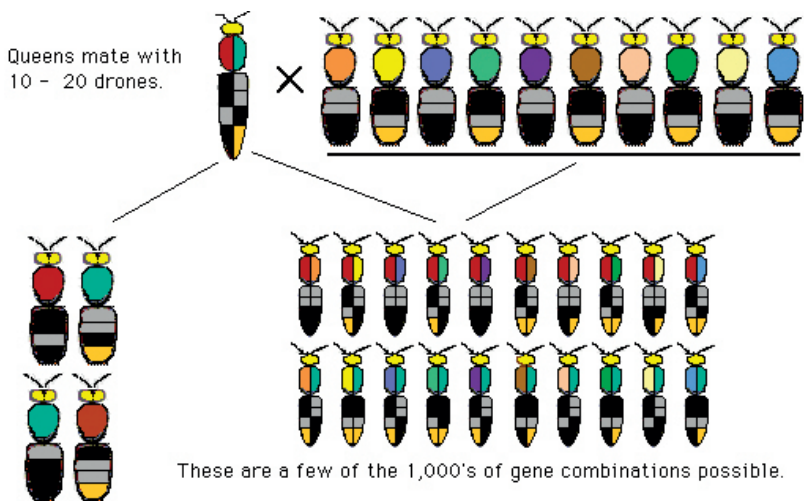


Рис. 7.7. Гетерозиготная матка по гену пола $S_1 S_2$, по генам гигиенического поведения «UuRr», и по окраске тела «Cc» спаривается с 10-ю различными трутнями по гену пола $S_3 \dots S_{12}$ и по трем другим генам «U», «u», «R» «r» (гены гигиенического поведения), «C» и «c» (гены по окраске тела) (<http://www.glenn-apiaries.com/principles.html>).

В этом примере скрещивается гетерозиготная матка по гену пола $S_1 S_2$, по генам гигиенического поведения «UuRr», и окраске тела «Cc» с десятью различными трутнями по другим аллелям пола S_{3-12} , по генам гигиенического поведения «U», «u», «R», «r» и по гену окраски тела «C» «c».

Женское потомство от такого скрещивания (рабочие пчелы) будут иметь 20 различных генотипов, в то время как трутни будут четырех видов, отражая всевозможные комбинации генов матери в её гаметах.

В настоящее время, при использовании инструментального осеменения и генетического анализа, получено множество моногенных мутаций с четким морфологическим проявлением. Эти мутации приведены в таблице 7.3. Так известно большое количество мутантов, различающихся по цвету и форме глаз, по пигментации и волоскам тела, по крыльям и жизнеспособности, по устойчивости к болезням и др.

Таблица 7.3. Перечень мутаций у медоносной пчелы (по Войке, 1997)

Символ гена	Название мутации	Фенотип	Автор/ Характеристика мутантного гена
ЦВЕТ ГЛАЗ			
-	белый	белый	1931, Михайлов
сг	кремовый	белый	1952, Rothenbuhler, Gowen, Park / Эпистатичен к ch (Rothenbuhler et al., 1952) к bk (Mackensen, 1958) и к s ^t (Laidlaw et al., 1964), сцеплен с ре, перекрест 0,33% (Laidlaw et al., 1965)
i	слоновая кость	белый	1952, Rothenbuhler, Gowen, Park / Эпистатичен к ch (Rothenbuhler et al., 1952) к ch ² и к ch ^r (Laidlaw et al., 1953), к bk (Mackensen, 1958) и к s ^t (Laidlaw et al., 1964), частично рецсивен к i ^u (Laidlaw et al., 1965)
igo	розовый	светло-розовый, позже темно-розовый	Laidlaw, неопубл. / Матка гомозиготна, не летает на спаривание
i ^u	темно-коричневый	розовый, позже рыжевато-коричневый	1965, Laidlaw, Tucker / Аллелен i, и частично доминантен к i
la	ларанжа	светло-оранжевый, позже рыжевато-коричневый	1963, Woyke Дает светлый цвет кожи (Woyke, 1973)
s	снежный	белый (нельзя отличить от цвета слоновой кости, кремового и жемчужного)	1952, Rothenbuhler, Gowen, Park/ Эпистатичен к ch (Rothenbuhler et al., 1952) и к bk, полулетален (Mackensen, 1958)
sp	спаде	розовый позже красный (похож на вк)	Laidlaw, неопубл. / Не аллелен bk, ch, сг, g, I, ре, by
s ^t	рыжевато-коричневый	белый, позже ярко-желтый коричневатый	1964, Laidlaw, EI-Banby, Tucker / Аллелен s; s/s ^t – красный цветглаз; эпистатичен к ch и bk, гипостатичен к i и сг
by	байер	белый, позже красновато-оранжевый	Laidlaw, неопубл. / Не аллелен bk, ch, сг, g, I, ре, sp
ch	шартрез	зелено-желтый, позже оливковый-рыжеватый до рыжевато-коричневого	1952, Rothenbuhler / Гипостатичен к i, сг, и к s (Rothenbuhler et al., 1952) Сцеплен с h, перекрест 4,1% (Mackensen, 1958)

ch ¹	шартрез	похож на ch, немного коричне- вое, изменчивый	1953 Laidlaw, Green, Kerr / Аллелен ch, находится под влиянием гена – моди- фикатора «m» и взаимодействуя с ним дает коричневую окраску; генотип ch ¹ / ch ⁺ имеет промежуточную окраску (Laidlaw et al., 1964) рецессивен к ch ^c доминантен к ch ^b (Laidlaw et al., 1964)
ch ²	шартрез	похож на ch, более зеленый, п.- рыжеватый до красно-коричного	1953, Laidlaw, Green, Kerr / Аллелен ch, генотип ch ² /ch ^r дает промежуточ- ную окраску глаз; взаимодействие с ch ² и bk дает глаза цвета буйволовой кожи; гипостатичен к i и s ¹ (Лейдлоу и др., 1953, 1964)
ch ^r	красный	пурпурный, поз- же рыжегато-ко- ричневый	1953, Laidlaw, Green, Kerr Аллелен/ ch, генотипы ch ¹ /ch ^r и ch ² /ch ^r дают глаза промежуточной окраски; вза- имодействие с ch ^r и bk дает розовую окраску; гипостатичен к i (Laidlaw et al., 1953)
ch ^b	бенсон-зе- леный	похож на ch ² , но у с.в. трутней более зеленый, позже оливковый	1964, Laidlaw, EI-Banby, Tucker /Алле- лен ch, рецессивен к ch ¹ , bk/ch ^b дает розовый цвет глаз
ch ^c	вишневый	Рабочие пчелы – темно-красные, трутни желтые до рыжегато-ко- ричневых (очень изменчивый)	1964. Laidlaw, EI-Banby, Tucker / Ал- лелен ch, доминантен к ch ¹ ; взаимо- действие bk и ch ^c дает розовый цвет глаз
m	модифика- тор	коричневатый, как у мутантов ch ¹	1953, Laidlaw, Green, Kerr /Изменяет ch ¹ , взаимодействие ch ¹ и m дает ко- ричневую окраску
bk	кирпич- ный	кирпичный, поз- же темно-крас- ный	Laidlaw, Green, Kerr / Взаимодействие bk и ch ² дает окраску цвета буйволо- вой кожи; взаимодействие генов bk и ch ^r дает розовый цвет глаз (Laidlaw et al., 1953, 1964)
p	розовый	розовый	1963, Kreil, Gowen, Kerlail
d	гранато- вый	гранатовый, поз- же темнее, ближе к дикому типу	1964. Laidlaw, EI-Banby, Tucker / Ча- стично полуплетален
pe	жемчуж- ный	белый	1964, Laidlaw. EI-Banby, Tucker / Сце- плен с cr, перекрест 0,33% (Laidlaw et al., 1965)

ФОРМА ГЛАЗ			
	циклоп	циклопные глаза	1936, Lotmar / Доминантен, редко передается через яйца (Lotmar, 1936 Kerr и Laidlaw 1955, Laidlaw et al., 1965)
rf	уменьшенное число фасеток	атрофированные глаза, из-за уменьшенного числа фасеток	1956, Kerr, Laidlaw / Наследуется комплексно с bk или d при низкой частоте (Laidlaw et al., 1965)
e	безглазие	фасетки отсутствуют	1965, Laidlaw, Tucker / Вызывает стерильность у самцов, в гемизиготе полудетален
ПИГМЕНТАЦИЯ ТЕЛА			
a	альбинос	интегумент без пигментов, незатвердевший, нормальные пигменты глаз	Ruttner / Неполный сперматогенез; полудетален
c	кордован	кордован	1951, Mackensen, Nolan / Окраска тела кожисто-коричневая
Bl	черный	темная окраска – у итальянских пчел	1962, Laidlaw, El-Banby Подавляет желтую окраску тела
ВОЛОСКИ НА ТЕЛЕ			
S	шварцзюхтиг	опушение отсутствует	1940, Dreer / Доминантен к дикому типу
h	безволо-сость	опушение отсутствует	1958, Mackensen / Полудетален у трутней; сцеплен с ch, перекрест 4,1%
H	волоски	волосяной покров отсутствует. Есть только на томентуме	Ruttner / Пыльцевая щеточка хрупкая, Пчелы гетерозиготны и жизнеспособны, приносят уменьшенные обножки. Трутни гемизиготны и летальны
КРЫЛЬЯ			
di	диминутив	маленькие крылья, нормальное жилкование	Laidlaw, неопубл./ Пчелы и трутни летают, издавая высокий, пронзительный звук, гомозиготные пчелы не летают
D	поникшие	сплюснутые, разделенные крылья, не способны к полету	1952, Rothenbuhler Gowen, Park / / Доминантен к дикому типу, летален в гемизиготе и в гомозиготе
Rw	рудиментарное крыло	атрофированные крылья	1953, Nachinoe, Oshini / Доминантен к дикому типу; сцеплен с I, перекрест 31%

sh	укороченное	короткие крылья, пчелы не могут летать, жилкование аномальное	1956, Kerr, Laidlaw Полулетален (Laidlaw et al., 1965)
tr	усеченное	крылья выглядят так, как будто их срезали посередине, пчелы не могут летать, жилкование аномальное	1965, Laidlaw, EI-Banby , Tucker / Полулетален
wr	сморщенное	«скомканные» крылья	1965, Laidlaw, EI-Banby, Tucker / Неполная пенетрантность, увеличивается при комбинации с bk
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ			
	летальный ген	смерть наступает в ранней стадии развития	1953, Hachinoe, Oshini / Сцеплен с Rw, перекрест 31%
S	гены пола	гетерозиготы по аллелю S развиваются в маток, гомозиготы развиваются в самцов в лабораторных условиях	Woyke, 1975
u, r	гены гигиенического поведения	гены в гомозиготном рецессивном состоянии проявляют гигиеническое поведение у рабочих пчел	Rothenbuhler, 1964

8. ГЕНОМ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ *APIS MELLIFERA*

Организация генома пчелы медоносной типична для эукариотических организмов и отличается высоким уровнем внутривнутрихромосомной рекомбинации в процессе мейоза. Цитогенетическая характеристика генома *Apis mellifera* представлена кариотипом с $n=16$, который образован хромосомами, метацентрического, субметацентрического и акроцентрического типов. Отличительной особенностью генома является цитогенетическая нестабильность кариотипа в эмбриональных тканях, связанная с полиплоидизацией.

Систематические исследования генетики медоносной пчелы начались сравнительно недавно. В октябре 2006 г. в «Nature» появилось сообщение о завершении работ по секвенированию генома медоносной пчелы *Apis mellifera*. В исследованиях принимали участие 90 лабораторий мира. Пчела стала третьим насекомым после плодовой мушки *Drosophila melanogaster* (модельного генетического объекта) и малярийного комара *Anopheles gambia* (переносчика тропической малярии), чьи геномы удалось полностью прочесть (The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006). Исключительный интерес к геному пчелы, связан не только с её ролью поддержания биологического разнообразия экосистемы, не только её участием в жизнеобеспечении человека, но и её значением как биологического объекта, который может быть использован в качестве модели социальной организации и изучения явлений наследственности на над организменном уровне.

Термин «геном» был предложен Г. Винклером в 1920 г. для описания совокупности генов, заключенных в гаплоидном наборе хромосом одного биологического вида. Уже в то время подчеркивалось, что понятие генома в отличие от генотипа является характеристикой вида в целом, а не отдельной особи.

В настоящее время термином «геном» обозначают совокупность ДНК гаплоидного набора хромосом, которые заключены в отдельной клетке зародышевой линии многоклеточного организма. При этом необходимо учитывать и генетический потенциал ДНК всех внехромосомных генетических элементов организма, которые также стабильно наследуются из поколения в поколение по материнской линии, контролируют функции ядерного генома и определяют многие фенотипические признаки.

Следует заметить, что размер генома не коррелирует с биологической сложностью видов и их положением в эволюционной иерархии (рис. 8.1). Например, организмы, характеризующиеся более низким уровнем эволюционной сложности, могут обладать геномом большого размера и, наоборот, некоторые высокоорганизованные виды харак-

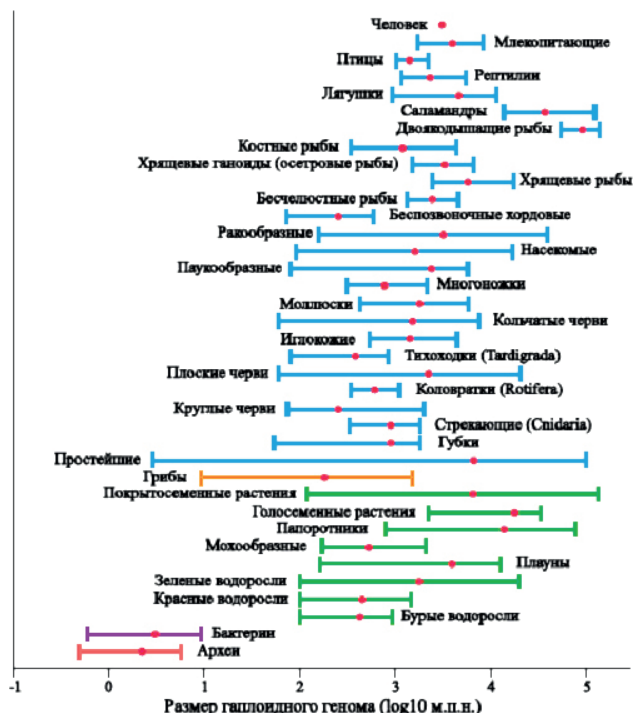


Рис. 8.1. Размеры геномов у представителей разных таксономических групп. Ось абсцисс соответствует величине гаплоидного генома (в \log_{10} м.п.н.) организмов разных таксономических групп. Точками обозначены средние значения гаплоидного генома соответствующих видов (Патрушев Л.И., 2007).

теризуются геномами относительно небольшого размера (Патрушев, 2007).

Организация генома пчелы медоносной типична для эукариотических организмов и характеризуется следующими особенностями.

1. Избыточность ДНК. В среднем только 1% ДНК эукариот несет информацию о структуре белков и рибонуклеиновых кислот РНК (рис. 8.2). У пчелы среди всего многообразия последовательностей выделено лишь около 10 000 тех, которые являются генами.

2. Наличие уникальных и повторяющихся последовательностей. Уникальные последовательности представлены в одном экземпляре, повторяющиеся – различным числом копий. Из общей массы ДНК около 50% – уникальные последовательности, около 50% – повторяющиеся, последние образуют семейства: совокупность частично или

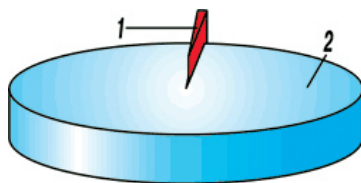


Рис. 8.2. Соотношение кодирующих (1) и некодирующих (2) последовательностей в геноме эукариот. Некодирующая часть представлена в основном интронами, повторами, транспозонами. Некодирующие последовательности, как правило, осуществляют структурную и регуляторную функцию (Патрушев Л.И., 2007).

полностью гомологичных друг другу последовательностей. Геном пчелы характеризуется двумя типами высокоповторяющихся последовательностей Alu I (размер повтора 176 п.н), сосредоточенных в концевых районах хромосом, и семейства Ava I (размером 547 п.н), расположенных в цетромерных районах хромосом.

3. Построение 90% генома по принципу чередования уникальных и повторяющихся последовательностей.

4. Наличие мобильных генетических элементов (МГЭ), представленных транспозонами и ретротранспозонами. Последние в геноме пчелы характеризуются разрозненностью и разной степенью структурной деградации (Nature, 2006). МГЭ имеют большое значение для вида, поскольку их перемещения приводят к спонтанным изменениям – мутациям. Перемещение МГЭ вызывает изменение уровня активности генов.

Видовой особенностью генома *A. mellifera* является высокое содержание А+Т (67% по сравнению с 58% у *D. melanogaster* и 56% у *A. gambia*), CpG (нуклеотиды С и G, связанные последовательно друг с другом через фосфат) и отсутствие наиболее важных семейств транспозонов. Последнее может быть следствием процесса направленной селекции, поскольку дикие природные популяции, как правило, характеризуются большим числом и разнообразием МГЭ. Секвенирование показало, что структурная организация генома *A. mellifera* имеет большее сходство с геномами позвоночных, чем с геномами плодовой мушки и малярийного комара. Сравнение 2404 однокопийных генов-ортологов показало более высокую степень идентичности нуклеотидных последовательностей геномов пчелы и человека (47,5%), чем дрозофилы и человека (44,5%), а также комара и человека (46%) (рис. 8.3).

Определенное сходство выявлено и для генов, участвующих в суточном (циркадном) ритме, РНК интерференции и метилировании ДНК.

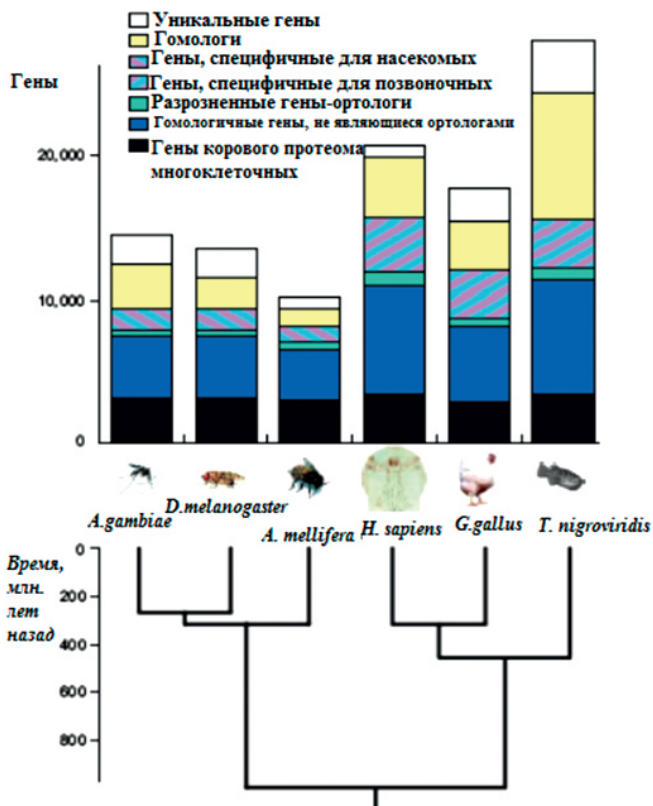


Рис. 8.3. Распределение генов-ортологов в геномах насекомых и позвоночных. Цветом на диаграмме обозначены: черным – гены, составляющие основную часть протеома многоклеточных животных, белым – уникальные гены, не имеющие аналогов в геномах других видов, синим – другие гены-ортологи с неизвестным значением, оранжевым – гены с частичной гомологией, не являющиеся ортологами, зелёным – другие гены-ортологи, представленные в геноме, как минимум, одного из видов насекомых и позвоночных. Гены, специфичные для позвоночных и насекомых, обозначены полосатой линией (The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006).

По сравнению с *Drosophila* и *Anopheles* у *A. mellifera* меньше генов, связанных с врожденным иммунитетом, белками детоксикации и вкусовыми рецепторами, но больше – с рецепторами пахучих веществ. Меньшее число генов, определяющих врожденный иммунитет, удивительно, поскольку общественный образ жизни пчел определяет высокую инфекционную нагрузку на организм. В связи с этим необходимо отметить высокий уровень внутрихромосомной рекомбинации

у *A. mellifera* в процессе мейоза. Частота рекомбинации у пчел на порядок выше частот рекомбинации у дрозофилы, малярийного комара и человека. Можно предположить, что это – отражение одного из генетических механизмов экологической адаптации вида, позволившего ему продвинуться в северные регионы. У пчел обнаружены уникальные гены, ответственные за сбор и переработку нектара и пыльцы; новый класс микроРНК, которые специфически экспрессируются в зависимости от стадии развития и спецификации пчел. Возможно, они участвуют в их социальной диверсификации.

Секвенирование генома – лишь один из начальных этапов исследовательской работы. Функции многих последовательностей, представленных в геноме пчел, до сих пор не определены, так же, как и не выяснены механизмы экспрессии и взаимодействия многих генов, и механизмы взаимодействия белков. Секвенирование генома пчелы открывает новую эру в селекционно-генетических исследованиях, так как позволяет заглянуть в процесс преобразования генома в онто- и филогенезе, отделенный от нас миллионами лет. На смену фенотипическим маркерам (цвет тела, форма крыла и др.) приходят молекулярные, которые не изменяются под влиянием окружающей среды и в то же время в совокупности могут формировать индивидуальные характеристики особей. Наличие молекулярных маркеров позволило приступить к составлению цитогенетических карт для пчелы медоносной, которые необходимы для проведения селекционной работы (Solignac, 2004). Большое значение для характеристики генома пчелы имеют ранее полученные данные о нестабильности цитогенетической системы в онтогенезе.

В свете последних данных молекулярной биологии дальнейшие исследования на основании сведений о структуре генома могут развиваться в двух направлениях: первое – фундаментальное, второе – прикладное. К фундаментальным следует отнести: сравнительный анализ направлений и скорости эволюции геномов у видов, ведущих одиночный и общественный образ жизни; изучение генетических механизмов адаптации к абиотическим и биотическим факторам внешней среды; цитогенетическое картирование; изучение эволюции систем детерминации и развития пола; изучение генетической структуры естественных и искусственно созданных популяций. В прикладном направлении большое значение приобретает генетическая паспортизация естественных и искусственных популяций, а также изучение генетической природы полиморфизма пчелиной семьи; поиск генетических маркеров специфической и неспецифической устойчивости; разработка селекционно-генетических подходов для оценки производителей при инструментальном осеменении маток, апимониторинге.

Несмотря на то, что филогенетически медоносные пчелы далеки от человека, они живут в сообществах, которые соперничают с нашим собственным по сложности, внутренней сплоченности и успеху в решении бесчисленных проблем, связанных с социальной жизнью, в том числе с коммуникацией, старением, социальной дисфункцией. По мнению Робинсона, руководителя проекта секвенирования генома пчелы, изучение молекулярной организации генома пчелы внесет большой вклад в решение актуальных проблем современной медицины в области геронтологии, иммунологии, паразитологии, аллергических, психических и инфекционных заболеваний. (Robinson, 2005).

Цитогенетическая характеристика генома *A. mellifera*. На клеточном уровне на стадии метафазы геном упаковывается в систему метафазных хромосом. Благодаря этому цитогенетические параметры генома каждого вида отражены в кариотипе. Кариотип – это систематизированный хромосомный набор вида, который характеризуется определённым числом и морфологией хромосом. Систематизированный хромосомный набор индивидуальной метафазной пластинки – получил название кариограммы.

Первые сведения о хромосомном наборе пчелы были получены при изучении индийской пчелы *A. indica*. Было показано, что рабочие пчелы и матка диплоидны (имеют двойной набор хромосом, $2n = 32$) и развиваются из оплодотворенных яиц, трутни гаплоидны ($n = 16$) и развиваются из неоплодотворенных яиц (Deodikar G.B. et al., 1959).

Обычно, для анализа кариотипа, используются ткани взрослых особей (яичники, семенники, и клетки нервных ганглий) или эмбриональные ткани дробящихся яиц и личинок раннего возраста (Brito et al., 2009). Первые отечественные исследования медоносной пчелы (*A. mellifera*) по сравнительному изучению кариотипов в половых и соматических тканях маток и трутней были проведены в семидесятых годах прошлого столетия на давленных ацетокарминовых препаратах (Урсу и др., 1970).

Наиболее важным выводом из этих исследований было подтверждение гаплоидной природы хромосомного набора семенников и соматических клеток трутней ($2n = 16$), и диплоидного набора ($2n = 32$) в яичниках и соматических тканях матки (рис. 8.4, рис. 8.5). Авторы получили численные и морфологические характеристики хромосом, отраженные в кариограммах.

Характеристика кариотипа медоносной пчелы (*A. mellifera*) представлена идиограмме. Хромосомный гаплоидный набор пчел состоит из убывающего ряда хромосом различной морфологии, метацентрического, субметацентрического и акроцентрического типов, представ-

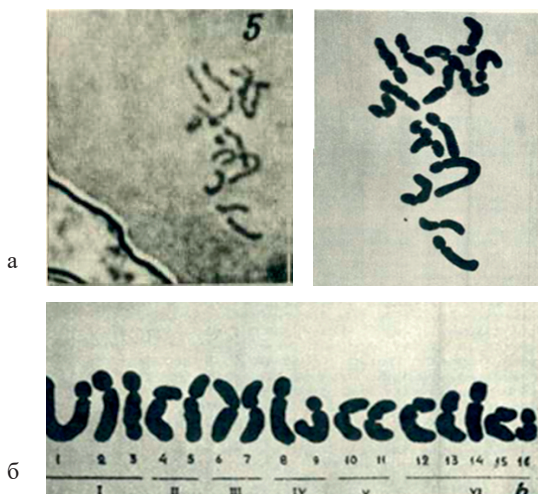


Рис. 8.4. Микрофотография (а) и кариогаммы хромосом яйца (б) неплодной матки (гаплоидный набор): а) неоплодотворенного яйца ($2n = 16$). На рисунке показаны 6 различных групп хромосом, классифицируемые по положению центромерного района (Урсу и др., 1970).

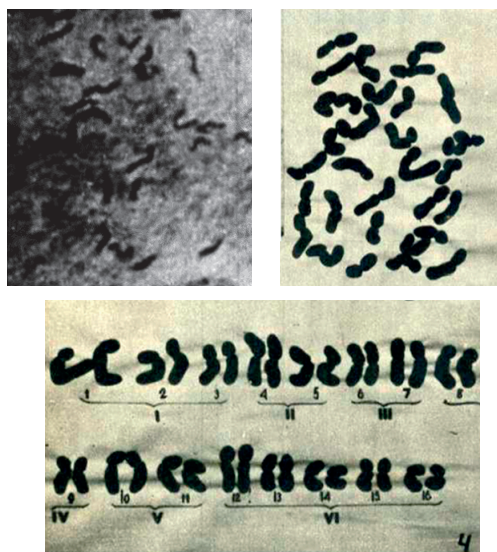


Рис. 8.5. Микрофотография (а) и кариогаммы хромосом (б) яйца плодной матки (диплоидный набор, $2n = 32$). На рисунке показаны 6 различных групп хромосом, классифицируемые по положению центромерного района (Урсу и др., 1970).

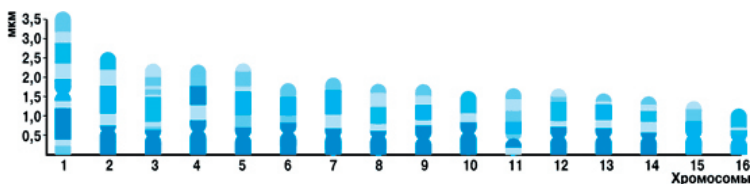


Рис. 8.6. Идиограмма хромосом медоносной пчелы (The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006).

ленных в виде идиограммы (рис. 8.6). Идиограмма – это графическое изображение систематизированного набора хромосом, составленная на основании линейных параметров хромосом, полученных от нескольких представителей вида. Их размер колеблется от 1 до 3,5 мкм. Хромосомы состоят из двух типов хроматина (ДНК, связанной с белками): эухроматина и гетерохроматина. Эухроматин – часть генома, несущая информацию о структуре генов; гетерохроматин выполняет очень важную функцию в регуляции работы генов.

Гетерохроматиновая система каждой хромосомы отличается размерами гетерохроматиновых блоков и характером их распределения и может служить индивидуальной характеристикой хромосомы. Современные методы исследования с использованием гибридизации *in-situ* позволяют легко идентифицировать гетерохроматиновые районы. Крупные гетерохроматиновые блоки хромосом пчёл сосредоточены на теломерных (концевых) районах. Молекулярные характеристики гетерохроматина (тип повторяющихся последовательностей и характер их распределения) обладают большой видоспецифичностью. У *A. mellifera* теломеры и прицентромерная область образованы высокоповторяющимися специфическими повторами, составляющими около 3% генома.

Совершенствование методов приготовления препаратов и использование приемов молекулярной цитогенетики позволяет проводить работы на удлинённых, линейно дифференцированных профазных хромосомах и маркировать их с помощью специальных зондов. Это дало возможность использовать дополнительные маркеры и составить иную систему их классификации. Согласно номенклатуре Левана хромосомы пчелы, делятся на три группы: две хромосомы (хромосомы 1 и 10) метацентрические, 6 субметацентрических (хромосомы 4, 6, 12, 13, 15 и 16) и 8 акроцентрических (хромосомы 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11, 14). По классификации, основанной на длине и соотношении плеч, хромосомы можно разделить на 10 групп от в наибольшей степени выраженных метацентрических хромосом до акроцентрических. Хромосомы содержат разное количество гетерохроматина. Наиболее

богаты гетерохроматином хромосомы 9, 10, 13, 15 и 16. Наряду с ними встречаются хромосомы с низким содержанием гетерохроматина и высоким – эухроматина – хромосомы 3, 8, 11 и 14. Гетерохроматин чаще всего локализован в прицентромерных и теломерных участках хромосомы. Однако для некоторых хромосом пчелы показано отсутствие прицентромерного гетерохроматина (хромосомы 8, 11 и 14).

Краткая характеристика хромосом

Хромосома 1. Является самой крупной хромосомой пчелы. На этой хромосоме локализован участок ядрышкового организатора

Хромосома 2. Для данной хромосомы характерно наименьшее содержание гетерохроматина. Характерной особенностью является наличие двух центромер-подобных перетяжек.

Хромосома 3. Является наиболее акроцентрической хромосомой. Так же, как и хромосомы 8 и 11, имеет обширные гетерохроматиновые участки.

Хромосома 4. Является субметацентрической и относится к группе хромосом с высоким содержанием гетерохроматина.

Хромосома 5 – акроцентрическая хромосома, содержащая как гетерохроматиновые, так и эухроматиновые участки.

Хромосома 6. Несёт ядрышковый организатор на дистальном участке короткого плеча хромосомы. По размеру сходна с хромосомой 8, по морфологической структуре – с хромосомой 4. Во время профазы размер и морфология хромосомы может в значительной степени изменяться.

Хромосома 7 – субметацентрическая, очень богата гетерохроматином.

Хромосома 8 – эухроматическая. Центральные гетерохроматин этой хромосомы подвергается ранней конденсации. Наблюдается значительное сходство хромосомы 8 с хромосомами 6, 9 и 11.

Хромосома 9 – одна из акроцентрических хромосом кариотипа пчелы медоносной, крайне богата гетерохроматином. Характеризуется высокой степенью сходства с хромосомой 7.

Хромосома 10 – метацентрическая хромосома, также относится к группе хромосом с наиболее высоким содержанием гетерохроматина. В значительной степени сходна с хромосомами 8 и 11.

Хромосома 11 – одна из хромосом с наименьшим содержанием гетерохроматина и наибольшим – эухроматина. Характеризуется морфологическим сходством с хромосомами 8 и 14.

Хромосома 12 – несёт ядрышковый организатор на теломерном участке короткого плеча. Имеет сходный размер с хромосомами 11, 13 и 14.

Хромосома 13 – субметацентрическая хромосома с высоким содержанием гетерохроматина. Для неё характерна высокая концентрация теломерного гетерохроматина на длинном плече.

Хромосома 14 – одна из эухроматических хромосом, у которых участок эухроматина имеет большую протяженность.

Хромосома 15 – относится к группе хромосом с высоким содержанием гетерохроматина. Существуют значительные трудности в точном определении класса хромосомы (метацентрическая или субметацентрическая). Характеризуется высокой степенью сходства с хромосомой 10.

Хромосома 16 – наименьшая по размеру хромосома в кариотипе пчелы. Очень богата гетерохроматином. Тем не менее, эта хромосома содержит эухроматин, которого в количественном соотношении больше, чем в хромосомах 13 и 15.

Сравнительные идиограммы и классификация бендов хромосом пчелы медоносной, обработанных DAPI (D), Ba(OH)₂ (C), красителем Гимза (G), AgNO₃ (nr) и R-окрашивание (R) в различные стадии профазы: профаза I (PI), профаза II (PII), профаза III (PIII) и профаза IV (PIV) показана на рис. 8.7.

Нестабильность кариотипа в онтогенезе пчелы медоносной *A. mellifera*

Важной характеристикой цитогенетической системы пчелы медоносной является нестабильность кариотипа на всех стадиях эмбрионального развития, от личинки до взрослой особи. Основное число хромосом в ядрах клеток трутня составляет 16 (один геном), у матки и у рабочей пчелы 32 (по два генома). Отметим, что эти основные числа хромосом обычны для ядер всех клеток пчёл только в первые три дня жизни особи, при эмбриональном развитии в яйце. Начиная же с молодой личинки, многие ткани одна за другой становятся, как и у прочих насекомых, полиплоидными и содержат в ядрах клеток уже не по 1–2, а по 2–4–8 геномов. Полиплоидность образуется в основном, в физиологически активных тканях, например, в средней кишке, в железах, то есть там, где в клетках вырабатывается много специфических веществ.

Явление эмбриональной полиплоидии было подробно изучено Капраловой О.В. в 1976 г. Автор проанализировала яйца, личинки, предкуколки, куколки и взрослые особи маток, рабочих пчёл и трутней *Apis mellifera* L. итальянской расы. Эмбриональная нестабильность кариотипа была показана на всех стадиях развития у матки, рабочей пчелы и трутней (данные приведены в таблице 8.1).

Таблица 8.1. Встречаемость разного числа хромосом на различных стадиях онтогенеза (Капралова, 1980)

Возраст	Всего обследованных метафаз	Количество клеток с соответствующим числом хромосом								
		8	16	24	32	40	48	56	64	72
Трутень	179	23	86	8	34	-	4	-	4	5
4–7 дней										
8–10 дней										
11–14 дней										
15–19 дней										
20–24 дня	38	5	18	4	11	-	-	-	-	-
Рабочая пчела	251	24	119	4	73	2	-	-	-	9
4–7 дней										
8–10 дней										
11–14 дней										
15–19 дней										
20–24 дня										
Матка	151	-	57	15	40	-	-	2	3	5
4–7 дней										
8–10 дней										
11–14 дней										
15–19 дней										
20–24 дня										

Из таблицы видно, что в большинстве делящихся клеток яйца трутня возраста 1–3 дня обнаружены метафазные пластинки с 16 хромосомами, у рабочей пчелы – с 16 и 32 хромосомами, у матки – с 32 хромосомами. Причём частота встречаемости пластинок с 16 хромосомами у трутня выше, чем у рабочей пчелы.

На стадии ранней личинки в клетках соматических тканей у матки, рабочей пчелы и трутня наблюдалось явление полиплоидизации. Встречались метафазные пластинки с 48, 56, 64 и 72 хромосомами. Интересно отметить, что, наряду с этим, в тканях ранних личинок рабочей пчелы и трутня встречались метафазные пластинки, содержащие 8 хромосом. Уровень полиплоидизации клеток соматических тканей не поднимался выше 72 хромосом в клетке. На стадии предкуколки степень полипло-

идизации начинала уменьшаться у всех особей. В процессе дифференцировки 16 хромосом у самца и 32 у самки сохраняются лишь в клетках ранней бластодермы и генитальных органов.

На основании вышеизложенного можно предположить, что 8 хромосом являются основным фундаментальным числом кариотипа, лежащим в основе полиплоидного ряда хромосом эмбриональных тканей.

Эмбриональная нестабильность кариотипа представляет собой явление, описанное у многих видов животных и растений. Его изучение, имеет большое значение. Онтогенетическая нестабильность кариотипа отражает, по-видимому, пути его преобразования в филогенезе.

Согласно гипотезе, впервые высказанной Уайтингом в 1945 году и поддержанной цитогенетическими исследованиями Капраловой О.В., по своему эволюционному происхождению самцы пчёл *A. mellifera* являются автодиплоидами, а самки – автотетраплоидами и истинное фундаментальное число, лежащее в основе эволюции кариотипа пчелы медоносной, равно 8. Именно клетки с таким набором хромосом часто встречаются в эмбриональном материале маток, рабочих пчёл и трутней.

Apis mellifera L. является более поздним представителем рода *Apis*. Её кариотип, произошёл в результате полиплоидизации от пчёл с гаплоидным числом хромосом, равным 8 (*Apis florea*, *Apis dorsata*), которые являются более древними, и характеризуются низким уровнем коммуникации и более примитивным устройством гнезда.

Сходное число хромосом ($2n=32$) обнаружено у родственного вида *A. indica* (синоним – *A. cerana*). Однако у двух других представителей этого рода (*A. dorsata* и *A. florea*) число хромосом у самок $2n=16$, а у самцов $n=8$, что указывает на филогенетически более позднее тетраплоидизацию у *A. mellifera* и у *A. cerana*. У самцов последней имеется 8 пар хромосом, различающихся по размерам, а 32 хромосомы самок можно распределить по таким же размерам на 8 групп по 4 в каждой, что подтверждает их тетраплоидное происхождение (Шаскольский, 1975).

В данном случае полиплоидизацию кариотипа можно рассматривать в качестве цитогенетического механизма адаптации, связанного с продвижением пчелы медоносной далеко на север.

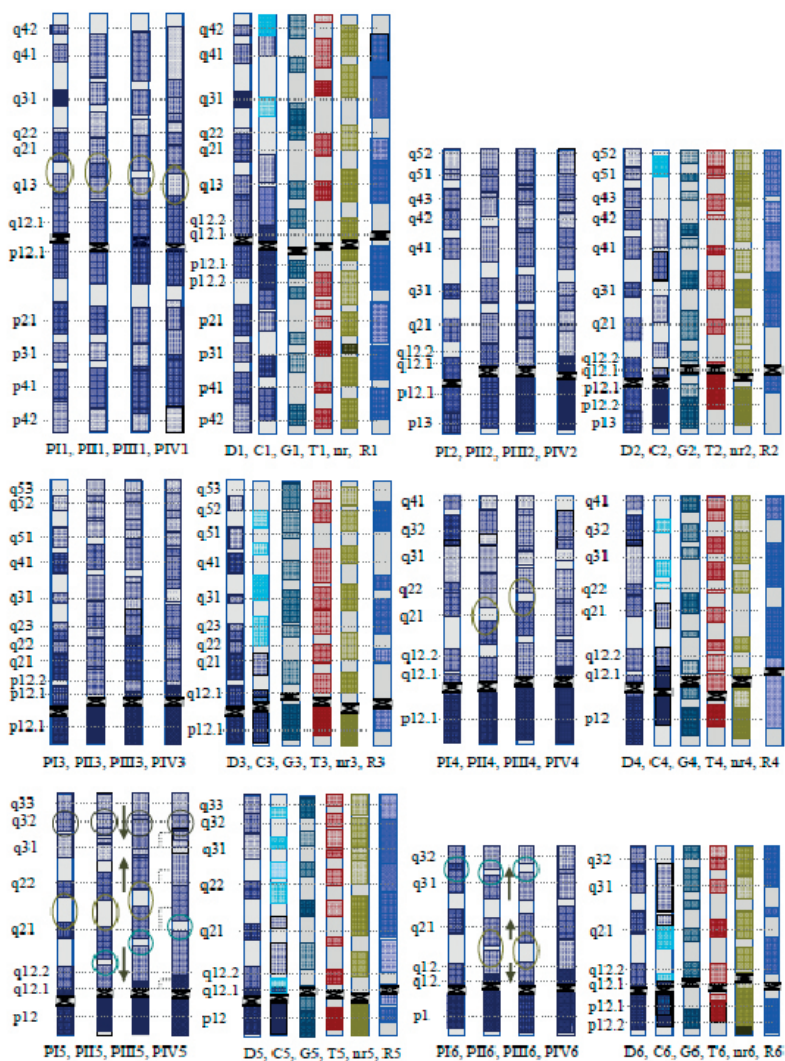
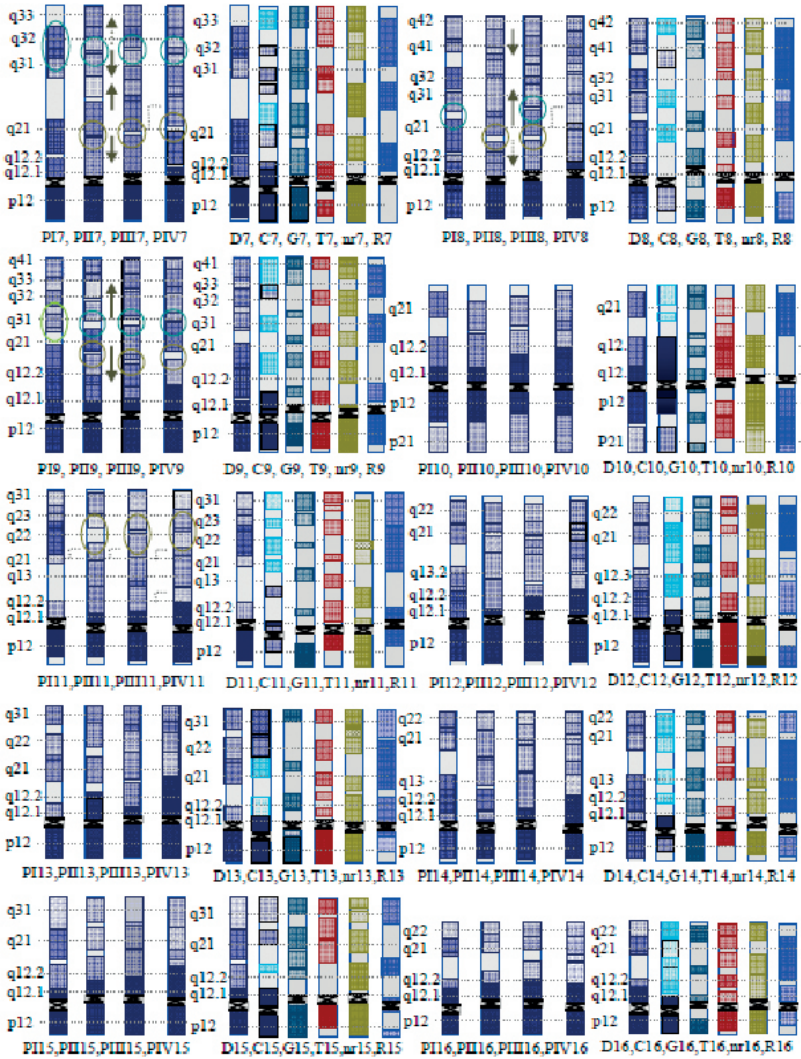


Рис. 8.7. Сравнительные идиограммы и классификация бендов (полос) хромосом пчелы медоносной, обработанных DAPI (D), Ba(OH)₂ (C), красителем Гимза (G), AgNO (nr) и R-окрашивание (R) в различные стадии профазы: профазы I (PI), профазы II (PII), профазы III (PIII) и профазы IV (PIV). Цифры после букв обозначают номер хромосом. Классификация бендов основана на номенклатуре хромосом человека, однако из-за неупорядоченности границ и перекрывания бендов, классификация фокусируется исключительно на гетерохроматиновых бендах. Перичентромерный участок дифференциально охарактеризован с использованием десятичного исчисления. Для коротких плеч хромосом 4–16, т.к. только один перичентромерный участок был обнаружен,



десятичное исчисление исключено, но для них следует рассматривать десятичную идентификацию. В хромосоме 12 перекрывающийся бенд q13.1 был оставлен непомеченным. Овалы и круги на некоторых идиограммах обозначают варьирование длины эухроматиновых бендов из-за эффектов конденсации и гетерохроматизации хромосомы. Эти бенды позволяют предположить некоторые факторы (обозначены стрелками), которые изменяют свои размеры и локализацию и влияют на положение некоторых бендов на хромосомах 5,7 и 9. Этот феномен был описан ранее. Круги и стрелки обозначают только некоторые примеры, т.к. хотя этот феномен был обнаружен на подавляющем большинстве хромосом, в остальных случаях он менее очевиден. (Perez 2009).

9. КРИЗИС В ПЧЕЛОВОДСТВЕ. СОСТОЯНИЕ ГЕНОФОНДА И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПАСПОРТИЗАЦИЯ *APIS MELLIFERA*

Бесконтрольная массовая межпородная гибридизация среднерусской пчелы с южными породами привела к появлению гибридов с разбалансированной генетической системой, сниженной медовой продуктивностью и уровнем иммунитета. С целью выявления и сохранения аборигенной породы - проводится генетическая паспортизация пчёл различных регионов с использованием молекулярных маркеров митохондриальной ДНК.

Состояние генофонда медоносной пчелы является одной из основных причин современного кризиса в пчеловодстве. Под генофондом понимают всю совокупность генных вариаций (аллелей) вида. В качестве причины этого кризиса следует рассматривать стихийный неконтролируемый процесс завоза пчел южных пород в северные регионы, сопровождающийся массовой гибридизацией завозных пород со среднерусской породой.

В настоящее время на земном шаре насчитывается 25 различных пород пчелы медоносной или *Apis mellifera*. Среднерусская пчела башкирской популяции относится к темной лесной породе (*A. m. mellifera*). Среди 25 географических пород только темная лесная пчела освоила огромный регион вдоль лесной и лесостепной зон через всю Евразию.

Apis mellifera mellifera L. уникально адаптирована к холодной продолжительной зиме, устойчива к возбудителям болезней, а также к бурному, кратковременному летнему взятку. За последние два века ареал этой пчелы существенно сократился из-за интенсивной вырубке лесов, гибридизации с другими породами пчел и распространением новых болезней. Среди завозимых пород наибольшее распространение получили пчелы карпатской породы (*A. m. carpatica*), серой горной кавказской (*A. m. caucasica*), желтой долинной кавказской (*A. m. remipes*) и в меньшей степени украинской степной (*A. m. acervorum*) и итальянской (*A. m. ligustica*) пород.

Согласно академику Н.И. Вавилову, генофонд животных и растений, населяющих нашу страну, подобно недрам и водным ресурсам, является национальным богатством и нуждается в постоянной охране. Поэтому проведение мероприятий по сохранению генофонда медоносной пчелы должно рассматриваться на уровне государственной программы.

Актуальность этой задачи очевидна, т.к. результатом массовой гибридизации стало разрушение адаптационных комплексов среднерус-

ской пчелы, повлекшее снижение ее устойчивости и продуктивности. Сложные двойные, тройные и множественные гибриды пчел характеризуются несогласованностью работы генетических систем, и, прежде всего, систем, связанных с сезонной активностью. Так, кавказские пчелы приходят в активное состояние уже в январе месяце, в то время, как среднерусские пчелы еще находятся в глубоком покое. В настоящее время определение породной принадлежности пчелы вызывает нередко затруднения, как у пчеловодов-любителей, так и у ученых.

В связи с массовой гибридизацией и в целях сохранения генофонда аборигенных пород первостепенное значение приобретает генетическая паспортизация пород пчел. В настоящее время проведение генетической паспортизации – актуальная задача не только селекции медоносной пчелы, но и всей современной селекции сельскохозяйственных животных. Под генетической паспортизацией понимается получение генетически детерминированных (индивидуальных и/или групповых) характеристик с помощью морфологических и/или молекулярных маркеров.

Классическим методом для выявления отличий отдельных пород до последнего времени оставался морфометрический анализ, предложенный еще Г.А. Кожевниковым в 1900 г. Этот метод основан на определении длины хоботка, а также на оценке дискоидального смещения в жилковании крыла. В дальнейшем в породной оценке пчел стали использовать окраску пчел, а также поведенческие, или этологические реакции пчел, такие, как злобливость, ройливость, мобилизационная активность на источники медосбора, поведение на соте при осмотре гнезда, прополисование гнезда, печатка меда и др. Однако, большинство этих признаков количественные, и методики их оценки в большинстве случаев несовершенны. Особенно это относится к морфометрическим признакам, которые сильно изменяются под воздействием условий развития.

Большой интерес вызывает использование новых молекулярных подходов к поиску межпородных различий, т.е. ДНК-маркеров, которые не подвержены влиянию факторов внешней среды и поэтому позволяют определять происхождение гибридов. К таким ДНК-маркерам относятся ядерные, в основном микросателлиты (STR-маркеры), и маркеры митохондриальных ДНК (мтДНК). Использование митохондриальных маркеров имеет ряд преимуществ, связанных с особенностями наследования и организацией митохондриального генома.

Митохондриальный геном – это совокупность генов и некодирующих последовательностей мтДНК. Он представляет собой кольцевую молекулу ДНК размером в среднем 16000–20000 пар нуклеотидов

(п.н.). Разнообразие митохондриальных геномов в популяции представляет отдельный генетический ресурс – митохондриальный генофонд.

Особенностью мтДНК как маркера является ее одnorodительское наследование: мтДНК передается по материнской линии (от матери к детям) в связи с поведением родительских митохондрий при оплодотворении. Число митохондрий в яйцеклетке на три порядка выше, чем в сперматозоиде, и даже если отдельные отцовские митохондрии попадают в яйцеклетку, то они блокируются на молекулярном уровне, и зигота получает только материнский набор митохондрий (Kaneda et al., Cummins, 2000). Это обстоятельство приводит к отсутствию рекомбинаций в мтДНК, то есть мтДНК наследуется как единый гаплотип – набор тесно сцепленных локусов (Минченко, Дударева, 1990).

Скорость мутаций в мтДНК примерно в 10–20 раз больше, чем в ядерной ДНК (Brown et al., 1979). В основном это связано с отсутствием эффективных систем репарации и активными окислительно-восстановительными процессами, проходящими в митохондриях. При этом накапливаются преимущественно селективно-нейтральные изменения, вносящие свой вклад в полиморфизм мтДНК (Минченко, Дударева, 1990). Так как рекомбинационная изменчивость в мтДНК отсутствует, то мутационный процесс оказывается единственным путем формирования ее полиморфизма. Сохраняющиеся и накапливающиеся мутации митохондриального генома, таким образом, оказываются отражением в эволюционной истории вида и отдельной особи.

Небольшой размер и высокое содержание в клетках мтДНК значительно облегчает исследование ее полиморфизма и позволяет эффективно изучать разнообразие митохондриального генофонда. В

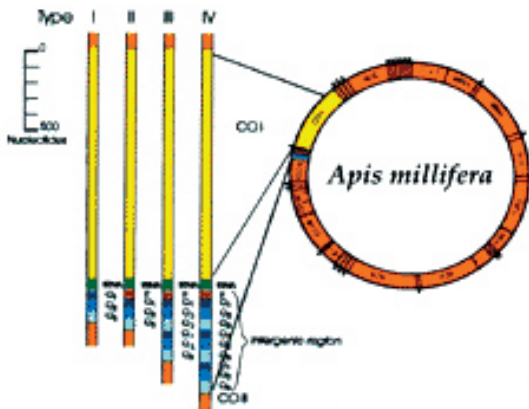


Рис. 1. Структура митохондриального генома *Apis mellifera*. Слева: маркерная область мтДНК – COI–COII разных подвидов пчел. Красным цветом обозначен фрагмент P, синим – фрагмент Q, зеленым – ген мРНК^{leu}, желтым – область гена малой субъединицы цитохромоксидазы I (по Pedersen, 2003).

настоящее время структуру митохондриального генома активно используют для изучения эволюционных связей и определения породной принадлежности медоносной пчелы и других животных (Николенко, 2002). В последнем случае изучают первичную структуру маркерной области мтДНК между генами двух субъединиц цитохромоксидазы: субъединицы I и субъединицы II. Известно, что участок, расположенный между ними, образован последовательностью гена тРНК^{Leu} и сложными повторяющимися последовательностями, которые значительно отличаются от остальных участков по нуклеотидному составу Р и Q элементов (рис. 1). Элемент Р этих повторов длиной 54 п.н. состоит только из АТ-пар, а содержание этих нуклеотидов в элементе Q составляет 93% (Cornuet et al., 1991).

Структура повторов оказалась специфична для подвидов. У темной лесной пчелы исследуемый участок представлен набором фрагментов RQQ длиной около 600 пар нуклеотидов. Он включает 3'-область гена цитохромоксидазы I, ген тРНК^{Leu}, Р-элемент, Q-элемент, Q-элемент и 5'-конец гена цитохромоксидазы II (по Никонорову и др., 1988).

В литературе описано всего несколько случаев более длинных вариантов этой области – RQQQ набор фрагментов (по Николенко, 2003). У пчел южных рас, серой горной кавказской, карпатской и других фрагмент Q представлен только одной копией, а длина изучаемой области мтДНК в результате этого составляет около 350 п.н.

С помощью этих методов было проанализировано состояние генофонда башкирской популяции *Apis mellifera mellifera* L., а также проведен поиск путей его восстановления, сохранения и селекции. В качестве объектов исследования использовались темные лесные пчелы *Apis mellifera mellifera* L. (заповедник «Шульган-Таш» Бурзянского района РБ), серые горные кавказские пчелы *Apis mellifera caucasica* Gorb. (кафедра пчеловодства БГАУ, частные пасеки), *Apis mellifera carpatica* (частная пасека), а также пчелиные семьи с пасек РБ (Республики Башкортостан). Общая выборка ДНК и морфометрических данных, собранных в процессе выполнения работы в 1996–2002 годах, охватывает 43 пасеки и 783 пчелиные семьи. В итоге разработан комплекс методов для анализа генофонда *Apis mellifera mellifera* L., работающий в условиях высокой степени внутривидовой гибридизации медоносной пчелы в России.

Этот комплекс методов позволил объективно оценить состояние генофонда башкирской популяции медоносной пчелы. Было показано, что в большинстве районов РБ частота молекулярных маркеров «среднерусской породы» у пчелиных маток, колеблется в интервале от 0,40 до 0,62, т.е. основная часть ареала башкирской популяции *Apis*

mellifera mellifera L. представляет собой гибридную зону. По данным морфометрического анализа, доля гибридных семей в большинстве регионов РБ колеблется от 0,58 до 0,99. Установлена высокая интенсивность миграции генофондов южных рас и межрасовой гибридизации на основной территории РБ. Показана генетическая неоднородность гибридной зоны, отражающая разную степень перспективности охранных мероприятий.

Исключением из общей картины является бурзянская локальная популяция: 0,98 встречаемости молекулярных маркеров башкирской пчелы и 0,14 – гибридных семей. Таким образом, на территории РБ сохранился как минимум один стабильно существующий генетический резерват башкирской популяции.

Анализ породного состава медоносных пчел лицензированных селекционно-племенных пасек РБ показал, что доля чистопородной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. на этих пасеках составляет 0,18. Критериям племенных пасек соответствуют две пасеки заповедника «Шулган-Таш», объем производства которых недостаточен для компенсации ежегодной убыли башкирских пчел вследствие межрасовой гибридизации.

В результате проведенной работы было выявлено, что акцент на продуктивность в селекции медоносной пчелы за прошедшие 150 лет не дал ожидаемого результата. Пчелиная семья в течение сезона, как правило, реализует свой медосборный потенциал лишь на 20–30%. К тому же медоносная пчела – одно из немногих «домашних животных», обитающих практически весь год в естественной среде, где на первый план выходит устойчивость. Это позволяет предположить перспективность селекции медоносной пчелы с акцентом на устойчивость к среде обитания.

Одной из основных задач научного пчеловодства является разработка программ по восстановительной селекции с использованием молекулярных маркёров. Оптимальной стратегией использования генофонда медоносной пчелы в РБ может быть чистопородное разведение пчел башкирской популяции *Apis mellifera mellifera* L.

Основным направлением современного промышленного пчеловодства являются создание и поддержание материнских и отцовских линий с последующими межлинейными скрещиваниями, с помощью инструментального осеменения и отбор эффективных комбинаций среди межлинейных гибридов.

10. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЕ РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ ГЕНОМА В ОНТОГЕНЕЗЕ

В процессе онтогенеза из генетически родственных личинок пчелы происходит развитие трёх типов особей (матки, рабочие пчелы и трутни), резко различающихся по морфологии и функциональным признакам. В основе этой дифференцировки лежат важнейшие эпигенетические механизмы репрограммирования генома. Обнаружены различия в профиле метилирования половых и соматических клеток пчелы. Важными эпигенетическими регуляторами являются компоненты маточного молочка.

Пчелиная семья представляет собой интересную модель для изучения репрограммирования генома, которое может происходить в процессе эмбрионального и постэмбрионального развития. Это связано с существованием кастового разделения пчелиной семьи, при котором особи, имеющие одинаковый генотип, специализированы на выполнение различных функций и не могут заменять друг друга. Матка и трутни участвуют исключительно в процессе оплодотворения, не могут самостоятельно добывать корм, и их существование возможно лишь в семье, которая поддерживает их жизнеспособность. Рабочие пчелы не способны производить потомство, но выполняют многочисленные функции, связанные с жизнеобеспечением семьи: добыча корма (сбор нектара, пыльцы, прополиса), кормление личинок, строительство сот, регуляция температурного режима, чистка, защита улья и др. Все члены этого социума не могут существовать друг без друга.

Наиболее изученным является репрограммирование генома в процессе онтогенеза, когда развитие диплоидной личинки в сторону матки или рабочей пчелы определяется способом выкармливания этой личинки. Как уже указывалось выше, 3 дня все личинки выкармливаются маточным молочком, а впоследствии маточным молочком выкармливаются только те личинки, которым суждено превратиться в маток. Личинки рабочих пчел переходят на питание пергой и мёдом. В это время происходит репрограммирование генома, приводящее к развитию бесполой особи (рабочей пчелы с недоразвитыми яичниками) или полового поколения – маток.

Репрограммирование генома происходит за счёт эпигенетических механизмов, которые не связаны с изменением структуры гена, а связаны с изменением степени их экспрессии.

Эпигенетические механизмы репрограммирования. Одной из важнейших эпигенетических модификаций является метилирование. Метилирование ДНК и гистонов контролирует все генетические про-

цессы (репликация ДНК, репарация, рекомбинация, транскрипция и др.) (Ванюшин, 2013). Метилирование у эукариотических организмов ткане- и видоспецифично, оно контролируется гормонами и изменяется с возрастом. Профиль метилирования может существенно изменяться при воздействии различных факторов среды. Метилирование гистонов вызывает изменение степени компактизации хроматина и экспрессии генов. Метилирование ДНК осуществляется сайт-специфическими ферментами – цитозиновыми ДНК-метилтрансферазами и приводит к возникновению в ней остатков 5-метилцитозина (m5C) в последовательностях CG, CNG и CNN (где N – любой нуклеотид).

Появление остатков m5C в ДНК существенно сказывается на взаимодействии ДНК с разными, в том числе и регуляторными, белками. Как правило, метилирование блокирует связывание ДНК с такими белками и препятствует транскрипции генов, но в некоторых случаях оно, наоборот, является обязательным условием для связывания белков-транскрипционных факторов. Таким образом, метилирование ДНК может служить сигналом как негативного, так и позитивного контроля за активностью генов.

Другой эпигенетической модификацией является ацетилирование ДНК и гистонов. Ацетилирование является менее стабильным эпигенетическим механизмом по сравнению с метилированием и характеризуется более высокой скоростью изменения по мере прохождения клеткой клеточного цикла.

К молекулярным механизмам эпигенетических преобразований также относятся фосфорилирование, убиквитинирование и РНК-интерференция (подавление экспрессии генов за счёт связывания с малыми РНК).

В настоящее время у пчелы наиболее изученным эпигенетическим механизмом является метилирование. Так, было обнаружено, что различия в питании личинок (матки и рабочей пчелы) оказывают влияние на степень метилирования ДНК, и, как следствие, определяют особенности их развития. В экспериментальных исследованиях ранее было показано, что нокдаун гена метилазы *Dnmt3* с помощью РНК-интерференции у личинки рабочей пчелы приводит к переключению пути развития в сторону матки. Таким образом, под влиянием метилирования происходит репрограммирование генома. Обнаружены также различия в профиле метилирования ДНК мозга между маткой и рабочей пчелой (Lyko et al., 2010).

Репрограммирование генома. Иллюстрацией онтогенетического репрограммирования генома являются многочисленные работы по

изучению изменения профиля метилирования в соматических и половых клетках. Показано, что функциональные последствия метилирования ДНК могут быть различными в зависимости от расположения сайтов метилирования. Если метилирование происходит в промоторном участке, то это приводит к подавлению экспрессии генов (замалчиванию). Напротив, если метилирование происходит в самом гене, то это может быть ассоциировано либо с активной транскрипцией, либо с дифференциальным сплайсингом. У большинства изученных в этом направлении видов метилирование ДНК играет важную роль в регуляции развития, клеточной дифференцировки и регуляции экспрессии генов в различных тканях.

Наглядным примером, является работа по изучению изменения профиля метилирования в онтогенезе. Для изучения явления репрограммирования были использованы различные состояния генома на трёх периодах онтогенеза. Первый этап – это эмбриональные клетки свежеотложенного в ячейку неоплодотворённого яйца (дробление неоплодотворённого яйца у пчел начинается ещё в яйцеводах матки). Второй период – это геном соматических клеток взрослой особи трутня. И третий – это геном зрелых половых клеток и в процессе сперматогенеза. Авторы изучали динамику метилирования. Эмбриональную ДНК возможно зарегистрировать через 24 часа после откладки яйца в ячейку. Через 48 часов из яйца выходит трутнёвая личинка. Через пять суток трутнёвая личинка окукливается. Сперматогенез происходит на стадии куколки и завершается на седьмой день после окукливания (Drewell et al., 2014).

Согласно вышеуказанным авторам, из 10738 аннотированных генов пчелы, 62% генов в яйце, 56% в трутнях и 60% генов в сперматозоидах содержат как минимум один метильный остаток. В итоге, около 5810 генов характеризуются высоким уровнем метилирования во всех пчелиных группах (матки, рабочие пчёлы и трутни) и в гаметах обоих типов. Более того, профиль метилирования 17 из 20 наиболее метилированных генов является одинаковым для маток, рабочих пчёл и трутней, а также для гамет обоих типов.

Было показано, что метилирование происходит в основном в CpG-островках в экзонах генов. Авторы обнаружили, что высокий уровень метилирования CpG-островков характерен для гамет обоих типов. Различия в спектре метилирования были обнаружены в отношении стадия-специфических генов, характерных для ово- и сперматогенеза. Так, 15% метилированных CpG-островков оказались уникальными для овогенеза и 13% – для сперматогенеза. Ранний эмбриогенез характеризуется волнами метилирования определённых сайтов. У взросло-

го организма теряется большая часть меток, которая наблюдается на стадии раннего эмбриогенеза в процессе развития неоплодотворённого яйца. Вероятно, это деметилирование связано с активацией экспрессии соответствующих генов.

Таким образом, метилирование является эпигенетической модификацией, которая широко распространена на всех стадиях развития пчелы. Анализ функции аннотированных дифференциально метилированных генов (генов, по-разному метилированных в клетках различных тканей) показал, что более 50% этих генов участвует в регуляции метаболических, клеточных и регуляторных процессов.

Различия в профиле метилирования между стадиями (яйцо, взрослый трутень и сперматозоиды отражены на рис. 10.1. Так, в яйце обнаружено 3 гена, которые метилированы в значительно меньшей степени (недометилированы) по сравнению с таковыми в сперматозоидах и взрослых трутнях и 289 генов, которые метилированы в большей степени (гиперметилированы). В соматических клетках трутней обнаружено 3207 недометилированных генов и 19 гиперметилированных генов по сравнению со сперматозоидом и яйцом. В свою очередь, в сперматозоидах идентифицировано 13 недометилированных и 54 гиперметилированных генов. В ходе анализа профилей метилирования было обнаружено 13 специфически метилированных генов, участвующих в регуляции сперматогенеза. Показана утрата в этих генах большей части метильных меток, что, очевидно, приводит к активации их экспрессии.

Таким образом, наличие большого количества метильных меток в гаметах обоих типов по сравнению со взрослыми особями свидетельствует о репрограммировании генома и утрате части метильных меток в ходе развития.

В ходе исследования авторами было показано увеличение уровня метилирования в 61 гене в сперматозоиде по сравнению с дробящимся яйцом.

Очевидно, что у пчёл метилирование является главной эпигенетической модификацией, участвующей не только в определении судьбы личинки, но и в регуляции многих других процессов. Посредством метилирования происходит репрограммирование генома. Так, профиль метилирования претерпевает значительные изменения в ходе онтогенеза пчелы. Наибольший уровень метилирования CpG-островков отмечается в яйце, немного ниже он в сперматозоидах. Самый низкий уровень метилирования – в соматических клетках взрослой особи (Drewell et al., 2014).

Другим уровнем репрограммирования генома в онтогенезе является репрограммирование, связанное с изменением социального

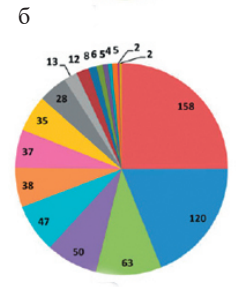
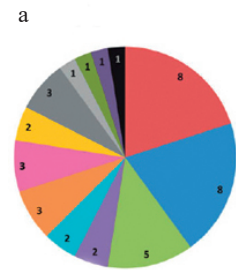
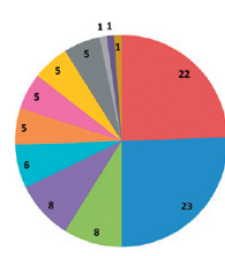
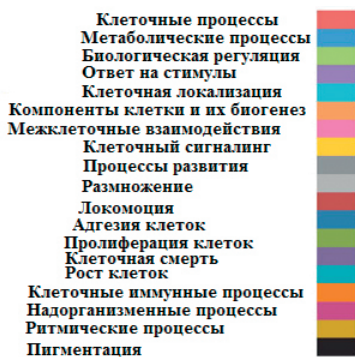


Рис. 10.1. Соотношение дифференциально метилированных генов в яйце, сперматозоидах и во взрослых трутнях. Буквами обозначены гены, которые сверхметилированы: а – в яйце, б – в сперматозоидах, в – во взрослых трутнях (Drewell R.A. et al., 2014).

поведения у взрослых особей рабочей пчелы в зависимости от выполняемых функций: чистка ячеек, выкармливание личинок, поддержание температурного режима, выделение воска, сбор нектара, пыльцы, прополиса и др. Этот уровень репрограммирования ещё практически не изучен, однако было показано, что различия в поведенческих реакциях сопровождаются изменением уровня экспрессии множества генов. Исследование влияния репрограммирования генома на экспрессию генов стало возможным благодаря методу транскриптомного анализа. Транскриптомный анализ предполагает характеристику транскрипционной активности генов путем определения количества РНК-транскриптов (мРНК или малые РНК), синтезируемых с этих генов. Это быстрый и высокоэффективный метод, позволяющий выявить наиболее значимые изменения транскрипционной активности генов, которые связаны с воздействиями внутренних и внешних факторов (в том числе и с изменением профиля метилирования). Смит с соавторами провели сравнительный анализ уровня экспрессии генов у рабочих пчёл, выполняющих различные функции (Smith et al., 2008). Было показано, что у пчёл-сборщиков нектара повышается уровень экспрессии гена вителлогенина, у пчёл-разведчиков – уровень экспрессии инозитол-3-фосфат-киназы. Таким образом, у взрослых рабочих пчёл профиль метилирования ДНК в мозге характеризует-

ся значительной пластичностью и может меняться в зависимости от периода жизнедеятельности, связанного с выполнением конкретной функции (Lyko et al., 2010).

Геномный импринтинг. Обнаруженные механизмы репрограммирования генома у пчелы не являются исключением, а отражают общебиологическую тенденцию репрограммирования генома, наиболее подробно описанного у млекопитающих. В основе репрограммирования генома лежат эпигенетические механизмы развития, которые обнаруживаются на всех этапах онтогенеза. И каждая последующая стадия онтогенеза определяется эпигенетическими процессами, произошедшими на предшествующей стадии.

Например, начальные этапы эмбрионального развития организма, от оплодотворения до первых делений дробления зиготы, в значительной мере запрограммированы эпигенетическими событиями, которые происходили еще в гаметогенезе. Наиболее масштабная эпигенетическая перестройка происходит в гаметогенезе и в раннем эмбриогенезе, когда практически все эпигенетические метки стираются и переустанавливаются заново. Эпигенетические изменения, происходящие в гаметогенезе, в зависимости от своего родительского происхождения, способны по-разному влиять на уровень экспрессии соответствующих генов. Явление избирательного влияния родительских геномов на уровень экспрессии генов у потомков получило название геномного импринтинга. В процессе репрограммирования отцовский и материнский геномы половых клеток оказывают большое влияние на характер репрограммирования отдельных генов. Геномный импринтинг широко распространён у млекопитающих. У пчелы данное явление длительное время оставалась неизученным. Но после секвенирования генома в 2006 году, пчела стала одним из модельных генетических объектов. И хотя в настоящее время не получены прямые доказательства существования импринтинга в отношении конкретных генов пчелы, всё больше сторонников находит гипотеза о существовании влияния родительских геномов на уровень экспрессии генов у потомков. Предполагается, что отражением отцовского импринтинга является приобретение и утрата метильных меток в процессе сперматогенеза у трутней (Drewell et al., 2014).

Важнейшая роль в репрограммировании генома у пчелы принадлежит компонентам маточного молочка. Маточное молочко имеет очень сложный биохимический состав. В состав маточного молочка входят вода (50–60%), белки (18%), углеводы (15%), жиры

(3–6%), минеральные соли (1,5%) и витамины. В общей сложности в маточном молочке было обнаружено примерно 185 различных органических соединений. Особое внимание привлекают компоненты, которые могут принимать участие в эпигенетической регуляции функции генов и таким образом, изменять направление развития личинки в сторону матки или рабочей пчелы. Главным компонентом маточного молочка является белок *royalactin*. Этот компонент рассматривается ведущими специалистами-биохимиками как один из возможных регуляторов процесса старения и продолжительности жизни (Скулачѳев, 2013). И, действительно, матки при благоприятных условиях могут жить до 5 лет, в то время как срок существования рабочих пчѳл в лѳтний период составляет не более полутора месяцев, а в зимний период – 6–7 месяцев. Исследования свойств показали, что данный белок (массой в 57 кДа) активирует киназу p70 S6, что приводит к увеличению размеров тела у матки, а также к активации репродуктивных органов (Kamakura, 2011). Другим, не менее важным компонентом маточного молочка, является *10-гидрокси-2-ацетилдеценойевая кислота*, которая, ингибирует синтез и активность ДНК-метилтрансферазы (DNMT-3), и гистоновой деацетилазы (HDAC), что активирует экспрессию у маток многих генов, которые не транскрибируются у рабочих пчѳл. Всего обнаружен 561 ген со значительными различиями в метилировании между двумя пчелиными группами (Spannhoff et al., 2011). К дополнительным биологически активным компонентам маточного молочка относятся *жирные кислоты*, обладающие необычной структурой, которые не разрушаются при температуре 40 °С. Эти жирные кислоты являются ингибиторами гистоновых деацетилаз, что способствует экспрессии генов. В составе маточного молочка обнаружены *белки*, богатые метильными группами, что ингибирует активность метилаз и способствует активации экспрессии многих генов у маток. Другими, не менее важными компонентами маточного молочка, являются *АМФ-NI-оксид*, *аденозин*, *ацетилхолин*, *полифенолы* и *гормоны* (тестостерон, прогестерон, пролактин и эстрадиол) (Pasupuleti et al., 2017).

Особый интерес представляет наличие в маточном молочке различных типов РНК. Так, большую часть (51%) всех РНК маточного молочка составляют мкРНК (микро РНК, всего 25 различных типов). В меньшей степени представлены остальные типы РНК: рРНК (рибосомная РНК, 26%), тРНК (транспортная РНК, 17%), мяРНК (малые ядерные РНК, 1%), и 5% РНК маточного молочка остаются неохарактеризованными. Согласно современным представлениям, мкРНК является важным эпигенетическим механизмом, регулирующим функцию

генов и, в связи с этим, может рассматриваться в качестве регулятора процесса дифференцировки личиночного развития в направлении маток или рабочих пчёл (Guo et al., 2013). Присутствие РНК в маточном молочке было обнаружено ещё в 40–50-х гг. XX века советскими исследователями А. Мельниченко и Ю. Вавиловым.

Новое – это хорошо забытое старое. Развитие эпигенетики и признание роли эпигенетических механизмов в регуляции активности генов позволяет нам в настоящее время найти подходы к объяснению целого ряда интересных явлений, связанных с изменением наследуемых признаков под влиянием внешних факторов, в частности, маточного молочка. К таким явлениям относится изменение характера печатки у пчёл. Удивительный эксперимент по определению влияния корма на изменение наследуемых признаков был проведён профессором Тимирязевской сельскохозяйственной академии А. Губиным. Для анализа был выбран не консервативный, морфологический, а более пластичный поведенческий признак – «печатка медовых ячеек» (форма крышечек на заполненных мёдом ячейках). Этот признак очень удобен для анализа. Темные лесные северные пчелы запечатывают каждую медовую ячейку округлой, выпуклой крышечкой. Она лежит над мёдом, отделенная от него небольшой воздушной прослойкой. Серые же горные пчелы с юга накладывают воск прямо на мёд, отчего крышечка кажется мокрой и темной.

В ходе эксперимента в улей с семьёй серых горных пчел ставили рамку с отборным, исправным сотом, и матка засевала его, откладывая в ячейки яйца. На третий день, прежде чем из яиц вывелись личинки, эту рамку переставили в улей с северными пчелами (кормилицами), которые начинали кормить подкидышей, а как только личинки выросли, эти же пчелы запечатывали ячейки с окукливающимся расплодом «чужого засева». Затем сот с печатным расплодом уносили в инкубатор, где из них выводились серые горные пчелы, выкормленные инопородным молочком.

Для исследования влияния корма на способ запечатывания ячеек в улей с партией серых горных пчёл с юга, выкормленных северянками, ставили рамку с медовым сотом, запечатанным южанками. Исследователи процарапывали на этом соте несколько букв, срывая воск с крышечек.

Пчелы быстро ремонтировали повреждения. Было показано, что южные пчелы, выкормленные молочком северных среднерусских пчёл, запечатывали ячейки выпуклой (сухой) печаткой, свойственной пчелам-кормилицам. Таким образом, было установлено, что пчелы,

выращенные и выкормленные в семье другой породы, по своим поведенческим признакам обнаруживали значительное приближение к пчелам-кормилицам.

Известный немецкий специалист по генетике пчел, доктор Ф. Руттнер считал невозможным, чтобы наследственные признаки взрослых, совершенных насекомых могли изменяться под воздействием инопородного корма, полученного на стадии личинок. Решив проиллюстрировать правильность своей теории, доктор Руттнер повторил с некоторыми вариациями подмосковные эксперименты и на основании полученных результатов признал: изменение личиночного корма у пчел может влиять на изменение породных признаков (Руттнер, 1981).

Таким образом, в процессе развития медоносной пчелы происходит репрограммирование генома, которое приводит к тому, что из генетически родственного личиночного материала развиваются три типа особей, резко различающихся по морфологическим и функциональным признакам. Ведущая роль в репрограммировании принадлежит эпигенетическим механизмам, регулирующим набор и уровень экспрессии генов. Направление развития личинки в сторону матки или рабочей пчелы определяется способом питания личинки. Показано, что компоненты маточного молочка участвуют в эпигенетической регуляции экспрессии генов в онтогенезе. Наиболее изученным эпигенетическим механизмом является метилирование. Профиль метилирования характеризуется высоким уровнем пластичности и может претерпевать изменения в ходе онтогенеза.

11. ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АПИМОНИТОРИНГ

Апимониторинг позволяет использовать продукты пчеловодства (мёд, пыльца, перга, прополис, а также тела пчел) в экологическом мониторинге для регистрации солей тяжелых металлов и других генотоксических веществ. Экологический мониторинг с использованием пчел даёт возможность проводить сбор материала в труднодоступных районах для изучения экологического состояния неблагоприятных территорий. В качестве тест-системы для обнаружения летальных эмбриональных мутаций используется гаплоидный трутневый расплод. Вызывает большую тревогу обнаружение в меде следов глифосата – химического препарата, входящего в состав широко применяемых гербицидов.

При оценке степени антропогенного воздействия на окружающую среду особое значение приобретает выбор биологических объектов в качестве тест системы. Это позволяет получить интегральную оценку влияния загрязняющих факторов на биологические объекты не только по уровню их токсичности, но и генетической активности (т.е. учета их возможной тератогенной, мутагенной и канцерогенной активности). Использование медоносной пчелы в качестве индикатора окружающей среды было впервые предложено на 25-м Международном Конгрессе по пчеловодству в 1975 г., который был посвящен вопросу «Пчела и окружающая среда». С тех пор пчела медоносная активно используется в качестве объекта экологического мониторинга. Уникальная социальная структура пчелиной семьи, её связи с окружающей природой, физиологические особенности отдельных особей позволяют комплексно оценить состояние окружающей среды в различных временных параметрах.

Это интенсивно разрабатываемое направление получило в отечественных исследованиях название «апимониторинг» (Какпаков, 2001). В настоящее время намечаются два основных подхода апимониторинга: учет накопления загрязнений в продуктах пчеловодства (мед, пыльца, прополис, воск) и в теле самой пчелы.

Биологические особенности пчелы как тест-объекта для экомониторинга. Хорошо известна важная роль пчелы в поддержании биологического разнообразия и равновесия в экологической системе. Масштабы ее деятельности в этом направлении впечатляют: только для заполнения одной ячейки медом пчела посещает более сотни нектароносных цветков. Природными компонентами сбора пчелы являются нектар, пыльца, смолистые вещества древесных растений, в качестве водных ресурсов используются роса и естественные водое-

мы, все это дает возможность применять продукты пчеловодства для комплексной оценки экологического здоровья местности.

Основные преимущества пчелы как объекта биоиндикации:

- Привязанность пчелы к определенной ограниченной территории радиусом в среднем три километра, обычно используемой пчелами для сбора нектара и пыльцы с растений;
- Использование большой выборки различных представителей флоры (растительной и древесной) для сбора нектара, пыльцы, и смолистых веществ, входящих в состав прополиса;
- Возможность проведения оценки состояния окружающей среды на разных структурных уровнях экологической системы: вода, почва, воздух. Вода, пыльца и нектар, которые собирает пчела с растений, отражают содержание микро- и макроэлементов в почве и сопредельных средах;
- Возможность работать с генетически выровненной, искусственно созданной популяцией, с большой численностью особей (в одной семье от двух до пяти тысяч рабочих пчел);
- Короткий цикл развития (от яйца до имаго рабочая пчела развивается 21 день, трутни – 24, матки в течение 16 суток) позволяет получить за лето более трех поколений;
- Возможность изучения воздействия окружающей среды и антропогенных факторов не только на морфологические, но и на поведенческие признаки. Пчела является социальным животным, общественное поведение ее хорошо исследовано. В настоящее время описано явление массового слета пчел, при котором сильные семьи покидают свои ульи, полные запасом мёда. Это явление получило название «коллапс пчелиных семей». Предполагается, что одной из причин этой массовой трагедии являются антропогенные факторы физической и химической природы, нарушающие естественное поведение пчел;
- Пчелиная семья – мобильная тест система: возможность перемещения пчелиных семей для тестирования в места, недоступные человеку или неблагоприятные для его здоровья;
- Использование пчелы для оценки генотоксичности загрязняющих веществ окружающей среды, позволяет учитывать мутации и морфогенетические изменения в процессе онтогенеза.

Оценка техногенных загрязнений в продуктах пчеловодства.

Пчела связывает отдельные звенья биоценоза в единую систему посредством обмена веществ и энергии в экологической цепи «почва – растения – пчелы – продукты пчеловодства – человек». Показано,

что загрязняющие вещества различной природы (тяжелые металлы, пестициды, антибиотики, нитраты и др.) могут накапливаться в пчелопродуктах (в меде, пыльце, прополисе и теле пчел), оказывая отрицательное воздействие, как на организм самой пчелы, так и на человека. Анализ пчелопродуктов для определения загрязнителей (некоторых тяжелых металлов, радионуклидов и пестицидов) осуществляется в рамках стандартной процедуры сертификации. Продукты пчеловодства вошли в Единый перечень продукции, подтверждение соответствия которой осуществляется в форме принятия декларации о соответствии (утв. Постановлением Правительства РФ от 1.12.2009 г. № 982).

Количественная оценка химических ингредиентов в продуктах пчеловодства, собираемых пчелой, непосредственно содержащих вещества из внешней окружающей среды, а также оценка их влияния на жизнедеятельность самой пчелы изучалась в работах группы Еськова Е.К. (Еськов и др., 2009). Авторами было обнаружено накопление тяжелых металлов (медь, цинк, свинец, кадмий) в почве, растениях и мёде. Оказалось, что в процессе переработки нектара происходит снижение содержания тяжелых металлов в мёде, что связано с их избирательной проницаемостью через стенки медового зобика пчелы и особенностью переработки мёда: перерабатывая нектар, пчела отрыгивает его более сотни раз на кончик своего хоботка, обогащая его секретом слюнных желез. В процессе такой длительной переработки нектара, химические загрязнители адсорбируются тканями пчелы, накапливаясь в основном в жировом теле. Таким образом, несмотря на высокие концентрации загрязняющих компонентов в почве (от 0,7 до 82,0 мкг x 10³/кг) происходит их дальнейшее снижение в цепочке почва – растение – тело пчелы – мёд, что подтверждается данными таблицы 11.1 (Максимов, 2002).

Таблица 11.1. Содержание тяжелых металлов в почве, растениях, пчелах и мёде (Усть-Каменогорск), мкгx10³/кг (Максимов, 2002)

Субстрат	Медь		Цинк		Свинец		Кадмий	
	М	Lim	М	Lim	М	Lim	М	Lim
Почва	25,4	2-64	82,0	6-211	46,0	7-104	0,7	0,1-4,8
Растения	9,7	1-24	68,0	4-182	5,9	0,4-19,3	0,3	0,04-4,2
Тела пчел	3,0	0,4-16,8	39,6	2-78	1,6	0,1-6,3	0,08	0,04-0,42
Мед	0,8	0,05-1,52	1,3	0,1-2,3	0,14	0,01-0,67	0,06	0,05-0,03

Подобные тенденции обнаружены в отношении концентрации нитратов. Показано снижение концентрации загрязняющих веществ в меде по сравнению с их содержанием в теле пчелы. При этом обнаружено, что уровень накопления нитратов выше в образцах (в телах пчел и меде), собранных с полей. Лесной мед и тела пчел имели следовой уровень нитратов (Sayfutdinova, 1997). Эти данные требуют особого внимания в связи с тем, что в последнее время тела взрослых пчел (подмор) используются в народной медицине.

Наиболее перспективным в целях апимониторинга экосистем является использование пчелиной обножки (пыльцы). В отличие от других продуктов она в равной мере, как и организм пчелы, способна накапливать загрязняющие вещества из воды, воздуха и почвы. Более того, спектр пыльценосных растений намного шире медоносных. В настоящее время заготовка в России обножки возросла примерно до 40 тонн, что определяется повышенным спросом, обусловленным ее терапевтическими и иммуностимулирующими свойствами. Пчелы формируют обножку из пыльцевых зерен, которые могут быть контактированы загрязняющими веществами. Обножку, как правило, отбирают до заноса ее пчелами в гнездо, и поэтому она не подвергается воздействиям специфических факторов микроклимата улья (Осинцева, 2002).

В последние годы для оценки токсического воздействия веществ в качестве тест системы используются культуры клеток. Обнаружено что мед из районов с неблагоприятными экологическими условиями, добавленный в питательную среду в концентрации 0,001%, обладал токсическими свойствами, и вызывал гибель клеток в культуре до 26%, в то время как при воздействии меда из благополучных районов гибель клеток составляла 6% (Сайфутдинова и др., 2012).

Пчела как биондикатор генотоксичности продуктов загрязнения. Значимость пчелы в биоиндикации окружающей среды усиливается тем, что на ней можно проводить генетические оценки действия загрязняющих веществ (учет эмбриональных леталей на ранних этапах развития и морфологически видимых мутаций у имаго). Именно поэтому пчела является удобной тест-системой в экологическом мониторинге для оценки комплексных воздействий различных факторов окружающей среды (токсических и генотоксических, канцерогенных, геномодифицирующих, и др.).

Генетическая особенность самцов пчел (трутней) заключается в их гаплоидности (развиваются из неоплодотворенных яиц). Эта особенность позволяет проявиться рецессивным мутациям, те из них, ко-

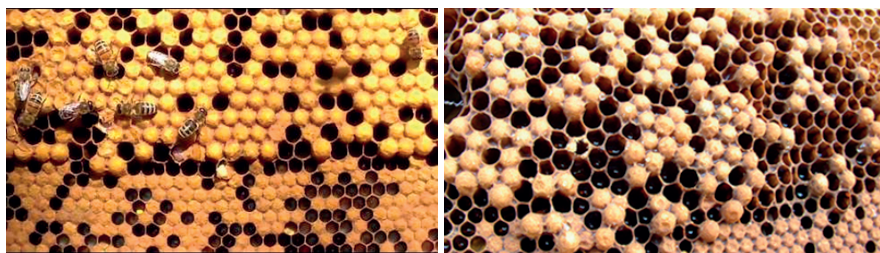


Рис. 11.1. Участки сотов с пестрым расплодом: пчелиного – в нижней части сота, трутневого – в верхней части (<https://img.youtube.com/vi/qlTN8obMyaE/hqdefault.jpg>, http://1.bp.blogspot.com/_7HIKDKGGPyg/TSDnHGbZ00I/3224947103_6752229f29.jpg)

торые связаны со снижением жизнеспособности приводят к ранним эмбриональным летальным или гибели личинок на ранних стадиях. Эти нежизнеспособные личинки легко обнаруживаются рабочими пчелами и выкидываются ими из ячеек, что приводит к появлению так называемого пестрого расплода (чередование запечатанных и пустых ячеек (рис. 11.1). Количественный учет пустых трутневых ячеек в здоровых семьях дает представление об уровне эмбриональных леталей, что в свою очередь может свидетельствовать о наличии мутагенных факторов в окружающей среде.

Таким образом, рамки с трутневым расплодом могут использоваться для учета летальных мутаций. В этом смысле геном трутня представляет собой генетический полигон, на котором идет проявление и элиминация вредных рецессивных мутаций, ослабляющих популяцию (Монахова, 2008). Аналогичные мутации могут проявиться и на уровне диплоидных генотипов рабочих пчел, особенно в условиях близкородственного разведения (инбридинга), при котором значительно увеличивается вероятность перехода рецессивных мутаций в гомозиготное состояние. Те из них, которые связаны со снижением жизнеспособности, проявляются также по появлению пестрого расплода среди диплоидных личинок рабочих пчел (рис. 11.1). Картины пестрого расплода можно также наблюдать и при некоторых заболеваниях пчел. Однако, в этих случаях личинки развиваются до более позднего возраста и часто остаются в ячейках. Для генетического мониторинга необходимо использовать только здоровые семьи.

Тело пчелы обладает фенотипически четко выраженными генетическими маркерами: окраска тела и глаз, форма крыла, характера их жилкования, степень опушенности и др. Это позволяет использовать взрослых особей для регистрации соматических мутаций. Такие изменения возникают под влиянием неблагоприятных факторов и часто

проявляются в виде спонтанных мутаций в искусственных популяциях пчел. Спонтанный мутагенез является результатом воздействия таких антропогенных факторов как гербициды, пестициды, химические препараты для борьбы с болезнями пчел и др. В литературе описаны случаи появления белоглазых трутней в искусственной популяции среднерусских пчел.

Пчела достаточно хорошо изученный, управляемый и направляемый волей человека объект. Породную принадлежность пчел давно устанавливали по параметрам крыльев рабочих пчел. По этим же параметрам можно оценить флуктуирующую асимметрию крыльев пчел, которая используется для выявления влияния неблагоприятных факторов окружающей среды. Флуктуирующая асимметрия (незначительные и случайные отклонения от строгой билатеральной симметрии в процессе развития) является интегральным ответом организма на отрицательные изменения состояния среды (Гелашвили и др., 2001). При этом можно воспользоваться готовыми программами для измерения показателей крыльев, например, CBeeWing.

На рис. 11.2 приведены точки на правом крыле, которые используются в программе CooRecorder. Для вычисления флуктуирующей асимметрии крыльев пчелы необходимо те же самые измерения провести на левом крыле (например, нами использовались расстояния между точками 1.4 и 1.7, 1.5 и 1.6 и др. на рис. 11.2).

Разрешающая способность генетических исследований на пчеле медоносной значительно увеличивается в связи с полным секвенированием её генома в 2006 г. Полное секвенирование генома пчелы позволяет обнаруживать молекулярные маркеры изменчивости и степени полиморфизма популяции под влиянием окружающей среды в онто- и филогенезе (цит. по Монаховой, 2007).

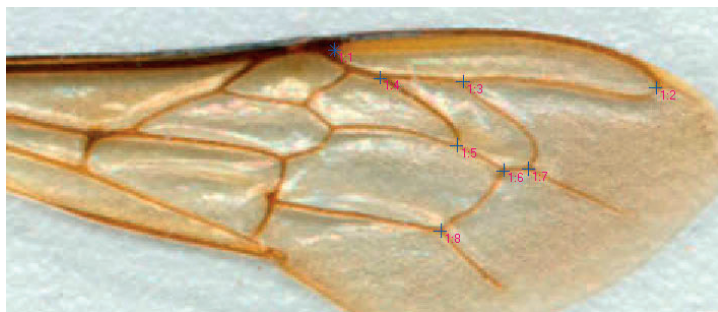


Рис. 11.2. Правое крыло медоносной пчелы, отмечено 8 точек для вычисления индекса крыла медоносной пчелы и флуктуирующей асимметрии (программа CooRecorder)/

Удобство использования медоносной пчелы как тест-системы обусловлено тем, что она сама проводит сбор материала на определенной территории. При этом пчелы могут перелетать в труднодоступные для человека места. Пчелиная семья как живая лаборатория, её особи приносят готовые пробы – задача человека проанализировать, провести оценку на эмбрионах, имаго и продуктах пчеловодства.

Потенциал апимониторинговой сети определяется количеством пчелиных семей. По последним данным в России насчитывается около 3,5 млн. пчелосемей. Широкомасштабные экологические исследования (идентификация загрязнений почв и других сопредельных сред, распределение газообразных фторсодержащих веществ, соединений тяжелых металлов и др.) позволяют использовать пчелу медоносную в качестве биоиндикатора для составления карт загрязненных и экологически чистых территорий (Какпаков, 2001).

В последние годы у мировой общественности вызывают большую тревогу данные апимониторинга, свидетельствующие об обнаружении в мёде продуктов интенсивного сельского хозяйства – гербицидов и пестицидов. Ниже мы приводим данные из обзора научного сообщения портала «Мир пчеловодства» (www.apirworld.ru) о глифосате.

Глифосат в мёде. Сегодня в мире широко применяются пестициды, преподносимые их производителями как безопасные для человека, животных и окружающей среды химические препараты. Однако со временем выясняется, что они далеко не так безвредны, как уверяют их производители. В 2015 году в список препаратов со спорной репутацией попал и гербицид глифосат.

Глифосат (раундап), созданный американской биотехнологической корпорацией Монсанто в 70-х годах прошлого века, сегодня является самым популярным и самым продаваемым гербицидом. За прошедшие неполные полвека в мире было использовано около 10 млн. тонн этого «убийцы сорняков». В настоящее время его производство оценивается в 0,7–0,8 млн. тонн в год.

Одной из главных сфер применения глифосата остается обработка посевов геномодифицированных (ГМ) культур (кукурузы, сои, люцерны, хлопка, сахарной свеклы и т.д.), которым привит ген устойчивости к этому гербициду. Но глифосатом обрабатывают и обычные сельскохозяйственные культуры. В Германии, например, где коммерческое выращивание ГМ-культур запрещено, им обрабатывается 40% посевов. Схожая картина и во многих других странах, включая Россию. Сегодня главным его производителем (70% объема мирового производства) является Китай.

Заявления Монсанто в том, что глифосат безвреден для человека, животных и окружающей среды, опровергаются результатами независимых научных исследований. В марте 2015 года 17 специалистов Международного агентства по исследованию рака (МАИР, IARC), входящего во Всемирную организацию здравоохранения, заявили, что глифосат является «вероятным канцерогеном для человека» (<http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf>).

Остаточные количества глифосата обнаруживают не только в воздухе, почве и воде, но и в пищевых продуктах, в том числе в меде. Американская научно-исследовательская компания Abraxis, например, в начале 2015 года обнаружила остатки глифосата в 41 из 69 протестированных образцов мёда в количествах от 17 до 163 частей на миллиард (ppb). Агентство по контролю пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA), под давлением общественности в 2016 году начало исследовать продукты питания на наличие в них остатков пестицидов. Некоторые из образцов мёда, протестированных FDA, имели остатки глифосата на уровне 107 ppb. В ЕС этот порог составляет 50 ppb (0,05 миллиграмма на 1 кг).

К середине 2018 года ограничили или запретили использование глифосата более 25 стран. В России, к сожалению, пока не слышно голосов за ограничение и запрет применения глифосата. Российские компании производят на основе глифосата, импортируемого из Китая и других стран, 68 гербицидных препаратов для использования в сельском хозяйстве, 27 десикантов и 20 препаратов для применения в личных подсобных хозяйствах. Продажи глифосата в России, по-видимому, составляют около 15–20 тыс. тонн в год.

А.С. Пономарев

По материалам Портала «Мир пчеловодства» www.apeworld.ru

12. КОЛЛАПС ПЧЕЛИНЫХ СЕМЕЙ И ВИРУСНАЯ КОНЦЕПЦИЯ ЕГО ВОЗНИКНОВЕНИЯ

*Массовую гибель пчел (массовая бессимптомная гибель пчел, слет пчел, коллапс пчелиных семей, английский – colony collapse disorder, CCD), следует рассматривать, как заболевание, вызванное патогенными вирусами при наличии стресс-фактора. Наиболее сильным стресс-фактором является клещ варроа, высокая степень поражения которым также приводит к гибели пчелиных семей. Клещ варроа является активатором вирусных заболеваний и переносчиком вирусов как внутри, так и между семьями. Однако нет пока исчерпывающей информации о том, при каких условиях и какие вирусы, взаимодействуя с клещом *Varroa destructor*, вызывают гибель пчел.*

Массовая гибель пчел – глобальная проблема экологической безопасности. В последние годы широкое распространение получила болезнь, сопровождающаяся массовой гибелью пчёл, названная в Европе и латинской Америке коллапс пчелиных семей (КПС). В связи с тем, что от медоносных пчёл зависит не только урожайность около ста сельскохозяйственных культур (ягоды, овощи, фрукты, большое количество масленичных и других культур), но и биологическое разнообразие дикорастущих энтомофильных растений, проблема КПС выходит далеко за пределы пчеловодства. А, по мнению экологов, исчезновение пчёл грозит гибелью человечеству.

Первые сообщения о массовой гибели пчел были получены от пчеловодов западной Европы в 1998 году. С 2006 года пчеловоды США стали отмечать на своих пасеках исчезновение пчелиных семей без видимых на то причин, при этом в покинутых ульях оставался нетронутым корм.

В России первые статистические данные по массовой бессимптомной гибели пчел были получены в 2015 году (Королев, 2015). И если ранее на территории России фиксировались единичные случаи гибели пчелиных семей, то в 2014 году это заболевание имело массовый характер.

По данным исследователей причиной высокой гибели семей явилась вспышка популяции клеща варроа (Масленникова, 2015). Климатические условия в 2014 году в Центральном регионе России благоприятствовали раннему взятку, что побудило семьи к раннему выращиванию расплода, а также к ранней активизации клеща варроа. Быстрый рост популяции клеща варроа и наличие в пчелиных семьях вирусов деформации крыла и мешотчатого расплода привели к гибели около 80% исследуемых семей.

Российские и зарубежные ученые считают, что главной угрозой для выживания пчелиных семей является эктопаразитический клещ

Varroa destructor в сочетании с вирусами (Гробов и др., 2006; Nazzi et al., 2018). Однако, ученые сих пор не могут однозначно определить конкретные причины, приводящие к массовой гибели пчелиных семей, поэтому выдвигают множество различных факторов, которые, по их мнению, могут привести к гибели:

- Применение пестицидов в сельском хозяйстве. Ученые обращают все большее внимание на группу инсектицидов, называемых неоникотиноидами, которые используются для уничтожения вредителей на хлопчатниках, цитрусовых, пшенице, кукурузе и других культурных растениях (Lu et al., 2014). Пчеловодам, подвозящим пчел к цветущим полям, обрабатываемых гербицидом-глифосатом, теперь следует беспокоиться не только о собственном здоровье, но и о здоровье их пчел. Специалисты Техасского университета в Остине (США) установили, что глифосат уничтожает *Snodgrassella alvi* и другие полезные бактерии в органах пищеварения пчел, что ослабляет иммунитет пчел, понижает их устойчивость против патогенов и паразитов. Китайские специалисты пришли к выводу, что потребление личинками медоносных пчел корма, содержащего глифосат, негативно сказывается на их развитии. Результаты этих исследований укрепили подозрения, что глифосат является одним из виновников массовой гибели пчел, зафиксированной во многих странах (Пономарев, 2018).
- Изменение климата и глобальное потепление привели к изменению температурного и влажностного режима, в результате чего снизилось выделение растениями нектара, который является пищей для пчел.
- Также потепление привело к появлению новых паразитов пчел из южных стран. Одним из них является клещ *Varroa destructor* (Anderson, Trueman, 2000), паразитирующий на средней индийской пчеле (*Apis cerana*) в странах Индонезии. В середине прошлого столетия клещ нашел себе нового хозяина – медоносную пчелу (*Apis mellifera*), впоследствии распространился повсеместно (кроме Австралии).

Стремительное распространение клеща также связывают с развитием торговли насекомыми между странами и континентами (Francis et al., 2014).

- Повышение активности вирусов вследствие распространения клеща варроа.
- В последние десятилетия широкое распространение в ряде стран получили генетически модифицированные растения.

- Вырубка лесов, распашка лугов сокращают количество естественных медоносов.
- Отрицательное влияние на пчелиные семьи могут оказать большие площади медоносов, выращиваемых в монокультуре, т.к. пыльца с одного вида растений не может обеспечить разнообразия белков, необходимых для нормальной жизнедеятельности пчелиной семьи.
- В мире ситуация дополнительно усугубляется ростом иммунодефицита пчёл из-за высокой степени гибридизации. Образованные метисы имеют низкую жизнеспособность, им сложно адаптироваться к новым условиям окружающей среды, что в свою очередь приводит к повышению восприимчивости организмов к заболеваниям различной этиологии.
- Необходимость использования высокой степени инбридинга при создании новых высокопродуктивных линий медоносных пчел также приводит к снижению иммунитета пчелиной семьи.
- Некоторые российские и зарубежные ученые считают, что одной из причин ослабления иммунитета насекомых является электромагнитное излучение мобильных телефонов и ретрансляторов сотовой связи.

Очевидно, что постоянное повышение антропогенного воздействия на окружающую среду ведёт к её интенсивному загрязнению и отрицательно сказывается на жизнедеятельности растений и животных. Снижение иммунитета приводит к появлению новых заболеваний, чаще вирусной этиологии. Для их диагностики все более широкое применение в пчеловодстве находят молекулярно-генетические методы анализа на основе ПЦР-полимеразной цепной реакции, а также ИФА-иммуноферментный анализ, РИД – реакция иммунодиффузии, РИФ – реакция иммунофлуоресценции, РДП-реакция диффузной преципитации и др.

Диагностика инфицирования и состава вирусов пчёл с помощью метода ПЦР, особенно в условиях скрытого течения инфекции, позволяет предпринимать более эффективные меры для сохранения здоровых пчелиных семей на пасеках и предотвратить их гибель (Батуев и др., 2010).

Клещ *Varroa destructor* и массовая гибель пчел. Как отмечают российские и европейские ученые (Спрыгин и др., 2016; McMenamin et al., 2018) гибель семей в последнее время практически всегда связана с наличием в пчелиных семьях клеща *Varroa destructor*, а в организме пчел патогенных вирусов.

У пораженных клещом варроа куколок пчел отмечается нарушение регуляции генов, ответственных за синтез дофамина, играющего

значительную роль в развитии нейронов мозга. Вследствие этого у взрослых пчел нарушается восприятие феромона матки, функционирование ее свиты, ориентация на свое гнездо (Kralj et al., 2006), что приводит к снижению количества пчел, вернувшихся в гнездо, в результате семья сокращается, становится нежизнеспособной.

Клещ варроа является активным переносчиком вирусов не только среди взрослых пчел, но и среди личинок, предкуколок и куколок. Это приводит к появлению в гнезде большого количества молодых пчел, инфицированных вирусами, с малой продолжительностью жизни.

Высокая гибель пчел также связана с тем, что клещ *Varroa destructor* является не только резервуаром для вирусов, но и ослабляет иммунитет пчел, способствуя развитию вирусной инфекции. Во время инвазии у пчёл наблюдается иммуносупрессия со снижением уровня экспрессии генов, кодирующих антимикробные пептиды (гликозидазы, дефензины) и ферменты (фенолоксидазу, глюкозооксидазу, глюкозодегидрогеназу и лизоцим). При снижении активности глюкозодегидрогеназы в организме пчелы наблюдается большое количество гемоцитов с вирусными частицами в них (Yang X. и Cox-Foster, 2007). Вирусы, активно размножаясь в организме ослабленной пчелы, приводят к значительному сокращению ее жизни, а впоследствии к гибели всей семьи пчел.

Вирусы пчел. До недавнего времени обнаружено 24 вида вирусов пчёл, из которых 7 видов РНК – вирусов считают патогенными и относятся к порядку Picornavirales. (В ближайшее время данный список будет несомненно дополнен в связи с исследованиями медоносных и других видов пчёл с помощью метагеномного анализа и высокопроизводительного секвенирования (Galbraith et al, 2018).

- 1) DWV (Deformed W V, вирус деформации крыла)
- 2) BQCV (Black Queen C V, вирус черных маточников)
- 3) KBV (Kashmir B V, кашмир вирус пчел)
- 4) SBV (Saccular B V, вирус мешотчатого расплода)
- 5) IAPV (Acute Paralysis Virus, израильский вирус острого паралича)
- 6) CPBV (Chronic B P V, вирус хронического паралича пчёл)
- 7) APBV (Acute B P V, вирус острого паралича пчёл)

Болезни, вызываемые вирусами, составляют у пчел большую часть общепризнанных особо опасных. До 60–70 годов прошлого века из всех указанных вирусов только повсеместно распространенный вирус хронического паралича вызывал периодически явные признаки поражения в отдельных странах у 1–2% семей пчел. Остальные вирусозы протекали, как правило, в виде инаппарентных инфекций. Однако эпизоотическая ситу-

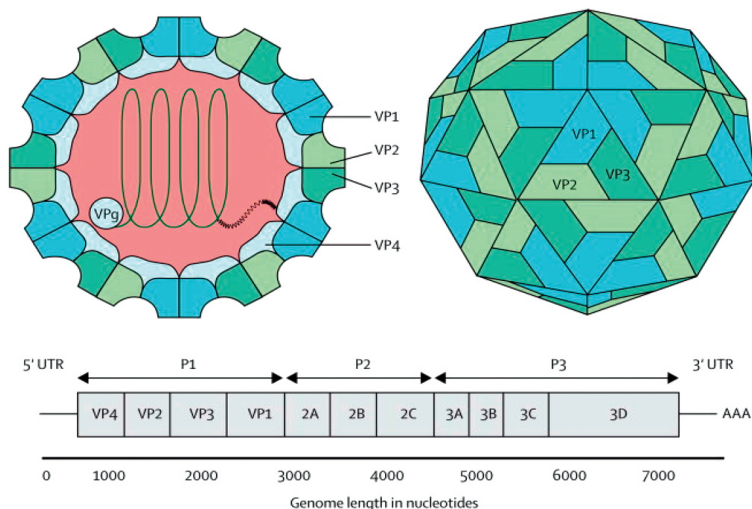


Рис. 12.1. Структура вириона вирусов семейства Dicistroviridae (zhihu.com).

ация резко изменилась с появлением и распространением клещей варроа, выступивших в роли активаторов репликации вирусов и их переносчика, результатом чего явилась повсеместная гибель тысяч семей пчел.

Попадая в организм пчелы, вирусы могут находиться в нем длительное время в скрытой (латентной) форме и передаваться от особи к особи без признаков заболевания. Однако, при наличии различного рода стрессов, ядохимикатов в окружающей среде и гнезде, резком повышении или понижении температуры, уменьшении кормовой базы и т.д., вирусы начинают интенсивно размножаться и поражать клетки различных органов пчел, что приводит к их гибели. Активация клещом латентных вирусных инфекций приводит к высокой смертности пчел от ранее неизвестных вирусов.

Морфология и структура вирусов пчел. Вирионы вирусов пчел представляют собой изометрические частицы диаметром в среднем 13–30 нм. Форма вирусных капсидов очень сходна по морфологии, вследствие чего их очень трудно отличить с помощью электронного микроскопа. Внешняя оболочка *Picornavirales* состоит из 60 повторяющихся протомеров, каждый из которых состоит из трех субъединиц подобных друг другу по структуре белков VP1, VP2, VP3. У некоторых вирусов (семейство *Dicistroviridae*) присутствует еще меньший четвертый белок VP4, который расположен на внутренней поверхности вериона и, вероятно, связан с геномной РНК (рис. 12.1). Белки капсида играют важную роль в защите вирусной РНК от действия РНКазы, не-

благоприятных условий, в определении специфичного хозяина вируса, а также участвуют в тканевом тропизме.

Вирусы медоносной пчелы имеют сходство в последовательностях генома, особенно хеликазы, протеазы и полимеразных доменов полипротеина репликазы, а также сходное расположение этих трех доменов. Геном всех вирусов представлен одной молекулой одноцепочечной (+) РНК размером 7,2–10,1 тыс. нуклеотидов, связанной с капсидными белками. Геномная РНК полиаденилирована на 3'-конце и имеет белок VPg, связанный ковалентно с 5'-концом. Длина поли(А)-хвоста генетически определена и варьируется у разных вирусов. На 5'-нетранслируемой области содержится особая вторичная структура РНК, регуляторный участок IRES – участок внутренней посадки рибосомы, вовлеченный во внутреннюю инициацию трансляции. Белок VPg служит для стабилизации 5'-конца геномной РНК, участвует в репликации РНК, трансляции и, вероятно, выполняет сигнальные функции при инкапсидации (Сизенцов и др., 2012).

Геном *Dicistroviridae* состоит из двух неперекрывающихся открытых рамок считывания (ОРС), разделенных межгенной и фланкированных нетранслируемыми областями. Первая и большая ОРС, расположенная в 5'-части генома, кодирует неструктурные белки, участвующие в репликации и процессинге – хеликазу, протеазу и RdRp (рис. 12.2). Вторая, более короткая ОРС расположена в 3'-части генома и кодирует 4 структурных полипептида капсида (de Miranda et al., 2010).

Геном вирусов семейства *Iflaviridae* состоит из одной рамки считывания, фланкированной протяженной 5'-нетранслируемой областью и короткой и высококонсервативной 3'-нетранслируемой областью. Обе НТО вовлечены в регулирование репликации и трансляции (Tantillo et al., 2015).

РНК-зависимая РНК-полимераза (RNA-dependent-RNA-polymerase, RdRp) была признана хорошим маркером в исследованиях, касающихся классификации и эволюции РНК-вирусов. В гене *RdRp* (+)РНК-вирусов было выявлено 8 консервативных доменов (Baker и Schroeder, 2008).

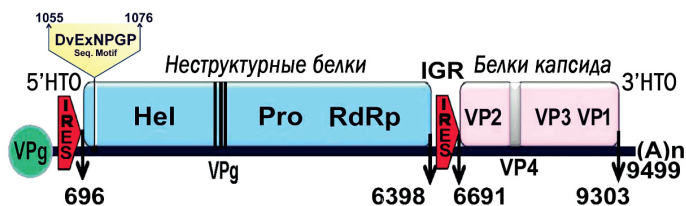


Рис. 12.2. Структура генома израильского вируса острого паралича (IAPV) (Chen et al., 2014).

Распространение вирусов медоносных пчел и их общая характеристика. В ряде зарубежных работ описана распространённость патогенных вирусов пчёл на территории: США, Бельгии, Франции, Нидерландах, Греции, Италии, Португалии и Испании.

В России осложняет сложившуюся ситуацию небольшое количество научных групп среди генетических и ветеринарных лабораторий, занимающихся выявлением и изучением распространения вирусных заболеваний медоносной пчелы на территории страны.

Поэтому первые исследования по распространению и идентификации вирусов пчел имели эпизодический характер (Калашников, 2013). Масштабные исследования были проведены в 2016 году совместными усилиями сотрудников кафедры генетики Московского университета имени М.В. Ломоносова и Московской ветеринарной академии имени К.И. Скрябина.

Впервые были получены данные по распределению по пасекам патогенных для пчел вирусов в более чем 10 областях Европейской части России. Идентификация вирусов проводилась методом ОТ-ПЦР (RT-PCR) (метод ПЦР с обратной транскрипцией) (Масленникова и др., 2017, 2018).

Для определения вирусносительства пчелиных семей анализировали электрофореграммы фрагментов кДНК вирусов (рис. 12.3).

Исследования показали очень высокую нагрузку на пчелиные семьи в Северном, Центральном и Южном федеральных округах вируса деформации крыла, мешотчатого расплода, острого паралича, вируса черных маточников, в среднем более 90%. Нагрузка на пчелиные семьи израильского вируса острого паралича и кашмир-вируса была низкой и в среднем составляла менее 10%.

Вирус деформации крыла. Вирус деформации крыла (DWV) впервые был выявлен на японских пасеках у взрослых пчел с особой деформацией крыльев (Bailey, Ball, 1991). DWV является одним из самых широко распространенных вирусов медоносных пчел по всему

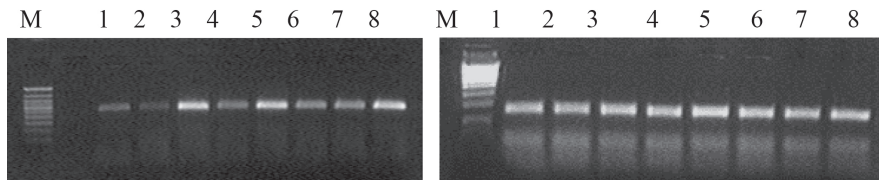


Рис. 12.3. Электрофореграмма продуктов амплификации вируса: а) деформации крыла (DWV), 250 п.о. б) острого паралича (ABPV), 370 п.о. М-маркер 50 п.о., лунки 1–8 – образцы.

миру. За исключением Океании, инфекция DWV была зарегистрирована в Африке, Азии, Европе, Северной Америке и Южной Америке. Во Франции в 97% ульев присутствуют взрослые пчелы, зараженные DWV. Распространенность DWV среди куколок более высокая, чем среди взрослых пчел; частота инфекций DWV увеличивалась от весны до осени (Tentcheva et al., 2006). Эти сезонные вариации частоты DWV также были гораздо более выраженными для куколок, чем для взрослых особей. Данные результаты, вероятно, связаны со слабой иммунной системой куколок по сравнению с таковой у взрослых пчел.

DWV присутствует также в Южной Америке, где разводится гибрид *Apis mellifera* африканского происхождения. В Бразилии вирус DWV проявлялся исключительно в семьях, сильно ослабленных клещом *V. destructor* (Teixeira et al., 2008). DWV – это вирус с низкой патогенностью и часто именно он ответственен за скрытые инфекции, которые могут проявиться после стрессовой ситуации, такой как высокая зараженность клещом варроа, нехватка корма или неправильный уход за семьями. DWV поражает на всех стадиях развития пчел, от яиц до взрослых особей (de Miranda and Genersch, 2010). Сохранение вируса DWV гарантируется его низкой патогенностью. Действительно, он медленно размножается в своих хозяевах, не вызывая их смерти. Куколки могут завершить свой жизненный цикл развития в имаго при этом симптомы заболевания могут не проявиться или с внешними проявлениями болезни, что зависит от наличия или отсутствия стрессового фактора в семье. При этом, что для пчел с бессимптомным проявлением заболевания, что для пчел с проявлениями замечено сокращение продолжительности жизни у пчел (Bailey, Ball, 1991). Характерные признаки инфекции DWV включают усохшие деформированные крылья, которые делают полет невозможным, уменьшенный размер тела и обесцвечивание у взрослых особей (рис. 12.4). В любом случае типичные симптомы инфекции DWV часто обнаруживаются в пасаках, зараженных *V. destructor* (Tentcheva et al., 2004). Клещ ответствен за распространение DWV по всем тканям пчел за счет циркуляции гемолимфы и реактивации вирусных инфекций (Fievet et al., 2006).

Наличие DWV обнаруживают в испражнениях взрослых пчел (Chen et al., 2006), в железистых выделениях пчел-нянек (Fievet et al., 2006), в сперме внешне здоровых трутней (Yue et al., 2006), а также в семяприемнике, яичниках и яйцах инфицированных маток (Yue et al., 2007). Эти данные указывают на вертикальный и горизонтальный способ передачи вируса через пищевые контакты и половые пути.



Рис. 12.4. Пчела, пораженная вирусом деформации крыла (DWV) (<http://agriculture.by/articles/zivotnovodstvo/virusnye-zabolevanija-pchel>).

Вирус мешотчатого расплода. Вирус мешотчатого расплода (SBV) вызывал распространенное заболевание медоносной пчелы, впервые обнаруженное в 1913 году в США (White, 1913). В России мешотчатый расплод был впервые обнаружен К.А. Горбачевым в 1917 г. Этот вирус может заражать личинок или взрослых особей, личинки более чувствительны к инфекции. Действительно, SBV в первую очередь влияет на расплод пчел, поддерживая высокий уровень репликации, вызывает значительные морфологические изменения, приводящие к гибели личинок (Berenyi et al., 2006). Зараженные личинки не окукливаются, а экдизиальная жидкость с вирусными частицами SBV накапливается личиночными покровами, образуя «мешочек». Зараженные личинки меняют свой цвет, от жемчужно-белого до бледно-желтого и после гибели образуют высохшую темно-коричневую «лодочку» (рис. 12.5). У взрослых пчел инфекция присутствует в скрытом виде, проявляясь только уменьшением продолжительности жизни, без характерных симптомов (Berenyi et al., 2006). Скрытая форма заболевания способствует распространению SBV, так как этот вирус накапливается в головных тканях и особенно в гипофарингиальных железах; инфицированные пчелы-воспитательницы, ответственные за кормление личинок, передают вирус через зараженный железистый секрет. Кроме того, взрослые пчелы обнаруживают и удаляют личинок, пораженных SBV, через день или два дня после запечатывания ячеек в сотах, в то время как вирус все еще заразен (Shen et al., 2005). Эти данные свидетельствуют о том, что SBV передается

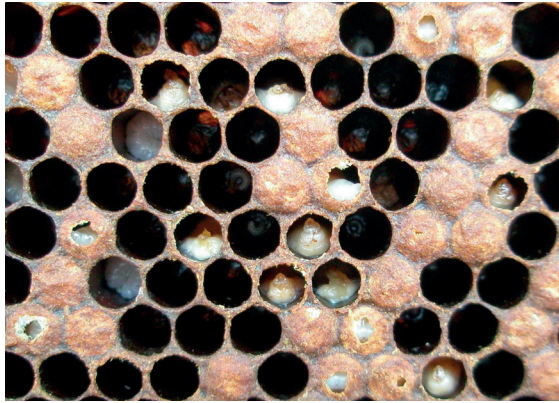


Рис. 12.5. Участок печатного пчелиного расплода с характерными клиническими признаками. Личинки поражены вирусом мешотчатого расплода (Ю.М. Батуев).

взрослым особям путем попадания в их организм тканей погибшей личинки, в первую очередь экдизиальной жидкости.

Обнаружение SBV в пыльце подтверждает возможность передачи вируса от рабочих пчел другим взрослым особям через источники пищи внутри семьи. SBV может распространяться между семьями при кормлении пчел медом или пыльцой из зараженных пчелиных семей. Эта практика используется некоторыми пчеловодами для спасения слабых семей (Shen et al., 2005).

Вирус SBV был обнаружен у значительной части взрослых пчел из пасек, зараженных *V. destructor* (Antunez et al., 2000). В данном эктопаразите были обнаружены высокие титры вируса, особенно в ротовом аппарате и в пищеварительном тракте (Chantawannakul et al., 2006). Отмечена положительная корреляция между распространенностью SBV в клещевых образцах и наличием SBV в образцах взрослых пчел (Tentcheva et al., 2004), что свидетельствует о роли клеща варроа в качестве переносчика инфекции.

Частота заболевания SBV значительно выше в весенний период и в начале лета, при резком похолодании. Отсутствие нектара и пыльцы в данный период, когда в семьях большое количество восприимчивых к вирусу личинок часто приводит к характерной клинической картине.

Вирус мешотчатого расплода рассматривается как основной фактор, способствующий гибели пчел, зараженных клещом *V. destructor*, а также является основной причиной смертности в ослабленных семьях в России (Сотников, Королев, 2014).

Вирус черных маточников. Вирус черных маточников (BQCV) первоначально был выделен из личинок и куколок мертвых маток, запечатанных в маточниках (Bailey and Woods, 1974) и оказался наиболее распространенной причиной гибели маточных личинок в Австралии (Benjeddou et al., 2001). Инфекция BQCV была обнаружена также в Америке, Европе, Азии, Африке и на Ближнем Востоке (Ellis and Munn, 2005). В зараженных семьях BQCV более распространен у взрослых пчел, чем куколок, хотя клинически он затрагивает в основном развитые личинки и куколки маток. Личинки становятся бледно-желтыми с жестким мешотчатым покровом, куколки – черными (рис. 12.6). Такое название было получено вирусом из-за затемненных областей на стенках клеток инфицированных куколок; внутри погибших куколок находится большее количество вирусных частиц (Leat et al., 2000).

При экспериментальных исследованиях было обнаружено, что вирус быстро размножается при непосредственном введении его в куколку (Leat et al., 2000). Тем не менее, вирус черных маточников способен размножаться и во взрослых особях, если переносится простейшим *Nosema apis* (Tentcheva et al., 2004). *Nosema* – микроспоридия, поражающая ткани кишечника взрослых пчел и увеличивающая восприимчивость этого органа к вирусу BQCV. Действительно, наблюдается четкая корреляция между частотой BQCV и зараженностью *Nosema apis* в пчелиных семьях с пиком заражения, приходящимся на весну и раннее лето (Benjeddou et al., 2001). Эти данные свидетельствуют о том, что именно вирус BQCV является причиной гибели пчел, зара-



Рис. 12.6. Личинка матки, пораженная вирусом черных маточников (BQCV) (beeinformed.org).

женных ноземой. BQCV способен распространяться и среди здоровых трутней (Benjeddou et al., 2001). Вирусные частицы выявлены в фекалиях и в тканях кишечника матки (Chen et al., 2006), что доказывает передачу этого вируса через пищу. Следовательно, возможно инфицирование расплода матки через железистые выделения зараженных пчел-воспитательниц во время кормления. На сегодняшний день имеются противоречивые данные о роли *V. destructor* в этой инфекции.

Вирус острого паралича. Вирус острого паралича (ABPV) впервые был обнаружен во время лабораторных экспериментов, как возможная причина бессимптомной инфекции взрослых особей пчел. Вирус является довольно распространенным инфекционным агентом пчел, часто обнаруживается во внешне здоровых пчелиных семьях по всему миру (Sanra and Chantawannakul, 2009). Эти инфекции иногда усугубляются и активируются стрессовыми факторами окружающей среды, такими, как заражение клещами, бактериальные инфекции, загрязнение и обычное использование химических веществ и инсектицидов в сельскохозяйственных технологиях (Bakonyi et al., 2002). Активная инфекция ABPV характеризуется быстрой смертью взрослых особей; ранее инфицированные взрослые пчелы демонстрируют быстро прогрессирующий паралич, дрожание тела, теряют способность к полету; брюшко постепенно темнеет, отмечается потеря волосков с груди и брюшка (рис. 12.7) (de Miranda et al., 2010).

ABPV поражает все стадии развития *Apis mellifera*, но наиболее благоприятными хозяевами для размножения вируса являются куколки. Отмечено накопление вирусных частиц в головном мозге, особенно в гипофарингиальных железах, и в фекалиях. Это подтверждает передачу вируса через пищу и через секрет слюнных желез инфицированных рабочих пчел при кормлении молодых личинок. Зараженные личинки либо умирают в ячейках расплода еще до распечатывания, если в их организм попало большое количество вирусных частиц, либо выживают, чтобы появиться в виде условно здоровых, но инфицированных взрослых особей. Выявление последовательностей вируса ABPV в сперме внешне здоровых трутней указывает на вертикальную передачу этого вируса (Yue et al., 2006).

ABPV рассматривается как основной фактор, способствующий гибели пчел, зараженных клещом *V. destructor*, а также является основной причиной смертности в ослабленных семьях из Германии, Югославии, Франции, Венгрии и США (Forgàch et al., 2007). Кроме того, в нескольких исследованиях ABPV был выявлен у клещей *Varroa* (Chantawannakul et al., 2006). Из-за широкого распространения клещей



Рис. 12.7. Пчелы, погибшие от вируса острого паралича (ABPV) (mirpchel.com).

на европейских пасеках в течение последнего десятилетия широко распространился и вирус острого паралича.

Кашмирский вирус. Кашмирский вирус KBV широко распространен в Австралии и в Соединенных Штатах, где является эндемичным. В Европе он встречается редко (Berényi et al., 2006). Как и большинство *Dicistroviridae* (de Miranda et al., 2010), KBV сохраняется в низких титрах в скрытой форме во внешне здоровых семьях до тех пор, пока стрессовые факторы не активируют вирусную репликацию, впоследствии вызывающую гибель семьи. В активной форме кашмирский вирус поражает различные стадии развития пчел без четко выраженных симптомов заболевания. В последнее десятилетие этот потенциально смертельный вирус приобретает все большую значимость для пчеловодов, поскольку является одним из нескольких вирусов, тесно связанных с синдромом разрушения пчелиных семей на пасеках, зараженных клещом *V. destructor* (de Miranda et al., 2010).

В ходе экспериментов кашмирский вирус проявил себя как чрезвычайно опасный для личинок и для взрослых особей. Для гибели в течение нескольких дней достаточно менее ста вирусных частиц на пчелу (Ribièrè et al., 2008). В естественных условиях KBV может передаваться различными путями (Shen et al., 2005). Вирусные частицы были обнаружены в пище расплода, меде, маточном молочке и фекалиях, что подтверждает передачу инфекции орально-фекальным путем через зараженную пищу внутри семьи (de Miranda et al., 2010). Детекция последовательностей вирусного генома в слюнном секрете

клещей *Varroa* предполагает, что паразит может выступать в качестве переносчика KBV (Shen et al., 2005).

KBV генетически и серологически тесно связан с ABPV, оба этих вируса были обнаружены в качестве загрязнителя во время исследований передачи вируса хронического паралича CBPV (de Miranda et al., 2004). Вероятно, эти два вируса происходят от общего предка и эволюционировали независимо в географически изолированных регионах (Verènyi et al., 2006). Оба вируса способны инфицировать одну и ту же семью или даже особь одновременно. Несмотря на тесную связь, их можно легко выделить и отличить друг от друга с помощью ПЦР в режиме реального времени; более того, белки VP4 вирусов ABPV и KBV серологически различны. Между двумя вирусами существуют еще и значительные различия в таких важных областях генома, как 5'-нетранслируемая область (de Miranda et al., 2004).

В последние годы вирус рассматривается как один из важных маркеров синдрома разрушения пчелиных семей (CCD).

Израильский вирус острого паралича. Израильский вирус острого паралича (IAPV) впервые был выделен в 2004 году на израильских пасеках, где вызвал колоссальную гибель пчел и нанес серьезный урон израильскому пчеловодству. Анализ последовательности генома IAPV показал, что он является новым членом семейства *Dicistroviridae* (Blanchard et al., 2008), тесно связанным с KBV и ABPV. Помимо их генетического сходства, у них также похожи стадия жизни хозяина и широкая распространенность среди бессимптомных инфекций, что контрастирует с высокой вирулентностью в экспериментальных исследованиях (de Miranda et al., 2010). Несмотря на значительное сходство данных трех вирусов, IAPV обладает значительными генетическими и серологическими отличиями (Maori et al., 2007).

Помимо Израиля, IAPV широко распространен в Австралии и в нескольких штатах США, таких как Флорида, Калифорния, Мэриленд и Пенсильвания (Palacios et al., 2008). В естественных условиях IAPV сохраняется в семьях пчел в низких титрах без явных симптомов. В стрессовых условиях иммунитет медоносных пчел падает, что приводит к активации инфекции и их гибели. Смерти зараженных взрослых особей предшествует быстро прогрессирующий паралич, потеря способности к полету и потемнение тела (Ribièrè et al., 2008). В настоящее время информации о путях передачи вируса израильского острого паралича пока недостаточно и необходимы дальнейшие исследования.

Таким образом массовую гибель пчел (массовая бессимптомная гибель пчел, слет пчел, коллапс пчелиных семей, английский – colony collapse disorder, CCD), вероятно, следует рассматривать, как заболевание, вызванное патогенными вирусами при наличии стресс-фактора. При этом наиболее сильным стресс-фактором является клещ варроа, высокая степень поражения которым также приводит к гибели пчелиных семей. Клещ варроа является активатором вирусных заболеваний и переносчиком вирусов как внутри, так и между семьями. Однако нет пока исчерпывающей информации о том, при каких условиях и какие вирусы, взаимодействуя с клещом *Varroa destructor*, вызывают гибель пчел.

Другими стресс-факторами, приводящими к снижению иммунитета и активизации вирусной инфекции, могут быть; обработка растений пестицидами, резкие скачки температур и влажности (изменение климатических условий), снижение кормовой базы, другие инфекционные и инвазионные болезни и т.д. Поэтому также очень важно исследовать характер проявления вирусных заболеваний в зависимости от климатических условий, уровня кормовой базы, степени заклещеванности пчелиных семей клещами варроа, наличием других заразных болезней пчел, уровня токсичности пестицидов для пчел.

Статистическая информация по гибели пчелиных семей на пасеках свидетельствует о том, что как в нашей стране, так и в европейских странах, США и Китае пчеловоды стали регистрировать бессимптомную массовую гибель пчелиных семей. По предварительным подсчётам, гибель семей на пасеках варьирует от 28 до 100 процентов и в среднем составляет 72%. Если не принять экстренных мер, то количество пчелиных семей в ближайшем будущем может резко сократиться, что напрямую угрожает продовольственной безопасности страны, а также влечёт за собой утрату уникального генофонда медоносных пчёл.

С целью своевременной диагностики вирусов пчел и постоянного мониторинга их распространения необходимо изучать штаммы вирусов на молекулярно-генетическом уровне, разрабатывать диагностические тест-системы, а также вести поиск средств для терапии вирусных заболеваний пчёл.

Очевидно, что оценка клещевой и вирусной нагрузок в пчелиных семьях на территории Российской Федерации в контексте массовой гибели пчелиных семей, имеет первостепенное значение для работ по сохранению **вида медоносной пчелы** *Apis mellifera* в сильно изменяющихся экологических условиях среды.

13. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В СОХРАНЕНИИ ГЕНОФОНДА МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ

Биотехнологический метод криоконсервации спермы трутней в жидком азоте позволяет сохранять генофонд исчезающих аборигенных пород медоносных пчел. Использование метода искусственного осеменения маток дает возможность избежать полиандрии и проводить контролируемое спаривание в селекционно-генетических исследованиях при чистопородном разведении и при межпородных скрещиваниях. Получение культуры клеток медоносных пчел перспективно для более углубленного изучения геномных и эпигеномных механизмов изменчивости этого уникального объекта и их взаимодействия с внутриклеточными инфекционными агентами.

Понимание генетических процессов, происходящих в популяции пчел особенно важно в связи с нарастающим экологическим кризисом. Знания о наследственности и изменчивости обеспечивают подходы к выработке оптимальной стратегии сохранения, разведения и воспроизводства пчел. К началу 21-го века ситуация в пчеловодстве резко ухудшилась и появилась настоятельная необходимость использования биотехнологических методов сохранения генофонда медоносных пчел. Главной причиной этого послужило повсеместное явление, названное коллапсом пчелиных семей, вызванное комплексом негативных экологических факторов, до конца пока невыясненных.

Традиционно сохранением пород и популяций медоносной пчелы занимаются заповедники, заказники и племенные хозяйства. В России официально зарегистрированы внутривидовый тип среднерусской породы пчел Приокский, породные типы: Орловский, Татарский, Бурзянская бортевая и башкирская порода, на них имеются авторские свидетельства и патенты (Бородачев, Савушкина, 2014). Однако для гарантированного сохранения чистоты пород и целенаправленной селекции необходимо закладывать репродуктивные и соматические клетки медоносных пчел в криобанки.

Специфические особенности в биологии развития и спаривания медоносной пчелы, требуют разработки и внедрения в практику пчеловодства биотехнологических методов: способов криоконсервации спермы трутней, искусственного осеменения пчелиных маток, и методов получения культур клеток из различных тканей этого вида.

В биологии развития медоносных пчел имеются видовые особенности, как осложняющие проведение селекционно-генетических работ в пчеловодстве, так и создающие благоприятные условия для применения криоконсервации спермы трутней (табл. 13.1). К биоло-

гическим особенностям медоносных пчел, затрудняющих проведение селекционно-генетических работ, относятся:

1. Невозможность контроля оплодотворения маток, так как их спаривание с трутнями происходит в полете на высоте свыше 10 м. За время брачного полета матка оплодотворяется примерно десятью трутнями (полиандрия) неизвестного происхождения;

2. Недостаточное количество половозрелых трутней весной, когда необходимо получение ранних плодных маток. Трутней в пчелиной семье по количеству в сотни раз меньше чем рабочих пчел, а к зиме их в улье и вовсе не остается, так как в конце лета трутней массово изгоняют из ульев, к тому же срок их развития от яйца до имаго продолжительнее на неделю по сравнению с маткой;

3. Гибель трутней после оплодотворения, т.е. их генетический материал в естественных условиях можно использовать только один раз, в отличие от других сельскохозяйственных животных.

Однако медоносная пчела обладает и рядом преимуществ для отбора, криоконсервации и использования спермы трутней в искусственном осеменении.

Во-первых, в естественных условиях консервация спермы трутней, с сохранением их оплодотворяющей способности, происходит в сперматеке матки. Сперма хранится там, на протяжении всей жизни матки, примерно пять лет. Необходимо исследование этого естественного способа хранения спермы трутней.

Во-вторых, в конце лета имеется большое количество биологического материала для набора спермы – это половозрелые трутни, которых можно отбирать не только без ущерба для пчелиных семей, но даже с пользой, так как при этом сохраняется энергия пчел, которая терялась бы ими в процессе изгнания трутней из улья.

В-третьих, трутни развиваются из неоплодотворенных яиц, они имеют гаплоидный набор хромосом. В принципе они продуцируют сперму, которая генетически соответствует геному яйцеклеток их матери, что дает возможность проведения быстрой селекции по материнской линии. При этом если в популяции появляются мутации, которые вредны для организма, они элиминируются на эмбриональной стадии развития трутней благодаря их гаплоидности.

Эти свойства, обеспечивающие преимущественные условия для отбора спермы трутней, представлены в таблице 13.1. Таким образом, особенности развития и спаривания медоносных пчел имеют как положительное, так и отрицательное влияние на проведение селекционно-генетических работ и должны учитываться при биотехнологических исследованиях в криобиологии репродуктивных клеток, в

искусственном осеменении и в клеточной биотехнологии этого объекта.

Таблица 13.1. Характеристика биологических особенностей развития и спаривания медоносных пчел в условиях проведения генетических работ и консервации спермы трутней

Признаки, затрудняющие проведение селекционно-генетических работ	Свойства, обеспечивающие преимущество для отбора спермы
<ol style="list-style-type: none">1. Невозможность контроля над спариванием матки с трутнем и полиандрия;2. Недостаточное количество половозрелых трутней ранней весной, когда в них есть необходимость;3. Невозможность повторного использования трутня в экспериментах, из-за гибели его после спаривания.	<ol style="list-style-type: none">1. Наличие естественной консервации спермы трутней в сперматеке матки более пяти лет;2. Возможность получения в конце лета большого количества биоматериала для отбора спермы;3. Трутни гаплоидны, благодаря этому из популяции элиминируются вредные мутации и возможна быстрая селекция по материнской линии.

Криоконсервация спермы различных животных довольно широко применяется в практике их разведения, воспроизводства и сохранения. Однако этого нельзя сказать в отношении такого объекта как медоносная пчела. Впервые в России криоконсервация спермы трутней была проведена по методике, разработанной Какпаковым с соавторами (Какпаков и др., 1993), на которую получен патент (№2173045 от 10.09.2001). По этой методике в криобанки Всероссийского института пчеловодства и Всероссийского института экспериментальной ветеринарии (ВИЭВ), начиная с 1993 года, заложены образцы спермы трутней с пасек Рязанской, Тверской, Московской областей, Татарстана, Башкортостана, Башкирской опытной станции пчеловодства и с «Царской пасеки» Измайловского парка г. Москвы.



Какпаков Виталий Туякович (1937–2012). Окончил биолого-почвенный факультет МГУ, по специальности «Генетика», д.б.н., академик РАЕН. Впервые в мире получил постоянную линию эмбриональных клеток дрозофилы, эта работа в 1969 г. была удостоена премии им. И.В. Курчатова. Автор витамин-экдистиронового стимулятора пчел (ВЭСП), криобиологической технологии сохранения спермы трутней,

питательной среды C_{46} для культивирования клеток беспозвоночных животных, создатель всероссийской специализированной коллекции постоянных линий клеток беспозвоночных (ВСКПЛКБ). Он являлся членом Всероссийского оргкомитета рабочих совещаний по проблеме «Консервации генетических ресурсов», Европейского общества тканевых культур, и председателем секции «Биотехнологические основы пчеловодства» (МОИП), автор более 150 печатных работ, 5 авторских свидетельств СССР и 2 патентов РФ.

Метод криоконсервации усовершенствован в связи с необходимостью унификации отдельных этапов: отбора, транспортировки, хранения, оттаивания и введения спермы трутней в матку. Отбор спермы проводится при сжатию грудного отдела половозрелого трутня, при этом выворачивается эндофаллус, на конце которого находится капелька мукуса (клеякое вещество) со спермой на поверхности. Сперма отбирается в капилляр, соединенный со шприцем в приборе искусственного осеменения пчелиных маток или в специальном приборе для набора спермы (рис. 13.1). Этот капилляр со спермой запаивается с двух сторон, маркируется и закладывается в стерильные криобирки, в которых транспортируется (Сайфутдинова, 2014). Для хранения в жидком азоте сперма разбавляется питательной средой C_{46} с добавленным криопротектором (ДМСО) и фетальной телячьей сывороткой (ФТС) в определенном соотношении (Какпаков и др., 1993).

Важным моментом является оценка влияния криохранения на жизнеспособность и оплодотворяющую способность спермы. Проведена

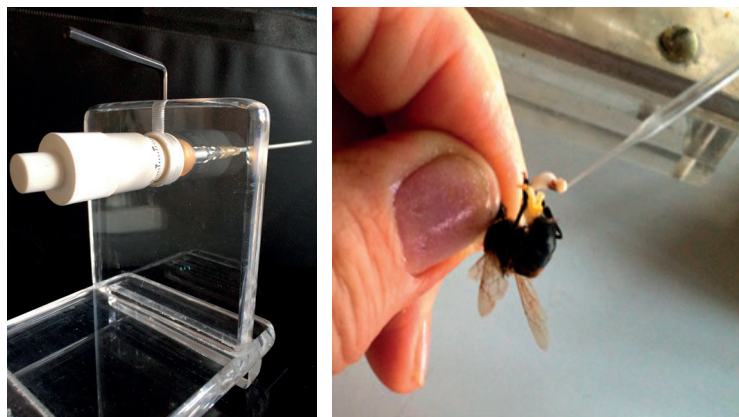


Рис. 13.1. Прибор для набора спермы (а), процесс отбора спермы в капилляр (б) (фото Сайфутдиновой З.Н.).



Рис. 13.2. Печатный расплод матки, искусственно осеменной дефростированной спермой (фото Гулова А.Н.).

оценка приема и яйценоскости пчелиных маток, осемененных оттаянной спермой после длительного хранения в жидком азоте. Показано, что жизнеспособность спермы после 5-ти и 25-ти лет хранения в жидком азоте остается достаточно высокой около 80–90%, и не зависит от длительности криохранения. Однако оплодотворяющая способность этих доз спермы оказалась низкой, количество печатного расплода рабочих пчел от маток, осемененных оттаянной спермой, составило менее 50% (рис. 13.2.) (Гулов, 2018).

Таким образом, опыт применения криоконсервации спермы трутней в целях сохранения генофонда и управления генетическими ресурсами среднерусской пчелы показал, что для создания криобанка, необходима дальнейшая разработка методов и условий сбора, транспортировки, криохранения и оттаивания репродуктивных клеток и дальнейшего их использования в искусственном осеменении маток.

Биотехнологический метод искусственного осеменения пчелиных маток. Особенности размножения медоносной пчелы (полиандрия) существенно осложняют проведение на пчеле генетического анализа и селекционно-генетических исследований. Только метод инструментального осеменения позволяет подбирать производителей и получать потомство с желаемым генотипом. Применение этого метода позволило существенно увеличить разрешающую способность генетического анализа у медоносных пчел и сделать его более доступным (Тряско, 1959; Бородачев, 1984).

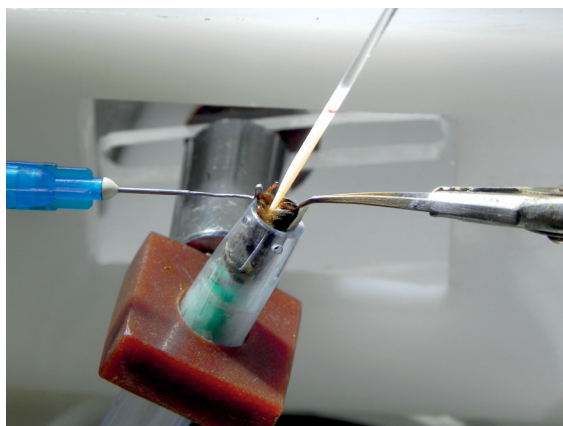


Рис. 13.3. Процесс искусственного осеменения пчелиной матки (фото А.В.Белогорского).

Метод искусственного осеменения пчелиных маток в нашей стране был разработан в середине прошлого века (Михайлов, 1929; Тряско, 1958), однако в те годы широкого внедрения в практику этого способа получения плодных маток не произошло.

С применением искусственного осеменения возникает возможность использования ещё одного уникального свойства медоносных пчел: это чистопородное разведение пчелиных маток и трутней с одновременным использованием гибридных пчел, обладающих гетерозисной силой. Чистопородные матки, искусственно осемененные спермой от трутней другой известной породы, имеют в семье помесных пчел и чистопородных трутней. На товарных пасеках могут использоваться чистопородные матки с гибридным и, как правило, высокопродуктивным потомством без ущерба для окружающих пасек. В современном животноводстве и растениеводстве широко распространено использование в промышленных целях гибридных особей (кроссов) и гибридных семян. В отличие от гибридных семян, от которых используют только первое поколение, т.е. один год; и также в отличие от животных-кроссов, которые только сами являются хорошими производителями, чистопородная пчелиная матка способна давать гибридное потомство несколько лет.

Манипуляции, связанные с искусственным осеменением, достаточно трудоемки и требуют специального прибора – станка искусственного осеменения (рис. 13.3). Матку перед осеменением усыпляют легким наркотом, с применением углекислого газа. Процедура набора

спермы трутней и осеменения матки проводится под бинокулярной лупой. Матку помещают в специальную трубочку – маткодержатель, таким образом, чтобы последние брюшные сегменты оказались выдвинутыми. Жальная камера матки раскрывается специальными крючками. Сперму от трутней набирают в капилляр, прикрепленный к шприцу, который затем вводят во влагалище матки и таким образом, осуществляется впрыскивание спермы в половые органы матки (яйцеводы). При успешном проведении манипуляции искусственного осеменения, матка через несколько дней должна начать яйцекладку. Появление расплода рабочих пчел свидетельствует, что искусственное осеменение прошло нормально. Однажды искусственно осемененная матка в дальнейшем может использоваться в течение нескольких лет, в качестве производителя потомства с известным генотипом.

Получение культур клеток медоносных пчел – современный метод клеточной биотехнологии – широко развиваемое направление исследований в последнее десятилетие. Геномный криобанк репродуктивных и соматических клеток медоносных пчел находит широкое применение в решении различных задач: последствия метизации пчел, сохранение биоразнообразия медоносных пчел, борьба с внутриклеточными паразитами и вирусными болезнями, в оценке состояния окружающей среды (в апимониторинге).

Отсутствие постоянных иммортизированных (immortalized) линий клеток медоносных пчел, является главным ограничивающим фактором многих исследований по физиологии, генетике, эпигенетике и инфекционным заболеваниям этого уникального вида. Основной задачей клеточной биотехнологии является культивирование тканей (эксплантатов) с последующим культивированием первичных клеток, а затем получением постоянных клеточных линий (permanent cell lines). Методы культуры клеток в настоящее время стали необходимы во многих научных дисциплинах, например, база знаний современной инфекционной биологии была построена на основе систем клеточных культур. Методы клеточной культуры незаменимы в большинстве, если не во всех дисциплинах наук о жизни на сегодняшний день. Везде, где не имеются соответствующие модели клеточных культур, научное развитие затруднено. Считается, что наличие культур клеток объекта определяет высокий уровень исследований биологии и генетики этого вида.

Установленные линии клеток насекомых и методы первичной культуры многочисленны и часто используются в различных исследовательских программах. С тех пор как была создана первая линия клеток насекомых в 1962 году, были разработаны более 500 непрерывных

(то есть, увековеченных) линий насекомых, к сожалению, среди них нет культуры клеток пчел. Несмотря на экономическую и экологическую значимость медоносных пчел как опылителей многих с/х культур и растений, существует большая нехватка контролируемых *in vitro* систем, особенно если учитывать, что угрозы здоровью медоносных пчел обусловлены именно внутриклеточными патогенами, которые в изобилии и широко распространены в пчелиных колониях.

В нашей стране начало отработки криобиологической технологии хранения культур клеток, а затем и репродуктивных клеток насекомых в жидком азоте было положено в 1967 году с целью сохранения и развития первой в мире линии эмбриональных клеток *Drosophila melanogaster* 67j25D (Какпаков, 1990). Наступило время безотлагательного применения этих методов для углубленных геномных исследований и сохранения генетических ресурсов медоносных пчел России.

Отсутствие длительно перевиваемых линий клеток медоносной пчелы побудило многих исследователей разработать альтернативные системы или использование первичных культур в течении короткого периода времени их жизни. В дальнейшем эти подходы могут быть переведены в развитие непрерывных линий клеток медоносной пчелы. В настоящее время немногочисленные работы по культивированию пчелиных клеток (Lynn, 2001; Bergem et al., 2006; Barbara et al., 2008; Hunter, 2010; Chan et al., 2010; Poppinga et al., 2012) продолжают увеличиваться. В этом ограниченном числе исследований зафиксированы попытки культивирования эмбриональных клеток медоносных пчел, личиночных и куколочных клеток. Были получены кратковременные культуры (больше 4 недель) из нейронов куколок медоносной пчелы. Длительные посевы были инициированы с использованием эмбрионов (36–40 часов после яйцекладки), которые оставались митотически активными в течение 3 месяцев (рис. 13.4).

Современные достижения в методологии клеточной культуры, а также растущее требование к исследованиям на медоносной пчеле посредством геномного анализа продолжают стимулировать развитие этой области к разработке новых клеточных линий для широкого спектра тканей *A. mellifera*. Основные направления современных исследований, в которых используются культуры пчелиных клеток, опираются на первичные культуры или непостоянные клеточные линии (non-permanent cell lines) с низким числом пассажей (passage). Одним из недостатков таких первичных клеточных культур и непостоянных клеточных линий является то, что они обычно производятся в лаборатории, и не доступны для широкого использования другими исследователями.

дователями. Также имеются проблемы с воспроизводимостью этих опытов. Однако, такая первичная пчелиная культура клеток полезна для изучения физиологии клетки пчел, взаимодействия «клетка хозяина-патоген», воздействия различных химических веществ на геном и экспрессии белка в пчелиных клетках с использованием современных технологий геномики и транскриптомики.

На сегодняшний день в мире известна только одна клеточная линия, которая была разработана в университете г. Миннесота, США (Department of Entomology, University of Minnesota). Из нескольких первичных культур медоносных пчел, которые оставались митотически активными в течение более полугода, была получена окончательная субкультура и изолирована линия AmE-711, которая подверглась 18 пассажам на момент подачи рукописи этих авторов в печать (Genersch et al., 2013).

В Японии и в Канаде, применяли методы пролонгирования жизнеспособности культивированных клеток с использованием ретровируса (Kitagishi et al., 2011) и трансфекции человеческих онкогенов (Chan et al., 2010), таким образом были выделены и охарактеризованы клеточные линии медоносных пчел. Подход этих авторов свидетельствует о том, что вирусная трансдукция может быть использована для доставки конститутивно активных онкогенов для того, чтобы увековечить пчелиные клетки. Авторам удалось успешно реанимировать клетки после нескольких месяцев криогенного хранения. (Chan, 2010). Таким образом, была продемонстрирована возможность трансгенной активации долгосрочного размножения и выживания клеток пчелы. Эти методы



Рис. 13.4. Пример морфологии культивированных клеток из эмбрионов пчелы (36–40 часов после яйцекладки), монослой клеток, 3-й пассаж. Прижизненная световая микроскопия. Шкала 200 мкм (H. Ju, S. Ghil, 2015).

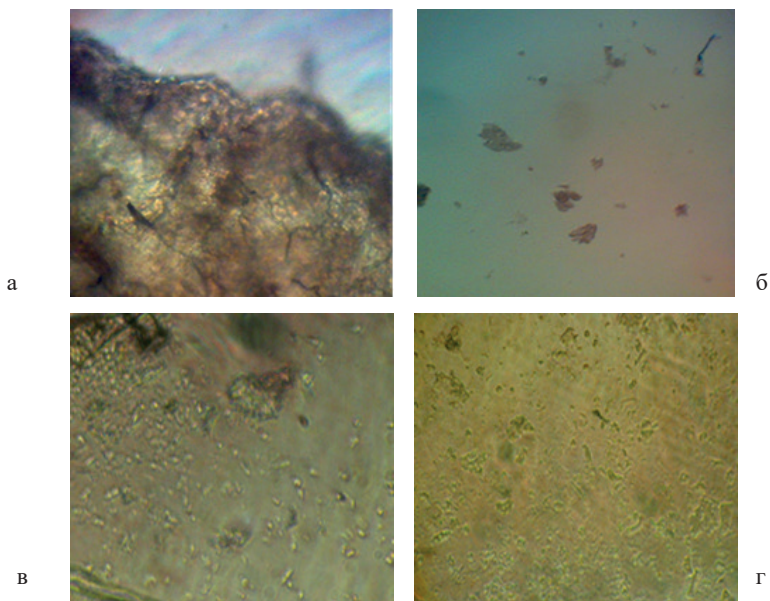


Рис. 13.5. Первичные клетки из яичника матки медоносной пчелы. а) исходная ткань; б) размельченная ткань; в) клетки на 20-е сутки; г) клетки на 90-е сутки. Увеличение 10х10 (Васильев, 2015).

позволили создать клеточные линии пчелы, которые оставались жизнеспособными около года; однако последующей информации об этих непрерывных линиях не было.

В отечественных исследованиях работы по культивированию тканей имаго рабочих пчёл были начаты в семидесятые годы прошлого столетия сотрудниками Всероссийского института экспериментальной ветеринарии – ВИЭВ (Гробов, Зюман, Керимбаев, 1971) Сотрудниками лаборатории болезней пчел ВИЭВ были предприняты попытки культивирования тканей имаго рабочих пчёл: слюнные железы, мышечная ткань, гемоциты, ткань средней кишки. Используя культуры тканей, им удалось показать, что вирус паралича пчёл термолабилен и инактивируется в трупах пчёл консервированных в 50% глицерине при +4 °С в течение двух недель, однако, при -70 °С вирус сохраняется в патологическом материале первичной культуры более полугода. В настоящее время эти работы по получению культур клеток продолжены в лаборатории клеточной биотехнологии ВИЭВ. Получена первичная культура клеток из яичников пчелиных маток (рис. 13.5, Васильев, 2015) и непостоянные линии клеток из различных тканей

рабочих пчел, которые перевивались до 4-го пассажа (Сайфутдинова и др., 2018). Монослой был представлен клетками различных размеров во всех клеточных культурах, что согласуется с сообщениями других авторов по первичным и непостоянным клеточным культурам медоносных пчел. Эти культуры сохраняли свою жизнеспособность в течение месяца.

Впервые клетки имаго пчелы медоносной выживали в культуре в течение четырех пассажей. Клетки росли на богатой L-аминокислотами питательной среде Какпакова В.Т. С₄₆ отечественного производства. Данная питательная среда является перспективной для дальнейшей работы с клетками пчелы.

Таким образом, получение первичных и долговременных клеточных культур особенно ценно в изучении болезней медоносной пчелы, а также для проведения исследований по генетике, и для создания геномного криобанка репродуктивных и соматических клеток этого уникального объекта (Kitagishi et al., 2011; Genersch et al., 2013; Васильев, 2015; Ju, Ghill, 2015, Сайфутдинова и др., 2018) (рис. 13.6).



Рис. 13.6. Научный сотрудник Ирина Колчаева за прибором искусственного осеменения пчелиных маток в лаборатории ФНЦ пчеловодства РАН (г. Рыбное, Рязанской области) (фото Гулова А.Н.)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тайная мудрость пчелиной семьи. Прошло более 150 лет с тех пор, как профессор Московского университета Карл Францевич Рулье обратил внимание научного мира на удивительные особенности биологии медоносной пчелы в своей книге «Три открытия в естественной истории пчелы». С тех пор изучение биологии пчелы медоносной заняло достойное место в научных трудах многих учёных. Известные естествоиспытатели мирового уровня, такие как Г. Мендель, Ч. Дарвин, А. Вейсман не раз обращали своё внимание на загадочные моменты организации жизни пчелиной семьи. Как уже отмечалось выше, Г. Мендель пытался использовать различные популяции пчёл для подтверждения закономерностей наследования, обнаруженных на горохе.

Ч. Дарвин видел в примере общественных насекомых вообще и медоносных пчел в частности «одно из величайших затруднений» для своей теории. Дарвин предполагал, что отбор может происходить не только на уровне отдельной особи, но и на уровне целой семьи и предложил рассматривать семью пчел как некую органическую целостность.

Немецкий зоолог и теоретик эволюционного учения А. Вейсман обращался к модели пчелиной семьи для подтверждения теории существования неизменяемых материальных структур наследственности независимых от организма их носителей. Удивительным он находил тот факт, что половое поколение пчёл (матки и трутни) способны к воспроизведению столь непохожих на себя бесполой форм, которые ничего не могут передать потомству.

В организации пчелиной семьи заключен некий биологический парадокс, который до настоящего времени удивляет многих естествоиспытателей. Действительно, матка, не покидающая улья и с весны до осени занятая откладкой яиц, и трутни, не занятые ничем, кроме размножения, не умеющие строить соты, собирать нектар, выкармливать расплод – как же они при всем этом производят на свет потомство, с таким совершенством выполняющее и перечисленные, и многие другие работы? (Халифман, Васильева, 1981).

Эти парадоксы заставляют нас заглянуть в эволюционные механизмы становления особенностей организации пчелиной семьи, которые формировались в глубине веков, параллельно эволюции цветковых растений. Пчелиная семья представляет собой живую модель развития эволюционных приспособлений, связанных с особенностями размножения, адаптации, перехода от индивидуального к семейному образу жизни и становлению систем социальной коммуникации.

Изучение биологии размножения и развития пчелиной семьи свидетельствует о множестве механизмов адаптации и механизмов, связанных с переходом к общественному образу жизни. Регуляция пола у пчелы представляет собой интересную модель для изучения эволюции генетических механизмов определения пола.

При определении пола мы встречаемся с двумя механизмами его регуляции, в основе которых лежит генетический и цитогенетический механизмы (существование половых генов Sex-локуса, и гаплоидного механизма определения пола). Вся эволюция механизмов определения пола у пчел направлена на уменьшение числа особей мужского пола с одной стороны, и на увеличение возможности сезонного управления этим процессом, с другой.

Сохранение женского и мужского партеногенеза. Возможность партеногенетического развития женских особей (без оплодотворения) безусловно представляет собой важный шаг, связанный с исключительной ролью матки в пчелиной семье, потеря которой приводит к гибели целой семьи. В этом случае неоплодотворённые яйца, отложенные рабочими пчёлами-трутовками, могут привести к появлению диплоидных особей женского пола. Мужской партеногенез позволил пчёлам не только регулировать количество особей мужского пола, но и создать цитогенетическую систему адаптации: гаплоидный геном трутня представляет собой генетический полигон, на котором происходит проявление и элиминация вредных рецессивных мутаций.

Роение. Появление роевого способа размножения необходимо рассматривать как эволюционное приспособление, связанное с механизмом адаптации. Появление в пчелиной семье в роевом состоянии большого количества маточников с матками разных генотипов - повышает возможность для отбора наиболее приспособленных особей.

Полиплоидия является одним из эволюционных цитогенетических механизмов адаптации в роде *Apis*. Из четырех видов этого рода два вида *A. dorsata* и *A. florea* имеют $2n=16$, а два других *A. mellifera* и *A. cerana* имеют $2n=32$. Увеличение плоидности связано с продвижением видов на север и расширением ареала с неблагоприятными условиями среды.

Когда лучшее – враг хорошего. Одной из стратегий современного перспективного пчеловодства является направление, связанное с гибридизацией разных пород медоносной пчелы, направленной на получение пчелиных семей с высоким уровнем медосборной активности, устойчивостью к болезням и большой толерантностью к вмешательству человека. Однако подобная генетическая инженерия

не всегда приводит к положительным результатам. В 1956 году генетик-селекционер У. Керр, желая улучшить бразильских пчел, завез в Бразилию африканский подвид. Африканские медоносные пчелы отличаются скоростью полета, сильным возбуждением, не связанным с перенаселением гнезда, большим трудолюбием и плодовитостью маток. Африканские пчелы смешались с местными и передали им не только положительные, но и самые отрицательные качества, среди которых – чрезвычайная агрессивность. Африканизированные пчелы Южной Америки способны к миграциям до 80 км в год. По медосбору пчелы-гибриды намного превосходят европейских пчел. Агрессивность гибридных пчел приобрела новую форму: они атакуют целым роем, приводя жертву к смертельному исходу.

Летят «перелётные» пчёлы. Явление «слёта» пчёл, когда пчелиная семья покидает улей, заполненный мёдом, до сих пор остаётся малоизученным элементом их социального поведения. В последнее время эта проблема вновь привлекла к себе внимание в связи с явлением коллапса, которая характеризуется массовой гибелью пчёл, и сопровождается исчезновением их из ульев. Среди многих причин, лежащих в основе возникновения коллапса пчел в настоящее время на первое место выдвигаются вирусные и другие заболевания, спровоцированные ослаблением иммунитета. В то же время, опытные пчеловоды отмечают, что явление массовой «слёт» пчёл наблюдается не только в больных, но и в совершенно здоровых семьях, что заставляет нас искать и другие причины этого явления, связанные с особенностями генетики поведения (Николаенко, 2005).

Одним из ярко выраженных вариантов массового слёта пчёл, является сезонная миграция пчёл среди индийских представителей рода *Apis*, таких как *Apis dorsata*. Для этих пчёл характерны миграции в сезон дождей, после которых они возвращаются на прежние территории. Другой пример касается необычного поведения восковой пчелы, обитающей в Приморье. Согласно наблюдениям местных пчеловодов, пчёлы этой породы с трудом приживаются в искусственно сооруженных ульях, и при постоянном вмешательстве человеком покидают ульи. При этом в семьях не наблюдается никаких признаков вирусных заболеваний, или заражённости клещом (Кузнецов, 2005).

Удивительной способностью к миграциям на дальние расстояния характеризуются южно-африканские пчелы (протяженность миграции может составлять 200–300 км). Нередко такие перелеты происходят на фоне серьезных климатических изменений. Эти факты свидетельствуют о том, что способность пчел к миграциям, остается одним из

загадочных, малоизученных и генетически детерминированных элементов их социального поведения. В большинстве случаев в основе такой миграции лежит изменение условий существования (не только снижение объемов медосбора, зараженность клещом, но и изменение экологической обстановки, связанной, например, с применением гербицидов и пестицидов). Также пока малоизученным остается вопрос влияния магнитных полей на процессы, протекающие в пчелиной семье и на ориентацию пчел в пространстве.

«Мы есть то, что мы едим» (пчелиная семья – модель для изучения процессов старения и долголетия). Матки и рабочие пчелы отличаются по продолжительности жизни примерно в 50 раз. Уже давно установлено, что развитие диплоидной личинки в том или ином направлении определяется качеством корма, который она получает от рабочих пчел-кормилиц. С открытием эпигенетических механизмов регуляции генетической системы, стало очевидным, что процесс развития диплоидных личинок пчелы сопровождается репрограммированием геномов в сторону превращения в половых или в бесполок особей женского пола. Современные исследования показали, что основные механизмы репрограммирования осуществляются за счет биохимических компонентов маточного молочка, приводящих к метилированию ДНК и РНК-интерференции. Последние работы свидетельствуют об особенностях репрограммирования генома не только в онтогенезе, но и в процессе социальной адаптации пчелиной семьи, что делает пчелиную семью моделью для изучения эпигенетических проявлений не только на уровне организма, но и в надорганизменном уровне – системе более высокого порядка (Barchuk, 2018).

Таким образом, даже через 150 лет с момента выхода книги Рулье, мы не перестаем удивляться биологическим особенностям организации пчелиной семьи, скрытой для непросвещенного взгляда. Переход генетики на новый уровень исследований, связанных с применением новых молекулярных маркеров, секвенирования генома пчелы открывает перед учёными колоссальные возможности для использования пчелиной семьи в качестве уникальной экспериментальной модели для изучения генетических, цитогенетических и эпигенетических механизмов регуляции функции генома при решении таких актуальных проблем современности, как проблемы долголетия, старения, влияние питания на продолжительность жизни.

Хотя филогенетически медоносные пчелы далеки от человека, они живут в обществах, которые соперничают с нашими собственными по сложности, внутренней сплоченности и успеху в решении бесчислен-

ных проблем, связанных с социальной жизнью, в том числе связанных с коммуникацией, старением, социальной дисфункцией и инфекционными заболеваниями.

По мнению известного американского генетика Г. Робинсона, секвенирование генома пчелы принесет пользу здоровью человека и медицине в различных областях, включая токсикологию, паразитологию, геронтологию, лечение аллергических, психических и инфекционных заболеваний (Robinson, 2003, 2005, 2018). У пчелы должны эволюционировать много мощных противобактериологических пептидов для того чтобы справиться с огромным количеством патогенов, которые процветают в условиях улья (повышенная температура, влажность и большая скученность насекомых). В связи с этим, изучение молекулярных моделей становления иммунитета в процессе эволюции у филогенетически древних насекомых, представляет большой интерес.

Предполагают, что мухи (дрозофилы) и пчелы разошлись в эволюции около 300 млн. лет, а насекомые и млекопитающие в последний раз разделяли общего предка по крайней мере 600 млн. лет назад. Несмотря на это, в геноме медоносной пчелы идентифицировано большое количество ортологов генов человека, которые не сохранились в геноме дрозофилы. Возможно, что это связано с социальным поведением пчелы.

Пчелы демонстрируют высокую степень социальной интеграции. Уже получены многообещающие результаты в идентификации генов, которые влияют на социальное поведение животных. Дальнейшее развитие этого направления предполагает интеграцию молекулярной биологии, социальной геномики, нейробиологии, генетики поведения и эволюционной биологии (Robinson, 2008).

Сбываются пророческие слова заведующего кафедрой пчеловодства СХА им. К.А. Тимирязева, А.А. Губина, сказанные им ещё в середине прошлого столетия – «Рассматривая семью пчел как биологическую целостность и созданную естественным отбором живую модель живого, мы получаем возможность приблизиться к более правильному пониманию, к более верной трактовке законов органического мира. И, если плодовая мушка дрозофила стала лабораторной моделью для генетических исследований на субклеточном уровне, то семья пчел обещает стать моделью для генетических исследований на организменном и сверхорганизменном уровнях».

ОСНОВНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Изучение биологии медоносной пчелы в лучших традициях ученых МГУ. Уроки истории

- Алпатов В.В. 1948. Породы медоносной пчелы и их использование в сельском хозяйстве. М.: Издательство МОИП. 183 с.
- Асланян М.М., Варшавер Н.Б., Готов Н.В., Маневич Э.Д., Орлов С.А. Серебровский Л.А. 1993. Александр Сергеевич Серебровский. М.: Наука. 192 с.
- Малахов В.В. 2006. Пока горит свеча. М.: Тов-во науч. изданий КМК. 153 с.
- Шабаршов И.А. 2005. Великие пчеловоды России. М.: ООП ФГУП ВО Минсельхоза России. 496 с.
- Шноль С.Э. 2012. Герои, злодеи, конформисты отечественной науки. Изд. 5-е. М.: Книжный дом «Либриком». 720 с.

2. Особенности биологии развития и размножения медоносных пчел

- Есков Е.К. 1992. Этология медоносной пчелы. М.: Колос. 336 с.
- Лаврехин Ф.А., Панкова С.В. 1969. Биология пчелиной семьи. 319 с.
- Лебедев В.И., Билаш Н.Г. 1991. Биология медоносной пчелы. М.: Агропромиздат, 239 с.
- Поправко С.А. 1989. Пчела на цветке. Агропромиздат, 351 с.
- Халифман И. 1962. Они летят по заданию // Пароль скрещенных антенн. М.: Гос. Изд. Детской литературы, С. 3–123.
- Moritz R.F.A., Southwick E.E. 1962. Bees as Superorganisms: An Evolutionary Reality // Springer-Verlag, cDM 188.00 hbk , 395 p. ISBN 3 540 5482 11 / DOI: 10.1007/978-3-642-84666-3.
- Robinson G.E., Fernald R.D., Clayton D.F. 2008. Genes and Social Behavior // Science. November 7; 322(5903): 896–900. doi:10.1126/science.1159277.
- Thölken C., Tham M., Erbacher C., Lechner M. 2019. Sequence and structural properties of circular RNAs in the brain of nurse and forager honeybees (*Apis mellifera*) *BMC Genomics*. 20:88 <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5402-6>.

3. Генетика пола

- Асланян М.М., Солдатова О.П. 2010. Генетика и происхождение пола. М.: Авторская академия. 116 с.
- Монахова М.А. 2008. Генетические основы феномена пестрого расплода / Пчеловодство. №1. С. 14–15.
- Шаскольский Д.В. 1968. Генетически пёстрый расплод // Пчеловодство. №1. С. 12–14.
- Шаскольский Д.В. 1968. Распределение серии множественных аллелей в теоретических популяциях в связи с биологией размножения медоносной пчелы // Генетика, т. 4. №10. С. 41–54.
- Cho S., Huang Z. Y., Green D. R., Smith D. R., Zhang J. 2006. Evolution of the complementary sex-determination gene of honey bees: Balancing selection and trans-species polymorphisms // Downloaded from www.genome.org on December 17 // To subscribe to Genome Research. 11 p.
- Hasselmann M., Gemper T., Schiott M. et al. 2008. Evidence for the evolutionary nascence of a novel sex determination pathway in honeybees // Nature Letters.

- Lechner S., Ferretti L., Schoning C., Schöning C., Kinuthia W., Willemsen D., Hasselmann M. 2013. Nucleotide variability at its limit? Insights into the number and evolutionary dynamics of the sex-determining specificities of the honey bee *Apis mellifera* // MBE Oxford Journals, Downloaded from <http://mbe.oxfordjournals.org/> by guest on February 19, 24, 37 p.
- Mackensen, O. 1951. Viability and sex determination in the honey bee (*Apis mellifera* L.) // Genetics 36, P. 500–509.

4. Женский партеногенез у пчёл

- Тряско В.В. 1969. Естественный партеногенез у медоносной пчелы // XX юбилейный международный конгресс по пчеловодству. М.: Колос. С. 356–361.
- Тряско В.В. 1973. Женский партеногенез у медоносных пчел // Проблемы апомиксиса у растений и животных. Наука. Сибирское отделение. С. 240–249.
- Чеснокова Е.Г. 1970. Генетика медоносной пчелы // Пчеловодство, №9. С. 28–30.
- Deodikar G.B. et al. 1959. Cytogenetic studies in *Indian Honey bee* L. // Proceedings Ind. Academy of Sciences, 49. P. 194–206.
- Verma S., Karol A. 1992. Chromosomal analysis of the eggs and ovaries of the laying workers of *Apis cerana* F. // Apidologie. 23. P. 285–289.
- Verma S., Ruttner F. 1983. Sitological analysis of the thelytokous parthenogenesis in the Cape honeybee (*Apis mellifera capensis* Escholtz) // Apidologie, 14 (1), P. 41–45.
- Tucker K.W. 1958. Automictic parthenogenesis in the honeybee. Genetics 43:299-316.

5. Генетическая природа роения

- Дубинин Н.П., Тиняков Г.Г. 1947а. Экология города и распространение инверсий у *Drosophila funebris*. П Доклады АН СССР, Т. 56. № 8. С. 865–867.
- Жимулев И. 2002. Общая и молекулярная генетика: [Учеб. пособие для вузов]. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та: Сиб. унив. изд-во.
- Монахова М.А. 2008. Генетическая природа роения // Пчеловодство. №7. С. 7–9.
- Монахова М.А. 2007. Удивительный рой // Пчеловодство. №10. С. 8–9.
- Stanimirovic Z., Stevanovic J., Andjelkonic M. 2005. Chromosomal diversity in *Apis mellifera carica* from Serbia // Apidologie 36 (1), January. P. 31–42.

6. Генотип, фенотип и норма реакции в условиях температурного стресса

- Голуб О.Н. 2007. Тайна пчелиного дупла. Шаг к разгадке. Киров. 92 с.
- Ветвицкий Н.М. 1861. Практическое пчеловодство в 5 частях.
- Еськов Е.К. 1995. Экология медоносной пчелы. Рязань. Русское слово. 392 с.
- Еськова М.Д. 2010. Перегрев улья и развитие расплода // Пчеловодство.
- Жимулев И.Б. 2003. Пуфы теплового шока и синдром клеточного стресса // Молекулярный механизм генетических процессов. Новосибирск.
- Монахова М.А., Горячева И.И. 2010. Генотип, фенотип и норма реакции в условиях температурного стресса // Пчеловодство. №4, С. 8–9.
- Пивоварова О.В., Васильева Л.А. 2004. Стрессовая индукция транспозиции ретротранспозонов mdg1 на разных стадиях сперматогенеза у самцов *D. Melanogaster* // Экол. генетика. Т. 2. №3.

Шмальгаузен И.И. 1968. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. М.: Наука.

7. Законы Менделя в пчеловодстве

- Войке Е. 1975. Мутации медоносной пчелы // Инструментальное осеменение пчелиных маток / под ред. Руттнера Ф. Бухарест: Апимондия. 127 с.
- Зорина З.А., Полетаева И. И, Резникова Ж.И. 2002. Генетика поведения некоторых видов насекомых: Медоносная пчела // Основы этологии и генетики поведения. Учебник. 2-е изд. М.: Изд-во МГУ: Изд-во «Высшая школа». С. 249–251.
- Матководство. Биологические основы и технические рекомендации / под ред. Руттнера Ф. 1981. Бухарест: Апимондия. 352 с.
- Риб Р.Д. 2008. Пчеловоду России. М.: Издатель А.Р. Риб. 564 с.
- Vecerek O. 1965. Johann Gregor Mendel as a Beekeeper, *Bee World*, 46:3, P. 86–96, DOI: 10.1080/0005772X.1965.11095345.

8. Геном пчелы медоносной

- Капралова О.В. 1980. Закономерности изменения в кариотипе медоносной пчелы на разных фазах ее онтогенеза / наземные и водные экосистемы. Межвузовский сборник. Горький изд ГГУ им Н.И. Лобачевского. С. 99–150, С. 130.
- Монахова М.А., Горячева И.И., Кривцов Н.И. 2007. Медоносная пчела *Apis mellifera* L. в генетическом поле // Пчеловодство. №4, С. 10–12.
- Патрушев Л.И., Минкевич И.Г. 2007. Проблема размера геномов у эукариот // Успехи биологической химии. т. 47, С. 293–370.
- Урсу Н.А., Никифоров А.В. Шойму К.Я. 1970. Изучение Кариотипа медоносной пчелы // Пчеловодство. №12. С. 22–23.
- The Honeybee Genome Sequencing Consortium. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera* // *Nature*. V.. 443, (26 October 2006). P. 931–949.
- Solignac M., Mougel F., Vautrin D. et al. 2007. A third-generation microsatellite-based linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, and its comparison with the sequence-based physical map // *Genome Biol.* 8(4): R66.
- Perez G.A. 2007. Generation of an Integrated Karyotype of the Honey Bee (*Apis mellifera* L.) by Banding Pattern and Fluorescent *in situ* Hybridization // A Dissertation in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy / Texas A&M University, 197 p.
- Brito R.M., Oldroyd B.P. 2010. A scientific note on a simple method for karyotyping honey bee (*Apis mellifera*) eggs // *Apidologie*. 41. P. 178–180.

9. Кризис в пчеловодстве. Состояние генофонда и генетическая паспортизация *Apis mellifera*

- Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Николенко А.Г. 2008. Методы идентификации подвида пчелы медоносной (*A.m. mellifera* L.) // Пчеловодство. № 8. С. 8.
- Кривцов Н.И. 2006. Генетические основы и перспективы селекции пчёл // Пчеловодство. №1.
- Кривцов Н.И. 2005. Флагман пчеловодной науки // Пчеловодство. №8.
- Кривцов Н.И. 2006. Некоторые проблемы и успехи пчеловодной науки // Пчеловодство. №1.

- Минченко А.Г., Дударева Н.А. 1990. Митохондриальный геном. Новосибирск: Наука, Сиб. отд.-е. 191 с.
- Монахова М.А. Горячева И.И., Кривцов Н.И. 2009. Генетическая паспортизация *Apis mellifera*. Проблемы и методы // Пчеловодство. №4, С. 11–14.
- Николенко А.Г., Поскряков А.В. 2002. Полиморфизм локуса COI–COII митохондриальной ДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* L. на южном Урале // Генетика, 38(4): 458–462.
- Brown W.M., George M., Wilson A.C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA // Proc Natl Acad Sci USA., V. 76, P. 1967–1971.
- Cummins J.M. 2002. The role of maternal mitochondria during oogenesis, fertilization and embryogenesis // Reproductive BioMedicine Online, Volume 4 (2). P. 176–182.
- Shitara H., Kaneda H., Sato A. et al. 2000. Selective and continuous elimination of mitochondria microinjected into mouse eggs from spermatids, but not from liver cells, occurs throughout embryogenesis // Genetics. Nov.156 (3):1277–1284.

10. Эпигенетические механизмы репрограммирования генома пчелы медоносной в онтогенезе

- Боб Хор. 2006. Генетика медоносной пчелы и промышленное пчеловодство // American Bee Journal. №4, 2000. Пчеловодный вестник №4–6.
- Ванюшин Б.Ф. 2013. Эпигенетика сегодня и завтра // Вавилонский журнал генетики и селекции. т. 17. вып. 4/2. С. 805–832.
- Губин В.А. 2001. Между Рикой и Тереблем // Пчеловодство» №4.
- Drewell R.A. Bush E.C., Remnant E.J. 2014. The dynamic DNA methylation cycle from egg to sperm in the honey bee *Apis mellifera* // The company of Biologists. 141. P. 2702–2711.
- Foret S., Kucharski R., Pellegrini M. et al. 2012. DNA methylation dynamics, metabolic fluxes, gene splicing and alternative phenotypes in honey bees // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 109. P. 4968–4973.
- Herb B.R., Wolschin F., Hansen K.D. et al. 2012. Reversible switching between epigenetic states in honeybee behavioral subcastes // Nat. Neurosci. 15. P. 1371–1373.
- Lyko F., Foret S., Kucharski R. et al. 2010. The honey bee epigenomes: differential methylation of brain DNA in queens and workers // PLoS. Biol. 8. e1000506.
- Smith C.R., Toth A.L., Suarez A.V., Robinson G.E. 2008. Genetic and genomic analyses of the division of labour in insect societies // Nature reviews / Genetics v. 9. P. 735–749.
- Spannhoff A., KeeKim Y., Raynal N. J.-M. et al. 2011. Histone deacetylase inhibitor activity in royal jelly might facilitate caste switching in bees // EMBO Reports. Vol. 12. №3.

11. Экологический апимониторинг

- Гелашвили Д.Б., Краснов А.Н. 2001. Методологические и методические аспекты мониторинга здоровья среды / Природные условия Керженского заповедника // Труды гос. Природного заповедника «Керженский», т. 1. С. 287–324.
- Еськов Е.К., Ярошевич Г.С., Еськова М.Д., Кострова Г.А. Влияние загрязнения свинцом и кадмием углеводного корма пчел на их физиологическое состояние и жизнеспособность. <http://www/rgazu.ru/db/conferencii/08-1/works/001.htm>.

- Какпаков В.Т. 2001. Экологический апимониторинг // Агроэкология и охрана окружающей среды. М., С. 60–62.
- Максимов В.В. 2002. Влияние техногенных загрязнений на состояние пчел и продукты пчеловодства / Атореферат на соиск. уч. ст. к.б.н. М., 21 с.
- Монахова М.А., Сайфутдинова З.Н., Васильев В.А., Гальбек Т.В. 2013. Пчела медоносная (*Apis mellifera*) в экологическом мониторинге // Доклады по экологическому почвоведению. 18. 1. С. 327–337.
- Осинцева Л.А., Волкова М.В., Полянская В.И. 2012. Роль мелиссопалинологического анализа в оценке качества и безопасности продукции пчеловодства / Пчелопродукты – здоровье нации // Сб. трудов VII Международного научно практического форума по пчеловодству. Новосибирск. С. 53–54.
- Пономарев А.С. Портал «Мир пчеловодства» (www.apeworld.ru).
- Sayfutdinova Z.N., Shangaraeva G. 1997. The honeybee population as eco-toxicological indicators // Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 1997. Т. 379. № S1. P. 96.

12. Коллапс пчелиных семей и вирусная концепция его возникновения

- Батуев Ю.М., Горячева И.И. 2010. Идентификация вирусов пчел методами молекулярно-генетического анализа // Пчеловодство. №7. С. 10–13.
- Вольхина В. 2015. Вирусные заболевания пчел // Белорусское сельское хозяйство. №6 (158).
- Грбов О.Ф. 2010. Роль варроа в массовой гибели пчел // Труды ВИЭВ. т. 76. 260 с.
- Калашников А.Е., Удина И.Г. 2017. Распространение РНК-содержащих вирусов пчел у медоносной пчелы (*Apis mellifera*) в отдельных регионах России // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. №1. С. 31–35.
- Королев А.В. 2015. Некоторые закономерности гибели пчелиных семей в 2014 году // Пчеловодство. №8. С. 14–15.
- Масленникова В.И., Климов Е.А., Королев А.В., Кокаева З.Г., Шевцова А.А. 2018. Оценка вирусной и клещевой нагрузки на пчелиные семьи в Белгородской области при массовой гибели пчел // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. № 6. С. 89–95.
- Масленникова В.И., Климов Е.А., Королев А.В., Кокаева З.Г., Гареев Р.Р., Лунькова А.А. 2017. Оценка влияния вирусной и клещевой нагрузки на гибель пчел России // Пчеловодство. №5. С. 28–30.
- Спрыгин А.В., Бабин Ю.Ю., Ханбекова Е.М., Рубцова Л.Е. 2016. Угрозы распространения вирусных инфекций у пчел (*Apis mellifera* L.) и роль клеща *V. destructor* в развитии патологий // Сельскохозяйственная биология. Т. 51. № 2. С. 156–171.
- Francis R.M., Nielsen S.L., Kryger P. 2013. Varroa-virus interaction in collapsing honey bee colonies // PLoS ONE. V. 8. e57540.
- Locke B., Semberg E., Forsgren E., de Miranda J.R. 2017. Persistence of subclinical deformed wing virus infections in honeybees following Varroa mite removal and a bee population turnover // PLoS ONE. V. 12. №7. e0180910.
- McMenamin A.J., Flenniken M.L. 2018. Recently identified viruses and their impact on bee pollinators // Current Opinion in Insect Science. V. 26. P. 120–129.
- Wilfert L., Long G., Leggett H. C., Schmid-Hempel P., Butlin R., Martin S. J. M., Boots M. 2016. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by Varroa mites // Science. V. 351. P. 594–597.

13. Биотехнологические методы

- Бородачев А.В., Бородачева В.Т. 1990. Инструментальное осеменение маток // Пчеловодство. №9, С. 12–13.
- Васильев В.А. 2015. Разработка условий и метода получения культур клеток медоносных пчел // Труды ВИЭВ, т. 78. С. 109–115.
- Гулов А.Н. 2018. Воспроизводительные способности инструментально осемененных маток // Пчеловодство. №4. С. 13–15.
- Гулов А.Н., Сайфутдинова З.Н., Ларькина Е.О. 2019. Анализ криоконсервированной спермы трутней // ж. Пчеловодство, №2, С. 16–18.
- Какпаков В.Т., Кабашова О.В., Бородачев А.В., Бородачева В.Т. 2001. Способ получения плодных маток медоносной пчелы. Патент РФ №2173045 от 10. 09. 2001.
- Какпаков В.Т. 2008. Уровни генетической изменчивости темной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. // Материалы межд. конференции пчеловодства 21 век. М., С. 54.
- Сайфутдинова З.Н. 2001. Система действий и отношений генов (на примере популяции медоносной пчелы) // Сб. мат. науч. конф. памяти Г. Менделя. М.: изд. МСХА, С. 117.
- Сайфутдинова З.Н., Гулюкин М.И. 2015. Кробиотехнологические методы в пчеловодстве // Актуальные проблемы биотехнологии в аграрно-промышленном комплексе: материалы межд. научно-практической конференции. Минск. С. 87–90.

Заключение

- Васильева Е.Н., Халифман И.А. 1981. Пчелы Издание шестое, дополненное. Серия «Эврика». М.: Молодая гвардия. 189 с.
- Кузнецов В.Н. 2005. Китайская восковая пчела *Apis cerana cerana* F. (Hymenoptera, Apidae) Дальнем Востоке России. М.: Тов-во. научн. изданий КМК. 111 с.
- Николаенко В.П. 2010. Генетика пчелы. Издательство ЮНЦ РАН. 163 с.
- Barschuk A.R. et al. 2018. The ontogenetic saga of a social brain // Apidologie. 49. P. 32–48. Killer Bees. Africanized Honey Bees. <https://www.desertusa.com/insects/kbees.html>.
- Robinson G.E. 2003. Proposal for the Sequencing of a New Target Genome: White Paper for a Honey Bee Genome Project // The Honey Bee Genome Sequencing Consortium (document). 15 p.
- Robinson G.E. 2005. Sociogenomics: Social Life in Molecular Terms // Nature Reviews/Genetics. V. 6. 257 p.

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Аллели – одно из возможных состояний гена, возникают в результате генных мутаций, локализованы в гомологичных участках хромосом.

Апимониторинг – новое направление в использовании пчел и продуктов пчеловодства как индикаторов состояния окружающей среды.

Аррентокия – форма партеногенеза при котором неоплодотворенные яйца развиваются только в самцов, а для возникновения самок необходимо оплодотворение, встречается у видов с гаплодиплоидным определением пола.

Биоценоз – исторически сложившаяся совокупность организмов, населяющих относительно однородный участок территории (суши или водоема) и связанных друг с другом и с окружающей средой.

Выход роя – естественный результат деления пчелиной семьи (роение).

Генофонд – совокупность генных вариаций (*аллелей*) вида.

Главный медосбор – сбор пчелами нектара в период массового цветения медоносных растений, продолжительность главного медосбора зависит от основных медоносных растений и климатических условий. В средней полосе России главный медосбор наступает примерно в конце июня и длится 3–4 недели, наиболее интенсивен 1–2 недели.

Гомологичные гены – гены, обладающие сходными нуклеотидными последовательностями, имеющие общее происхождение и контролирующее проявление одного и того же признака.

Генетическая паспортизация – получение генетически детерминированных (индивидуальных и/или групповых) характеристик с помощью морфологических и/или молекулярных маркеров.

Гистолиз – процесс разрушения структуры тканей организма под воздействием протеолитических ферментов тканевого или бактериального происхождения.

Дальность полета – расстояние на которое пчела может лететь за взятком до 3–5 км, в исключительных случаях до 7 км; дальность брачного полета трутней и маток достигает до 9 км.

Деление пчелиных семей – искусственный способ размножения пчелиных семей (в отличие от естественного – роения). Деление пчелиных семей пополам заключается в переносе половина рамок с пчелами в новую семью (улей) – *отводок*. Существует неравномерное деление семьи, когда отделяют часть гнездовых рамок и пчел.

Жилкование – расположение жилок на крыле, служит для определения породной принадлежности пчелы.

Злобливость – мера способности пчел проявлять враждебность и агрессивность по отношению к нарушителям их естественного состояния.

Зобик – медовый желудочек, участок передней кишки (расширенный конец пищевода), выполняющий роль резервуара для временного хранения нектара, меда или воды. В зобике начинается ферментативная обработка нектара секретами слюнных желез.

Изнание трутней – удаление пчелами трутней из улья, связанное с прекращением выделения нектара *медоносными растениями* в конце лета.

Имаго – конечная стадия в развитии насекомого, взрослое насекомое. Пчела, трутень и матка, достигшие стадии имаго, прогрызают крышечку ячейки, в которой они развивались, и выходят из неё, готовые начать свою жизнедеятельность.

Импринтинг – явление избирательного влияния родительских геномов на уровень экспрессии генов у потомков.

Инбридинг – близкородственное скрещивание (размножение).

Каста – термин, используемый для описания группы особей в социальных колониях насекомых, которая специализируется в определенной степени на конкретной деятельности в результате *разделения труда*. Социальные касты насекомых могут быть связаны с различиями в возрасте, анатомии и морфологии.

Касты пчелиные – две женские особи (*матка и рабочие пчелы*) с одинаковым генетическим набором, но с разным фенотипом и совершенно различными функциями в семье.

Клуб – естественное сгущивание пчелиной семьи в форме сферического шара в период зимовки. Благодаря такому состоянию пчелы при небольших затратах корма способны поддерживать внутри клуба положительную температуру.

Коллапс – резкое сокращение численности пчелиной семьи, связанное с гибелью или слетом пчел.

Кормилица – пчела, занятая выращиванием молодых пчел.

Корм личиночный – высокопитательное вещество (маточное молочко), с большим содержанием белка, секретируемое гипофарингеальными железами рабочей пчелы; смесь меда и перги, которой пчелы-кормилицы снабжают личинок пчел и трутней в старшем возрасте.

Куколка – стадия развития пчелы, которая завершается формированием взрослого насекомого.

Летальные гены – гены, приводящие к гибели особи; эмбриональные летали – гибель на ранних стадиях развития особи.

Личинка – одна из стадий развития пчелы, матки, трутня. Личинка матки к концу развития весит почти в три тысячи раз больше, чем в момент вылупления из яйца.

Локус – место расположения гена на генетической карте.

Магазинная надставка (магазин) – ящик без дна, устанавливаемый на улей, служит для расширения пространства гнезда пчел во время *главного медосбора*, имеет одинаковые с корпусом улья длину и ширину, высота стандартная – 165 мм.

Матка – единственная в пчелиной семье плодовитая самка, с развитыми половыми органами; основная функция – откладка яиц, из которых выводятся рабочие пчелы, трутни и новые матки.

Матка девственная (виргинная, неплодная) – молодая матка, не спарившаяся с трутнями (или не осеменённая трутнями, например, из-за холодной дождливой погоды).

Матка свищевая – воспитанная из ранней личинки рабочей пчелы взамен внезапно пропавшей матки, развивается в *свищевых маточниках*, отстроенных на основе пчелиных ячеек.

Матка роевая – выведенная пчелами в роящейся семье и развивается в специальном *роевом маточнике*.

Матка-грутовка (матка трутневая) – матка, не спарившаяся с трутнем и откладывающая неоплодотворенные яйца.

Маточник – особой формы цилиндрические восковые образования на соте (длина от 20 до 25 мм), отстраиваемые на специальных расширенных ячейках (мисочках) пчелами для вывода маток. Маточник бывает запечатанный, зрелый, искусственный, открытый, закрытый, роевой, свищевой.

Метилирование ДНК – эпигенетическая модификация молекулы ДНК, связанная с присоединением метильной ($-CH_3$) группы к цитозину.

Множественные аллели – серия мутаций *аллелей* одного и того же гена, расположенных в одном и том же *локусе*.

Нектар – сладкая жидкость, выделяемая железами растений, служит для привлечения насекомых

Нокдаун гена – это метод молекулярной генетики, позволяющий снизить экспрессию одного или нескольких генов. Осуществляется за счет изменения соответствующей последовательности гена, либо с помощью коротких олигонуклеотидов, комплементарных мРНК данного гена.

Облет – первый весенний вылет пчел, сопровождаемый освобождением кишечника от экскрементов или первый облет молодых пчел.

Отводок – отделенная часть пчелиных рамок с пчелами из одной (индивидуальный о.) или нескольких семей (сборный о.). Формируют для размножения пчелиных семей (см. *деление пчелиных семей*).

Онтогенез – индивидуальное развитие организма, совокупность морфологических, физиологических и биохимических преобразований организма от оплодотворения до смерти.

Ортологи – гомологичные гены, присутствующие в геномах организмов разных видов и сохранившиеся от общего предка.

Отбор на уровне колонии – особая форма группового (семейного) отбора, впервые описанная Ч. Дарвиным, чтобы объяснить эволюцию стерильных рабочих в сообществах насекомых.

Открытый расплод – яйца и личинки пчел в открытых ячейках.

Паралогичные гены – гомологичные гены, присутствующие в геноме одного и того же вида, возникшие в результате дупликации.

Партеногенез – форма полового размножения, при котором женские половые клетки развиваются без оплодотворения; девственное размножение; развитие нормальных особей из неоплодотворенного яйца.

Перга – цветочная пыльца, принесенная пчелами в улей, сложенная в ячейки, утрамбованная, залитая сверху медом и подвергшаяся молочнокислому брожению.

Печатка – восковые крышечки, покрывающие ячейки сотов с медом.

Печатка мокрая – характеризуется тем, что восковая крышечка лежит непосредственно на меде.

Печатка сухая – между крышечкой и поверхностью меда находится воздушная полость.

Печатный расплод – личинки и куколки в запечатанных ячейках.

Полиандрия – форма отношений у животных, при которой одна самка за сезон размножения спаривается с несколькими самцами; спаривание матки с несколькими трутнями.

Полиплоидия – увеличение числа наборов хромосом в клетках организма, кратное гаплоидному числу хромосом.

Прополис – клейкое смолистое вещество, сырьём для которого служит растительная смола (выделения с почек, листьев, побегов, стеблей и коры деревьев); пчелиный клей.

Пчела рабочая – женская особь пчелиной семьи с недоразвитыми половыми органами.

Пчелиные соты – восковые постройки пчел, предназначенные для воспитания потомства, создания запасов корма (меда и перги) и круглосуточного пребывания на них особей пчелиной семьи.

Пчелы-трутовки – рабочие пчелы, начавшие откладывать неплодные яйца (трутовочные) при гибели или потере пчелиной матки.

Разделение труда – это социальная система, в которой индивиды специализируются на выполнение конкретной деятельности. Пчелиные матки выполняют функции размножения, тогда как рабочие пчелы выполняют все задачи, связанные с ростом и развитием семьи. Молодые пчелы, как правило, работают в гнезде, в то время как старые особи заняты добыванием корма вне гнезда.

Расплод – развивающиеся в ячейках сот разные стадии развития яиц и личинок (открытый расплод) и куколок (закрытый расплод). Расплод горбатый – закрытый расплод с куколками трутней, развивающихся в пчелиных ячейках из неоплодотворенных яиц *пчел-трутовок*.

Расширение гнезда – увеличение объема гнезда пчелиной семьи при постановке в него рамок с сотами и вощиной. Летом перед *главным медосбором* расширяют *магазинными надставками*.

Роение – естественная форма размножения пчелиных семей, отделение от основной семьи *роя пчелиного*

Рой пчелиный – новая пчелиная семья, сформировавшаяся в основной (материнской) семье и самостоятельно выделившаяся из неё при *роении*, содержит как правило одну матку (с первым роем вылетает старая матка), несколько сотен трутней и несколько десятков тысяч рабочих пчел. Перед вылетом с роем пчелы заполняют свои *зобики* медом, этот запас корма позволяет им длительное время переносить неблагоприятные условия (до 10 суток). Рой прививается (садится) обычно на ветку дерева в виде грозди (роевой клуб), состоящей из уцепившихся друг за друга пчел, и находится в таком состоянии несколько часов, иногда более суток, до отлета к новому жилищу.

Сила пчелиной семьи – масса находящихся в пчелиной семье рабочих пчел, важнейший показатель биологического состояния семьи, измеряется в кг непосредственным взвешиванием или числом *улочек пчел*.

Сплайсинг – процесс реорганизации молекул нуклеиновых кислот и белков, протекающий после их синтеза и заключающийся в вырезании из длинной молекулы отдельных фрагментов и ковалентном соединении оставшихся.

Суперорганизм (сверхорганизм) – метафора для колонии (семьи) социальных насекомых, в которой можно выделить три ключевые характеристики: во-первых, колония (семья) функционирует как единая, высокоинтегрированная единица; во-вторых, естественный отбор действует на колонию в целом; и в-третьих, относительное отсутствие конкуренции между индивидами.

Телитокия – наиболее распространенная форма женского партеногенеза у животных: развитие диплоидных самок из неоплодотворенных яиц, за счет слияния гаплоидного ядра яйцеклетки с одним из направительных телец (редукционных телец); у медоносной пчелы встречается редко, до 1%.

Транскриптом – совокупность всех РНК (в том числе мРНК и некодирующие РНК), синтезируемых одной клеткой или группой клеток.

Трутни – мужские особи пчелиной семьи, развиваются из неоплодотворенных яиц, выполняют только одну функцию – осеменение пчелиных маток.

Улочка пчел – количество пчел, занимающее пространство между смежными сотами, применяется как единица измерения *силы пчелиной семьи*. В улье со стандартными рамками 435x300 мм пчелы, занимающие одну улочку, весят 250–300 г. Сильная семья имеет около 10 улочек пчел, их вес при этом составляет 2,5 кг и более.

Хоботок – специальное образование ротового органа пчелы для всасывания жидкой пищи, состоит из вытянутых нижних челюстей и нижних губ.

Энтомофильные растения – растения, опыляемые насекомыми.

Эпигенетика – наука о наследуемых свойствах организма, которые не связаны с изменением собственно нуклеотидной последовательности ДНК и могут быть не прямо, а опосредованно закодированы в геноме.

Ячейка – обособленная часть воскового *сота*, ограниченная дном, стенками и входным отверстием, имеющим правильную шестигранную форму; служит местом для развивающейся личинки рабочих пчел и трутней, для складывания и хранения меда и перги.

Сведения об авторах:

Монахова М.А. – доцент, к.б.н., кафедра генетики биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова

Сайфутдинова З.Н. – к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела клеточной биотехнологии Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН

Горячева И.И. – д.б.н., зав. лаборатории генетики насекомых Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

Кокаева З.Г. – к.б.н., ст. науч. сотр. кафедры генетики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Климов Е.А. – д.б.н., доцент, вед. науч. сотр. кафедры генетики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Королев А.В. – к.с-х.н., доцент кафедры мелкого животноводства МГАВМиБ – МВА им. К.И.Скрябина

Акимова Н.И. – м.н.с., Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

Авторы будут признательны за пожелания и замечания, высказанные по содержанию настоящего сборника (monakhova@list.ru).