# ANALIZA ZRÓŻNICOWANIA GENETYCZNEGO I MORFOLOGICZNEGO WYBRANYCH POPULACJI PSZCZOŁY MIODNEJ

Zakład Pszczelnictwa IO w Puławach

54 Naukowa Konferencja Pszczelarska, Puławy 7-8 marca 2017

**Dariusz Gerula[1], Bogumiła Badek[2], Tomasz Białek[1], Małgorzata Bieńkowska[1], Małgorzata Korbin[2], Beata Panasiuk[1], Ewa Skwarek[1], Paweł Węgrzynowicz[1]**

[1]Zakład Pszczelnictwa, Instytut Ogrodnictwa, ul. Kazimierska 2, 24-100 Puławy

[2]Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Instytut Ogrodnictwa, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice

Praca została wykonana w ramach programu wieloletniego IO (2015-2020) „Działania na rzecz poprawy konkurencyjności i innowacyjności sektora ogrodniczego z uwzględnieniem jakości i bezpieczeństwa żywności oraz ochrony środowiska naturalnego”, finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

## Cel pracy

Ocena bioróżnorodności hodowlanych populacji pszczoły miodnej poprzez analizę zróżnicowania genetycznego i morfologicznego.

## Materiał i metody

**Analizy molekularne**. Badania te wykonano na 141 próbach pszczół pobranych z rodzin pszczelich rasy (podgatunku) *Apis mellifera carnica* Pollm., należących do 8 linii hodowlanych. Do izolacji DNA pszczół wykorzystano zestaw EXTRACTME DNA Tissue Kit (DNA-Gdańsk). Jedną rodzinę pszczelą reprezentowało pięć osobników. Do oceny zróżnicowania genetycznego linii hodowlanych na poziomie molekularnym zastosowano metodę SSR-PCR, z użyciem sześciu par starterów mikrosatelitarnych (Solignac i inni 2007): A007, A088, Ap043, Ap103, Ap226, Ap249. Dane przeanalizowano za pomocą programu GenAlEx, w celu wyznaczenia parametrów statystycznych opisujących stopień zróżnicowania lub (i) pokrewieństwa genetycznego pomiędzy rodzinami pszczelimi i liniami hodowlanymi (analiza wariancji molekularnej AMOVA). Na podstawie otrzymanych wartości dystansu genetycznego przeprowadzono analizę głównych współrzędnych (PCoA – principal coordinate analysis), umożliwiającą graficzne przedstawienie związku pomiędzy zróżnicowaniem molekularnym a odległością genetyczną pomiędzy analizowanymi próbami.

**Analiza morfometryczna**. Do badań posłużyły pszczoły z tych samych rodzin, z których pobierano osobniki do badań molekularnych. Ocenę czystości rasowej matek pszczelich wykonano na podstawie użyłkowania prawego skrzydła, pierwszej pary u robotnic (morfometria geometryczna). Z każdej próby wypreparowano po 20 prawych skrzydeł pierwszej pary i wprawiono w ramki do przezroczy. Tak przygotowane preparaty zeskanowano do plików cyfrowych o dużej rozdzielczości i analizowano programem do automatycznego oznaczania punktów przecięcia się żyłek. Następnie poddawano je weryfikacji wykonując analizę kanoniczną (CCA- Canonical Correlation Analysis) w oparciu o wskaźniki różnicujące je od populacji wzorcowej (Gerula i inni 2009).

## Wyniki

**Rycina 1. Analiza głównych współrzędnych na podstawie wartości dystansu genetycznego pomiędzy rodzinami odpowiednich linii hodowlanych: (A)- Aga A, (B)- Wineta W, (C)-Dobra-S D1, (D)- Dobra-K D2, (E)-Karpatka K, (F)- Kujawska Ku, (G)- Wanda Wa, (H)- Alpejka Al.**

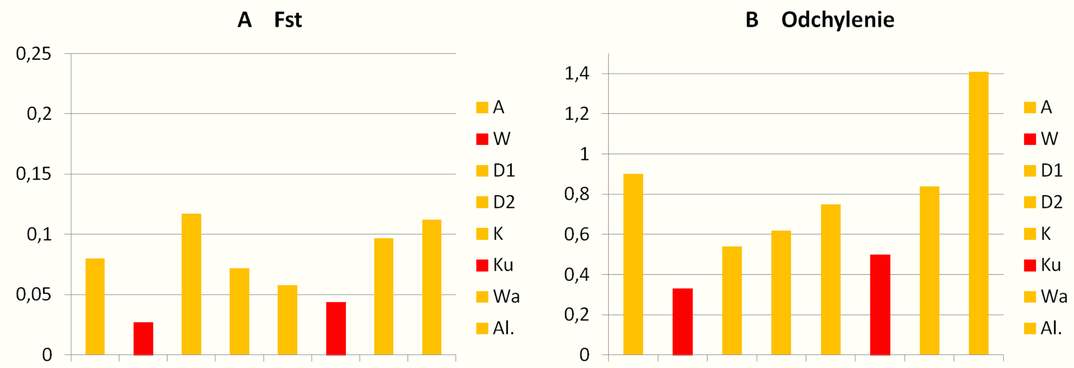



W każdej linii hodowlanej stwierdzono zarówno rodziny pszczele blisko spokrewnione genetycznie ze sobą jak i te, u których stwierdzono odmienność genetyczną. Szczegółowe dane wraz z zaznaczonym kolorem czerwonym obszary skupiające rodziny o najbliższym pokrewieństwie genetycznym przedstawia rycina 1 A, B, C, D, E, F, G, H.

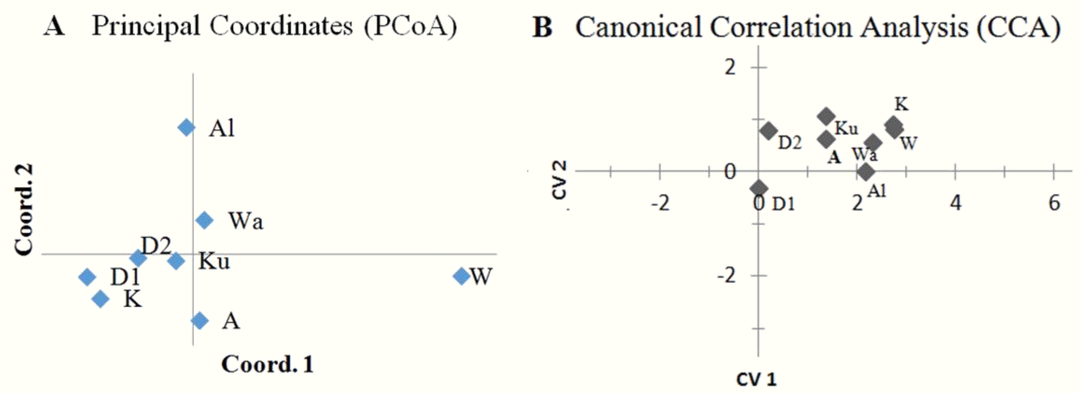
Najmniej zróżnicowanymi liniami hodowlanymi okazały się Wineta i Kujawska, u których indeks Fst wynosił odpowiednio 0,027 i 0,044. W pozostałych populacjach indeks ten był przeciętny i wynosił 0,058-0,117 (Ryc. 2 A). Najwyższy indeks utrwalenia (0,117), czyli największe zróżnicowanie genetyczne zaobserwowano w linii hodowlanej Dobra-S, jedynej rodzimej populacji pszczół kraińskich.

Analiza wariancji molekularnej wykazała, że badane linie są przeciętnie spokrewnione. Najbliższe pokrewieństwo stwierdzono pomiędzy liniami Dobra-S i Karpatka, natomiast najodleglejsze pomiędzy liniami Dobra-S i Wineta (Ryc. 3 A).

**Rycina 2. Wskaźniki zróżnicowania genetycznego i morfologicznego wewnątrz populacji: (A) Wartość indeksu utrwalenia alleli (Fst), (B) Średnie odchylenie od średniego pierwiastka kanonicznego. Nazwy linii hodowlanych- patrz rycina 1.**




**Rycina 3. Podobieństwo populacji pszczół na podstawie: (A) wartości dystansu genetycznego, (B) analizy morfologicznej. Nazwy linii hodowlanych- patrz rycina 1.**




Analizując użyłkowanie skrzydeł stwierdzono, że wszystkie badane linie pszczół są czyste rasowo. Rycina 3 B przedstawia podobieństwo badanych linii hodowlanych na podstawie obrazu skrzydeł. Zmienność układu żyłek na skrzydłach poszczególnych robotnic w rodzinach pszczelich wyrażono wskaźnikiem średniego odchylenia od średniego pierwiastka kanonicznego. Niektóre populacje pszczół, u których zaobserwowano niskie zróżnicowanie morfologiczne robotnic cechowało niskie zróżnicowanie genetyczne (Fst) (Ryc. 2 A, B). Współczynnik korelacji Pearsona pomiędzy wskaźnikami zróżnicowania genetycznego i morfologicznego wyniósł R = 0,63.

## Podsumowanie i wnioski

1. Wskaźniki utrwalenia alleli w populacjach (Fst) świadczą o przeciętnym lub niskim zróżnicowaniu genetycznym badanych populacji pszczół. Największe zróżnicowanie genetyczne zaobserwowano w jedynej rodzimej populacji pszczół kraińskich
2. Na podstawie analizy polimorfizmu DNA stwierdzono średni poziom pokrewieństwa między wybranymi liniami hodowlanych pszczół kraińskich.
3. Analiza czystości rasowej wybranych populacji pszczół na podstawie pomiarów morfometrycznych świadczy o wysokim poziomie cech podgatunkowych.
4. Wskaźniki zróżnicowania genetycznego i morfologicznego w badanych populacjach są skorelowane.

Literatura:

Gerula D, Tofilski A, Węgrzynowicz P, Skowronek W (2009) Computer-assisted discrimination of honey bee subspecies used for breeding in Poland. Journal of Apicultural Science 53: 105–114.

Solignac M, Zhang L, Mougel F, Li B, Vautrin D, Monnerot M, Cornuet JM, Worley KC, Weinstock GM, Gibbs RA (2007). The genome of Apis mellifera: dialog between linkage mapping and sequence assembly. Genome biology 8(3): 403.