

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ВЕСТНИК ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

БИОЛОГИЯ

Tomsk State University Journal of Biology

Научный журнал

2013

№ 1 (21)

Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС 77-29499
от 27 сентября 2007 г.

Журнал «Вестник Томского государственного университета. Биология»
входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов
и изданий, в которых должны быть опубликованы
основные научные результаты диссертаций
на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук»
Высшей аттестационной комиссии



ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

Майер Г.В., д-р физ.-мат. наук, проф. (председатель); **Дунаевский Г.Е.**, д-р техн. наук, проф. (зам. председателя); **Ревушкин А.С.**, д-р биол. наук, проф. (зам. председателя); **Катунин Д.А.**, канд. филол. наук, доц. (отв. секретарь); **Берцун В.Н.**, канд. физ.-мат. наук, доц.; **Воробьёв С.Н.**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.; **Гага В.А.**, д-р экон. наук, проф.; **Галажинский Э.В.**, д-р психол. наук, проф.; **Глазунов А.А.**, д-р техн. наук, проф.; **Голиков В.И.**, канд. ист. наук, доц.; **Горцев А.М.**, д-р техн. наук, проф.; **Гураль С.К.**, д-р пед. наук, проф.; **Демешкина Т.А.**, д-р филол. наук, проф.; **Демин В.В.**, канд. физ.-мат. наук, доц.; **Ершов Ю.М.**, канд. филол. наук, доц.; **Зиновьев В.П.**, д-р ист. наук, проф.; **Канов В.И.**, д-р экон. наук, проф.; **Кузнецов В.М.**, канд. физ.-мат. наук, доц.; **Кулижский С.П.**, д-р биол. наук, проф.; **Парначёв В.П.**, д-р геол.-минер. наук, проф.; **Портнова Т.С.**, канд. физ.-мат. наук, доц., директор Издательства НТЛ; **Потекаев А.И.**, д-р физ.-мат. наук, проф.; **Прозументов Л.М.**, д-р юрид. наук, проф.; **Прозументова Г.Н.**, д-р пед. наук, проф.; **Пчелинцев О.А.**, зав. редакционно-издательским отделом ТГУ; **Рыкун А.Ю.**, д-р социол. наук, доц.; **Сахарова З.Е.**, канд. экон. наук, доц.; **Слизов Ю.Г.**, канд. хим. наук, доц.; **Сумарокова В.С.**, директор Издательства ТГУ; **Сущенко С.П.**, д-р техн. наук, проф.; **Тарасенко Ф.П.**, д-р техн. наук, проф.; **Татьянин Г.М.**, канд. геол.-минер. наук, доц.; **Унгер Ф.Г.**, д-р хим. наук, проф.; **Уткин В.А.**, д-р юрид. наук, проф.; **Черняк Э.И.**, д-р ист. наук, проф.; **Шилько В.Г.**, д-р пед. наук, проф.; **Шрагер Э.Р.**, д-р техн. наук, проф.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА «ВЕСТНИК ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА. БИОЛОГИЯ»

Кулижский С.П., д-р биол. наук, проф., зав. каф. почвоведения и экологии почв, директор Биологического института (председатель); **Астафурова Т.П.**, д-р биол. наук, проф., зав. каф. агрономии, директор Сибирского ботанического сада ТГУ (зам. председателя); **Гуреева И.И.**, д-р биол. наук, проф., зав. Гербарием П.Н. Крылова (зам. председателя); **Москвитина Н.С.**, д-р биол. наук, проф., зав. каф. зоологии позвоночных и экологии (зам. председателя); **Акимова Е.Е.**, канд. биол. наук, старший преподаватель кафедры экологической и сельскохозяйственной биотехнологии ТГУ (отв. секретарь); **Кривова Н.А.**, д-р биол. наук, проф.; **Бушов Ю.В.**, д-р биол. наук, проф., зав. каф. физиологии человека и животных; **Данченко А.М.**, д-р биол. наук, проф., зав. каф. лесоведения и зеленого строительства; **Пяк А.И.**, д-р биол. наук, проф. каф. ботаники; **Свиридова Т.П.**, канд. биол. наук, зам. директора Сибирского ботанического сада ТГУ; **Стегний В.Н.**, д-р биол. наук, проф., зав. каф. цитологии и генетики.

ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 638.12(571.16)

**Н.В. Островерхова, О.Л. Конусова, А.Н. Кучер,
Ю.Л. Погорелов, Е.А. Белых, А.А. Воротов**

Биологический институт Томского государственного университета (г. Томск)

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ (*Apis mellifera* L.) В РАЙОНЕ д. ЛЕБОТЁР ЧАИНСКОГО РАЙОНА ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ
(грант 12-04-32287 мол_а).

Исследована популяционно-генетическая структура медоносной пчелы в районе д. Леботёр Чаинского района Томской области. Проанализированы основные морфометрические показатели (длина хоботка и параметры крыла) и изучены особенности митохондриального генома (локус цитохромоксидаза I – цитохромоксидаза II) медоносной пчелы. Оценены информативность и значимость отдельных параметров и их сочетаний для определения породной принадлежности медоносной пчелы. Показано, что каждый отдельно взятый показатель не позволяет полно оценить состояние популяции. Митохондриальный маркер дает возможность определить происхождение особи только по материнской линии. Кубитальный индекс оказался значимым для анализа породного состава популяции, но в комплексе с генетическим маркером. Гангельный индекс является необходимым, но недостаточным показателем для оценки популяций медоносной пчелы. Только комплексный анализ различных морфометрических показателей и генетических особенностей медоносной пчелы обеспечивает более полное описание популяционно-генетической структуры. Современное состояние популяции медоносной пчелы на пасеке в д. Леботёр свидетельствует о необратимом процессе метисации пчел пасеки. Восстановление данной популяции пчел, обладающей генофондом среднерусской породы, возможно в случае максимальной замены гибридных пчел на чистопородных с дальнейшим постоянным контролем состояния генофонда и индивидуальным отбором пчелосемей на пасеке.

Ключевые слова: медоносная пчела (*Apis mellifera* L.); экстерьерные признаки; митохондриальная ДНК; локус цитохромоксидаза I – цитохромоксидаза II; COI-COII; популяционно-генетическая структура.

Введение

Породный состав медоносных пчел Томской области практически не изучался. Предполагается, что с начала XIX в. на территории, которая впоследствии вошла в состав Томской области, культивировалась среднерусская (темная лесная) пчела. По-видимому, пчел неоднократно ввозили

переселенцы из центральных и восточных губерний европейской части России. Однако в конце прошлого века для успешного и быстрого решения сельскохозяйственных задач на пасеки Томской области массово стали завозиться южные подвиды пчел с Кавказа. В результате многие семьи пчел на территории области имеют помесное происхождение и уже не обладают ценными качествами среднерусской породы [1].

Настоящая работа является частью комплексного исследования медоносной пчелы, включающего биологическую, хозяйственную и экологическую оценку пчелиных семей в Томской области. Исследования экстерьерных признаков рабочих пчел, проведенные на некоторых пасеках Томской области, показали, что культивируемые пчелы не имеют явной породной принадлежности [2]. Предварительные исследования митохондриального генома медоносных пчел некоторых пасек Томской области подтвердили помесное происхождение пчел на большинстве исследованных пасек [3].

В настоящем сообщении приведены результаты детального исследования пчел пасеки в д. Леботёр Чаинского района Томской области. Данная пасека, выделившаяся из состава крупного пчеловодческого совхоза, является личной и представляет собой типичную пасеку Томской области.

Цель исследования заключалась в более полной характеристике гибридных популяций пчел Томской области и оценке информативности морфометрических показателей для селекционных работ.

Материалы и методики исследования

В ходе исследования были изучены комплекс экстерьерных признаков и особенности митохондриального генома рабочих пчел пасеки. Материалом служили рабочие пчелы, полученные с пасеки в д. Леботёр Чаинского района Томской области. Морфометрическими и молекулярно-генетическими методами изучено 54 особи рабочих пчел от 10 пчелосемей. Для молекулярно-генетического анализа были использованы образцы ДНК, выделенные из внутренних органов рабочих пчел.

Морфометрический анализ. Методами морфометрического анализа измерены длина хоботка и основные параметры правого верхнего крыла. Измерения проводили под бинокулярным микроскопом (МБС) с помощью окуляр-микрометра [2, 4, 5]. Были исследованы три показателя крыла: кубитальный индекс, или индекс крыла, гантельный индекс и дискоидальное смещение. Для анализа чистопородности пчел наиболее часто используется кубитальный индекс. Этот признак практически не подвергается сезонным изменениям и слабо коррелирует с другими экстерьерными признаками [6]. Результаты морфометрического исследования сравнивались с усредненными экстерьерными признаками рабочих особей разных пород пчел.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена в программе StatSoft Statistica 6.0. Результаты исследований представлены в виде средних арифметических с ошибкой.

Молекулярно-генетический анализ. Для проведения молекулярно-генетического исследования от каждой пчелиной семьи отбирали по 5–6 рабочих особей, которые хранили в 96%-ном спирте при температуре 4°C. Выделение ДНК из индивидуальных особей проводили модифицированным методом экстракции смесью гуанидинтиоцианат-фенол-хлороформ [7–9]. Для этого у пчелы выделяли грудные мышцы, которые лизировали в охлажденном буфере, содержащем 4 М гуанидинтиоцианат, 25 мМ цитрат натрия, 100 мМ 2-меркаптоэтанол и 0,5% саркозил. Затем к лизату последовательно добавляли 0,1 объема 1 М трис-НСI-буфера (рН 8,0), равный объем водонасыщенного фенола (рН 8,0) и 0,2 объема смеси хлороформ – изоамиловый спирт (24:1) и энергично встряхивали в течение 15 мин. Затем смесь центрифугировали в течение 15 мин при 10000 g. Водно-солевую фазу, содержащую ДНК, осаждали добавлением 2 объемов 96%-ного этанола в присутствии 1/10 части 3 М ацетата натрия. Препарат ДНК выдерживали при температуре –20°C до оформления видимого осадка и центрифугировали 20 мин при 10000g. Осадок, содержащий ДНК, промывали 70%-ным этанолом, высушивали и растворяли в минимальном объеме ТЕ-буфера.

Выделенная ДНК анализировалась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров, маркирующих межгенный локус цитохромоксидаза I – цитохромоксидаза II (COI-COII) митохондриального генома. Были использованы следующие последовательности праймеров [7]:

3' SACATTTAGAAATTCCATTA, 5' ATAAATATAAATCATGTGGA

Полимеразная цепная реакция проводилась согласно описанной методике с модификациями [10]. Реакция проводилась в 20 мкл реакционной смеси, содержащей: 1 мкг ДНК, 2 мкл буфера (10×), 2 мкл MgCl₂, 2 мкл смеси нуклеотидов dNTP, по 10 пМ каждого праймера, 2 единицы ДНК-полимеразы. Условия ПЦР включали первичную денатурацию (95°C), затем следовали 35 циклов, состоящих из денатурации (95°C – 1 мин), отжига праймеров (57°C – 2 мин), элонгации цепи (72°C – 2 мин); реакцию завершала финальная элонгация (72°C – 7 мин). Продукты амплификации фракционировали в 1,5%-ном агарозном геле, окрашивали в бромистом этидии, визуализировали в ультрафиолетовом свете и документировали с использованием специальной программы для визуализации гель-электрофореза.

Локус COI-COII включает концевые участки генов цитохромоксидазы I и II, ген тРНК и повторяющиеся элементы P и Q, имеющие длину 54 и 196 пар нуклеотидов (п.н.) соответственно (рис. 1). У среднерусской породы медоносной пчелы локус COI-COII включает 3'-конец гена цитохромоксидазы I – ген тРНК – P-элемент – Q-элемент – Q-элемент – 5'-конец гена цитохромоксидазы II (аллель PQQ) и имеет размер 600 пар нуклеотидов. Южные породы пчел (кавказская, карпатская) имеют локус COI-COII размером 350 пар нуклеотидов (аллель Q), включающий 3'-конец гена цитохромоксидазы I – ген тРНК – Q-элемент – 5'-конец гена цитохромоксидазы II (рис. 2). Структура межгенного локуса COI-COII митохондриальной ДНК позволяет установить происхождение пчел по материнской линии [7].

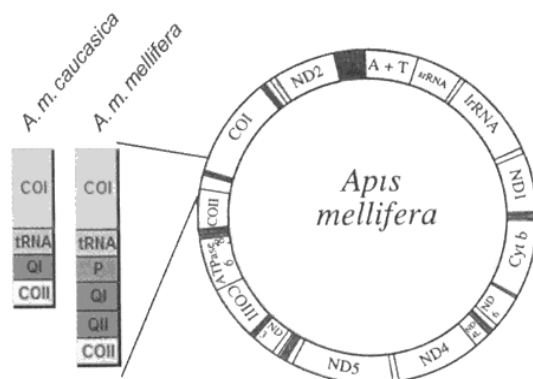


Рис. 1. Схема структуры локуса COI-COII митохондриальной ДНК медоносной пчелы

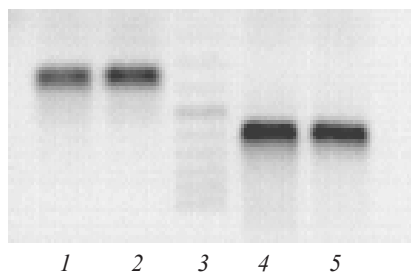


Рис. 2. Результаты электрофоретического разделения продуктов ПЦР со специфическими праймерами для выявления полиморфизма локуса COI-COII мтДНК медоносной пчелы. Дорожки 1 и 2 – образцы ДНК южных пород (размер фрагмента 350 п.н.); 4 и 5 – образцы ДНК среднерусской породы (600 п.н.); 3 – маркер длин фрагментов ДНК (самый яркий фрагмент соответствует 500 п.н.)

Результаты исследования и обсуждение

Морфометрический анализ. Особи пчел различались по морфометрическим параметрам: лишь небольшой процент особей имел экстерьерные признаки, характерные либо для среднерусских пчел (13%), либо соответствовали южным породам пчел (7%). Большинство особей представляло собой помеси с признаками как среднерусской, так и южных пород медоносной пчелы.

Длина хоботка исследованных пчел оказалась довольно короткой и составила в среднем $5,61 \pm 0,081$ мм, т.е. хоботок не соответствует ни среднерусской, ни южным породам медоносной пчелы (табл. 1).

Полученные данные согласуются с исследованиями, проведенными ранее на пасеках Томской области [2], согласно которым отличительной осо-

бенностью «местных» пчел, характерной как для группы особей с признаками среднерусских, так и для группы помесных, является довольно короткий хоботок. Вероятно, длина хоботка местных пчел определяется прежде всего экологическими условиями их обитания. Возможно, небольшая длина хоботка компенсируется доступностью нектара большинства растений лугов, лесных колков и опушек, составляющих основу кормовой базы пчёл многих пасек.

Если результаты измерений длины хоботка однозначно не указывают на породную принадлежность исследуемых пчел, то данные промеров крыла позволяют более точно определить их породную принадлежность. Анализ отдельных морфометрических показателей крыла (кубитальный индекс, гантельный индекс, дискоидальное смещение) у рабочих пчел пасеки д. Леботёр показал, что исследуемые пчелы представляют собой помеси. По величине средних значений кубитального и гантельного индексов, а также дискоидального смещения пчелы пасеки в д. Леботёр соответствуют гибридам среднерусской пчелы с южными расами (табл. 1).

Таблица 1

Экстерьерные признаки рабочих пчел на пасеке в д. Леботёр

Признак	Среднее значение признака (n = 54)	Минимальное значение признака	Максимальное значение признака
Длина хоботка, мм	5,61 ± 0,081	4,50	6,50
Кубитальный индекс, %	53,27 ± 1,36	34,62	87,50
Гантельный индекс, отн. ед.	0,864 ± 0,012	0,621	1,016

Представлены вариационные кривые значений кубитального (рис. 3) и гантельного (рис. 4) индексов. Кривая распределения значений кубитального индекса всех пчел пасеки отличается от нормального и характеризуется наличием двух «высоких» и двух небольших пиков. Первый «высокий» пик, расположенный между значениями кубитального индекса от 44 до 52%, соответствует южным породам пчел. Второй пик, имеющий границы 54–60%, указывает на наличие на данной пасеке гибридных пчел и влияние южных пород медоносной пчелы. Незначительные пики в зоне значений кубитального индекса более 60% показывают присутствие на пасеке пчел среднерусской породы.

Кривая распределения значений гантельного индекса всех пчел пасеки также отличается от нормального, но характеризуется более плавной кривой с несколькими пиками, соответствующими южным, гибридным и среднерусским пчелам (рис. 4). Вертикальная линия, проходящая через значение 0,923, показывает верхнее значение гантельного индекса для среднерусской породы.

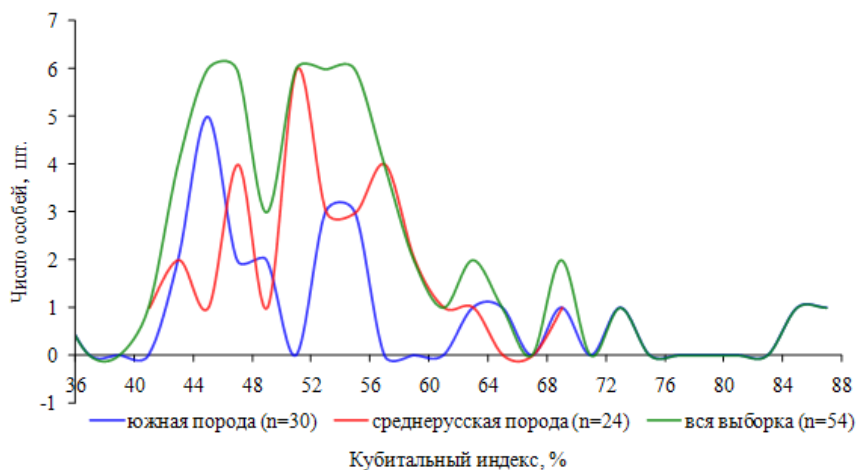


Рис. 3. Кривые распределения значений кубитального индекса для всей выборки, для среднерусской породы и южных пород пчёл, установленных по локусу COI-COII мтДНК

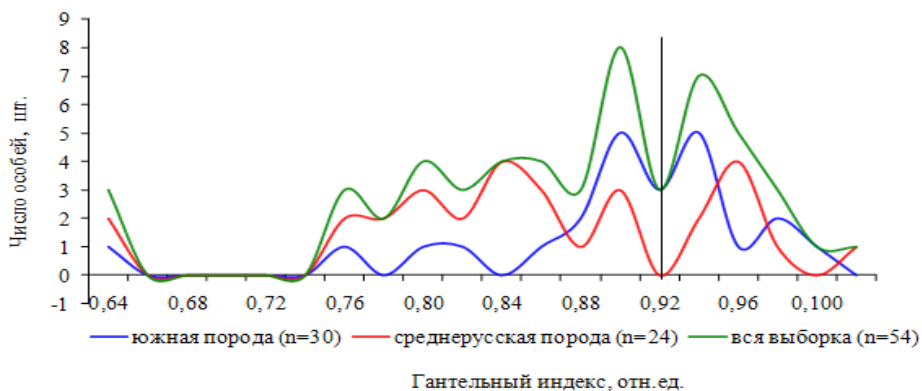


Рис. 4. Кривые распределения значений гантельного индекса для всей выборки, для среднерусской породы и южных пород пчёл, установленных по локусу COI-COII мтДНК

Представляет интерес анализ сочетаний исследованных морфологических признаков у пчел пасеки (табл. 2). Из 54 проанализированных особей одновременно все три признака (кубитальный и гантельный индексы, дискоидальное смещение), характерные для среднерусской породы, встречались у 7 особей, что составило приблизительно 13%, тогда как только 4 особи, т.е. 7,4%, имели все исследованные признаки, характерные для южных пород (табл. 2). Преобладало число особей с двумя признаками среднерусской породы и одним признаком южной породы – 28 образцов пчел, т.е. таким сочетанием признаков характеризовались более 50% особей, причем у боль-

шинства из них (24 образца) сочетались гантельный индекс и дискоидальное смещение.

Таблица 2

**Сочетание морфометрических показателей,
характерных для южной и среднерусской пород, у пчел пасеки д. Леботёр**

Сочетание признаков у особей		Кол-во пчел с данными признаками к общему числу, шт. (%)
3 признака одной породы	$x_c^1 + x_c^2 + x_c^3$	7 (12,96)
	$x_{ю}^1 + x_{ю}^2 + x_{ю}^3$	4 (7,40)
	Всего	11 (20,36)
2 признака среднерусской и 1 признак юж- ной пород	$x_c^1 + x_c^2 + x_{ю}^3$	2 (3,70)
	$x_c^1 + x_{ю}^2 + x_c^3$	2 (3,70)
	$x_{ю}^1 + x_c^2 + x_c^3$	24 (44,44)
	Всего	28 (51,86)
2 признака юж- ной и 1 признак среднерусской пород	$x_c^1 + x_{ю}^2 + x_{ю}^3$	0
	$x_{ю}^1 + x_c^2 + x_{ю}^3$	8 (14,81)
	$x_{ю}^1 + x_{ю}^2 + x_c^3$	7 (12,96)
	Всего	15 (27,77)

Примечание. x^1, x^2, x^3 – показатели кубитального индекса, гантельного индекса и дискоидального смещения соответственно; с – признак, характерный для среднерусской породы, ю – признак, характерный для южной породы.

В ряде исследований морфометрических параметров медоносных пчел оценивается информативность различных показателей крыла, включая кубитальный и гантельный индексы, дискоидальное смещение. Отмечается, что диагностическое значение отдельных морфометрических показателей крыла требует пересмотра. Однако указывается высокая информативность отдельных морфометрических показателей только при их комплексном использовании [5].

Молекулярно-генетический анализ. Пчелы, исследованные морфометрически, были также проанализированы молекулярно-генетическими методами (рис. 2). Было выявлено два аллеля локуса COI-COII мтДНК: аллель RQQ, соответствующий среднерусской породе, был обнаружен у 24 особей (44,44%); аллель Q, соответствующий южным породам пчел, выявлен в 30 образцах (55,56%). Поскольку передача митохондриального генома у пчел происходит только по «материнской» линии, полученные результаты отражают вклад в структуру генофонда пасеки д. Леботёр среднерусской и южных пород только по линии самок.

Сочетание морфометрических и молекулярно-генетических показателей. Интересные результаты удалось получить при комплексной оценке показателей, как морфометрических, так и молекулярно-генетических. Разделение всей выборки пчел на группы по генетическому маркеру COI-COII мтДНК – среднерусская порода (аллель RQQ) и южные породы (аллель Q) –

и построение соответствующих кривых распределения позволили детализировать полученные результаты (см. рис. 3 и 4). Кривая распределения значений кубитального индекса для группы особей, соответствующей по данному генетическому маркеру южным породам, показала пик с «горбом» в районе значений кубитального индекса 44–52%, что соответствует южным породам; второй пик в районе значений кубитального индекса, равных 54–58%, является показателем гибридных форм (см. рис. 3).

Кривая распределения значений кубитального индекса для группы особей, соответствующей по генетическому маркеру среднерусской породе, имеет также несколько пиков: небольшой пик в районе значений кубитального индекса 42–46% соответствует карпатской породе; «высокий» пик в районе 50–52% указывает на южную желтую кавказскую породу; второй «высокий» пик, расположенный в зоне значений кубитального индекса выше 58%, указывает на среднерусскую породу (см. рис. 3).

Таким образом, полученные результаты показывают на вклад отдельных пород медоносной пчелы в формирование гибридных форм и популяции в целом. По-видимому, карпатская порода медоносной пчелы, активно завозимая на пасеки области, вносит определенный вклад в формирование помесных форм. Среднерусская пчела также образует гибридные формы с желтой кавказской породой.

Кривые распределения значений гантельного индекса пчел двух групп, выделенных по генетическому маркеру, характеризуются некоторой противофазностью, кроме зоны значений 0,88–0,94 отн. ед., видимо, соответствующей гибридным пчелам.

Согласно данным морфометрического и молекулярно-генетического анализа, морфометрическими признаками, наиболее согласованными со среднерусской породой, выявленной по локусу COI-COII мтДНК, являются гантельный индекс и дискоидальное смещение, тогда как кубитальный индекс оказался наименее информативным параметром (табл. 3).

Таблица 3

Количество пчел, соответствующее среднерусской и южной породам по отдельным морфометрическим показателям и маркеру COI-COII мтДНК (n = 54)

Показатель	Среднерусская порода (аллель PQQ)	Южные породы (аллель Q)
Локус COI-COII	24 (0,4444 ± 0,0676)	30 (0,5556 ± 0,0676)
Кубитальный индекс	6 (11,11)	25 (46,29)
Гантельный индекс	17 (31,48)	6 (11,11)
Дискоидальное смещение	13 (24,07)	3 (5,56)

Большинство особей (55,56%) относится к южной породе пчел по генетическому маркеру. Однако не обнаружено ни одной особи, имеющей полное соответствие южной породе как по генетическому маркеру, так и по морфометрическим показателям (табл. 4). Показан небольшой процент пчел

(14,8%), имеющих аллель Q и два «южных» морфометрических признака. В подавляющем большинстве случаев (18 образцов) особи, имеющие аллель Q, обнаружили два морфометрических признака, характерные для среднерусской породы (33,3%).

Полное соответствие пчел среднерусской породе, как по генетическому маркеру, так и по морфометрическим показателям, обнаружено только у трех особей (5,6%). У 10 особей (18,5%), имеющих аллель PQQ, выявлено два признака, характерных для среднерусской породы, и один – для южной (табл. 4).

Таблица 4

Соотношение морфометрических показателей у особей с различными генетическими вариантами по локусу COI-COII мтДНК

Сочетание признаков, характерных для разных пород	мтДНК	Аллель PQQ		Аллель Q	
		среднерусская	южная	среднерусская	южная
	Порода	Количество особей, шт. (%); всего 24 (44,44)		Количество особей, шт. (%); всего 30 (55,56)	
3 признака $x^1+x^2+x^3$	3 (5,6)	4 (7,4)	4 (7,4)	0 (0,0)	
2 признака, всего В том числе:	10 (18,5)	7 (13,0)	18 (33,3)	8 (14,8)	
x^1+x^2	1 (1,9)	1 (1,9)	1 (1,9)	6 (11,1)	
x^1+x^3	2 (3,7)	6 (11,1)	0	2 (3,7)	
x^2+x^3	7 (13,0)	0	17 (31,5)	0	
1 признак, всего	7 (13,0)	10 (18,5)	8 (14,8)	18 (33,3)	

Примечание. x^1, x^2, x^3 – показатели кубитального индекса, гантельного индекса и дискоидального смещения соответственно.

По мтДНК среднерусская и южные породы могут быть строго идентифицированы. Однако на пасеке д. Леботёр у особей пчел практически не регистрируется соответствие данных по мтДНК и морфометрических показателей, характерных для соответствующих пород. Это указывает на процесс метисации среднерусской и южных пород в популяции медоносной пчелы на данной пасеке.

Процесс «вытеснения генов» у пчел среднерусской породы менее масштабный, поскольку среди особей, обладающих характерным для данной породы локусом COI-COII, зарегистрирован меньший процент пчел с морфометрическими признаками, характерными для южных пород, по сравнению с аналогичными данными, показанными для пчел с локусом Q. Возможной причиной данной ситуации являются особенности формирования популяции пчел: южные породы стали завозиться на пасеки недавно и доля новых пчелосемей южных пород от общего числа пчелосемей пасеки была незначительной.

Заключение

Для характеристики популяции пчел пасеки д. Леботёр были использованы как морфометрические, так и генетические маркеры. Каждый отдельно взятый показатель не дает возможности полно оценить состояние популяции. Митохондриальный маркер позволяет однозначно определить происхождение особи, но только по линии самки. Кубитальный индекс – достаточно информативный показатель чистопородности медоносной пчелы. Для анализа породного состава в гибридных популяциях кубитальный индекс наиболее значим в сочетании с генетическим маркером, поскольку позволил детализировать вклад отдельных пород в формирование популяции в д. Леботёр. Гантельный индекс является необходимым, но недостаточным показателем для оценки популяций медоносной пчелы. Возможно, в сочетании с дискоидальным смещением он позволит охарактеризовать популяцию более детально.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что только комплексный анализ (различные морфометрические показатели в сочетании с генетическими маркерами) обеспечивает более полное описание популяционно-генетической структуры медоносной пчелы.

Полученные результаты современного состояния популяции медоносной пчелы на пасеке в д. Леботёр позволяют рассматривать процесс метисации пчел пасеки как необратимый. Восстановление данной популяции пчел, обладающей генофондом среднерусской породы, возможно в случае максимальной замены гибридных пчел на чистопородных с дальнейшим постоянным контролем состояния генофонда и индивидуальным отбором пчелосемей на пасеке.

Особая благодарность д-ру биол. наук, руководителю научно-исследовательской лаборатории биотехнологии и биоинженерии О.В. Карначук за помощь в проведении экспериментальной части работ.

Литература

1. Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Островерхова Н.В. и др. Медоносная пчела и пчеловодство в Томской области: прошлое, настоящее и будущее // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2009. № 4 (8). С. 15–27.
2. Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Островерхова Н.В. и др. Биологическая и хозяйственная оценка семей медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) в некоторых районах Томской области // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2010. № 1 (9). С. 29–41.
3. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л. и др. Характеристика митохондриального генома медоносной пчелы *Apis mellifera* L. (Hymenoptera : Apidae) в популяциях Томской области // Материалы II Симпозиума стран СНГ по перепончатокрылым насекомым. СПб., 2010. С. 110.
4. Аллатов В.В. Породы медоносной пчелы. М. : МОИП, 1948. 183 с.
5. Островерхова Г.П., Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л. Биологическая и хозяйственная оценка пчелиной семьи (*Apis mellifera* L.) : метод. пособие. Томск : НТЛ, 2005. 76 с.

6. Шарунов А.Я. К вопросу изучения изменчивости морфологических параметров крыльев медоносной пчелы // Материалы международной конференции «Пчеловодство – XXI в.». М., 2008. С. 388–392.
7. Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В., Постряков А.В. и др. Использование метода ПЦР для контроля чистопородности пчелосемей *Apis mellifera mellifera* L. в условиях Южного Урала // Генетика. 1998. № 11. С. 1574–1577.
8. Николенко А.Г., Постряков А.В. Полиморфизм локуса COI-COII митохондриальной ДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* L. на Южном Урале // Генетика. 2002. № 4. С. 458–462.
9. Reineke A., Karlovsky P., Zebitz C.P.W. Preparation and purification of DNA from insects for AFLP analysis // Insect Mol. Biol. 1998. Vol. 7, № 1. P. 95–99.
10. Ильясов Р.А. Полиморфизм *Apis mellifera mellifera* L. на Урале : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2006. 22 с.

Поступила в редакцию 17.10.2012 г.

Tomsk State University Journal of Biology. 2013. № 1 (21). P. 161–172

Nadezda V. Ostroverkhova, Olga L. Konusova, Aksana N. Kucher,
Yury L. Pogorelov, Elena A. Belykh, Aleksandr A. Vorotov

Biological Institute of Tomsk State University, Tomsk, Russia

**POPULATION GENETIC STRUCTURE OF HONEY BEE (*Apis mellifera* L.)
IN THE VILLAGE OF LEBOTER IN CHAINSKIY DISTRICT OF TOMSK REGION**

This work is a part of a complex study of honeybee, including biological, economic and environmental assessment of bee colonies in Tomsk region. The aim of this study is a more detailed characterization of hybrid populations of bees on the example of the village of Leboter in Chainskiy district of Tomsk region, as well as informative assessment of morphometric parameters. The complex of the exterior features (proboscis length and basic wings parameters) and features of the mitochondrial genome (locus cytochrome oxidase I-cytochrome oxidase II, COI-COII) in worker bees was studied.

The analysis of primary morphometric parameters of the wing (cubital index, dumb-bell index and others) of worker bees in the bee-farm showed that the bees under examination were hybrids. By molecular genetic methods two variants of locus COI-COII mtDNA were found in 54 studied samples: sequence PQQ, corresponding to the Mid-Russia breed, in 44.44% of individuals and sequence Q, corresponding to the southern breed, in 55.56%. However, the conformity of data on mtDNA and morphometric parameters, characteristic for the respective breeds, was not practically registered on the honey bee population in the Leboter Village bee-farm. This indicates the process of cross-breeding of the Mid-Russia breed and southern species in the population of honeybees in this bee-farm. The process of “repression of genes” in the Mid-Russia breed bees is smaller-scale, as among individuals possessing the “mid-russian” locus COI-COII (PQQ), registered a lower percentage of bees with morphometric features characteristic of the southern species, compared with similar data shown for the “southern” variant Q of the locus COI-COII. A possible reason for this situation is the peculiarities of the formation of this bee population: the southern races have been delivered to bee-farm recently, and the percentage of new bee colonies of the “southern” bees to total apiary bee colonies has been insignificant.

It was demonstrated that individual parameters do not ensure full evaluation of population conditions. The mitochondrial marker allows determining the origin of a species only on the maternal side. The cubital index appeared to be more significant for analysis of the breed structure of a population, but only in combination with the genetic marker. The dumb-bell index is an essential, but insufficient parameter to evaluate a honey bee population. Only complex analysis of different morphometric features and genetic peculiarities of the honey bee ensures a more complete description of the population genetic structure. The current condition of the honey bee population in the Leboter Village bee-farm indicates irreversible miscegenation processes in bees at the bee-farm. Recovery of the bee population that possesses the gene pool of the Mid-Russia breed, is possible if hybrid bees are maximally replaced by purebred bees, provided that the gene pool condition is then continually controlled and honey-bee colonies are individually selected at the bee-farm.

Key words: honey bee (*Apis mellifera* L.); exterior features; mitochondrial DNA; locus COI-COII; population genetic structure.

Received October 17, 2012