ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ АЛЕКСЕЯ ИВАНОВИЧА КУРЕНЦОВА

A.I. Kurentsov's Annual Memorial Meetings

2015 **вып. XXVI**

УДК 575.174:595.799

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ (*APIS MELLIFERA* L.) ТОМСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПО КОМПЛЕКСУ ДНК-МАРКЕРОВ

Н.В. Островерхова, О.Л. Конусова, А.Н. Кучер, Т.Н. Киреева, Р.Т-о. Багиров

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск
E-mail: nvostrov@mail.ru

Проведена оценка генетического разнообразия медоносных пчел Томской популяции с использованием комплекса ДНК-маркеров митохондриального и ядерного геномов. Полиморфизм локуса COI–COII мтДНК изучен у 2018 особей, полученных от 316 пчелосемей 56 пасек, локализованных в различных районах Томской области. Зарегистрированы три варианта локуса COI–COII мтДНК: PQQ и PQQQ (характерны для среднерусской породы), и Q (специфичен для пород южного происхождения). Большинство пчелосемей (64%) имели происхождение по материнской линии от среднерусской породы медоносной пчелы, 28% пчелосемей – от южных пород и 8% составляли смешанные пчелосемьи. Для пчел, отличающихся вариантами локуса COI–COII, проведено изучение изменчивости микросателлитных локусов A008 и AC216; всего изучено 259 медоносных пчел, отобранных с 7 пасек четырех районов Томской области. Среди изученных локусов один – A008 – оказался полиморфным, а по локусу AC216 у всех обследованных особей зарегистрирован только один вариант. Для локуса A008 установлены различия как по спектру аллелей, так и по частоте их регистрации между обследованными пчелами Томской популяции и пчелами европейских популяций.

Секвенирование генома *Apis mellifera* L. в 2006 г. (Honey Bee Genome Sequencing Consortium, 2006) значительно расширило возможности изучения генофонда медоносной пчелы как экологически и экономически значимого вида общественных насекомых. Наряду с ДНК-маркерами митохондриального генома (мтДНК) новые ДНК-маркеры ядерного генома используются как для разработки эволюционных вопросов медоносной пчелы, так и для решения некоторых прикладных задач. Так, ДНК-маркеры применяются для описания генетической структуры различных популяций медоносной пчелы, оценки внутри- и межпородного генетического разнообразия и уровня гибридизации, установления эволюционных взаимоотношений и адаптационных особенностей пчел разных эволюционных ветвей (линий A, M, C и O) (Никоноров и др., 1998; Николенко, Поскряков, 2002; Островерхова и др., 2013, 2015; Garnery et al., 1992; Frank et al., 2000; Whitfield et al., 2006; Bodur et al., 2007; Dall'olio et al., 2007; Miguel et al., 2007; Soland-Reckeweg et al., 2009; Muñoz et al., 2009; Canovas et al., 2011; Ilyasov et al., 2011; Nikolova, 2011; Oleksa et al., 2011; Meixner et al., 2013). Наиболее изученным в настоящее время является локус цитохромоксидаза I – цитохромоксидаза II (COI–COII) мтДНК, варианты которого различаются у пчел разных пород. Однако, в настоящее время как для решения теоретических задач, так и для практического использования к категории наиболее информативных среди ДНК-маркеров относят микросателлитные локусы, но сведения о вариабельности локусов этой категории в различных популяциях и породах пчел менее представлены в научных публикациях. Эти локусы привлекаются для оценки дифференциации разных подвидов (пород, экотипов, линий), что особенно актуально в связи с массовой гибридизацией медоносных пчел, а также для поиска генетических маркеров, ассоциированных с хозяйственно-полезными признаками. Это так же важно для проведения селекционных работ (в частности, для отбора пчелосемей с благоприятными по тем или иным параметрам признаками) (Кривцов и др., 2011; Зиновьева и др., 2011; Николенко и др., 2013; Bourgeois et al., 2008; Miguel et al., 2010). Первым этапом любого из этих направлений исследований является описание генетического разнообразия по мтДНК и микросателлитным локусам отдельных пород и популяций медоносной пчелы.

В России работы по изучению популяций медоносной пчелы с использованием ДНК-маркеров немногочисленны и проведены, в основном, на европейской территории страны (Никоноров и др., 1998; Николенко, Поскряков, 2002; Кривцов и др., 2011; Зиновьева и др., 2011; Николенко и др., 2013; Ilyasov et al., 2011). Анализировалась вариабельность мтДНК-локусов (Николенко, Поскряков, 2002; Ильясов и др., 2007a, 2007b, 2008; Саттаров, 2009; Кривцов, Горячева, 2009; Брандорф и др., 2012), начаты исследования породности медоносных пчел с использованием микросателлитных локусов (Непейвода и др., 2011; Кривцов и др., 2011, 2012). Маркеры митохондриальной ДНК позволяют определить только материнскую составляющую в геноме медоносной пчелы, а для объективной оценки состояния генофондов медоносных пчел важно учитывать также сведения по аутосомным локусам, то есть необходимо использовать комплекс маркеров митохондриального и ядерного геномов.

В настоящем сообщении представлены результаты анализа генетического разнообразия медоносных пчел Томской популяции с использованием комплекса ДНК-маркеров: изучена изменчивость локуса COI–COII мтДНК и двух микросателлитных локусов (динуклеотида A008 и тетрануклеотида AC216).

Материал и методы

Материалом для исследования послужили рабочие пчелы, отобранные с пасек Томской области (рис. 1). Пчелы были получены от пчелосемей, имеющих разное происхождение: от среднерусской (эволюционная ветвь M) и карпатской пород (эволюционная ветвь C), а также гибридных форм. Происхождение пчел было установлено на основании данных морфометрического исследования (анализ основных породоопределяющих показателей крыла: кубитального и гантельного индексов, дискоидального смещения).

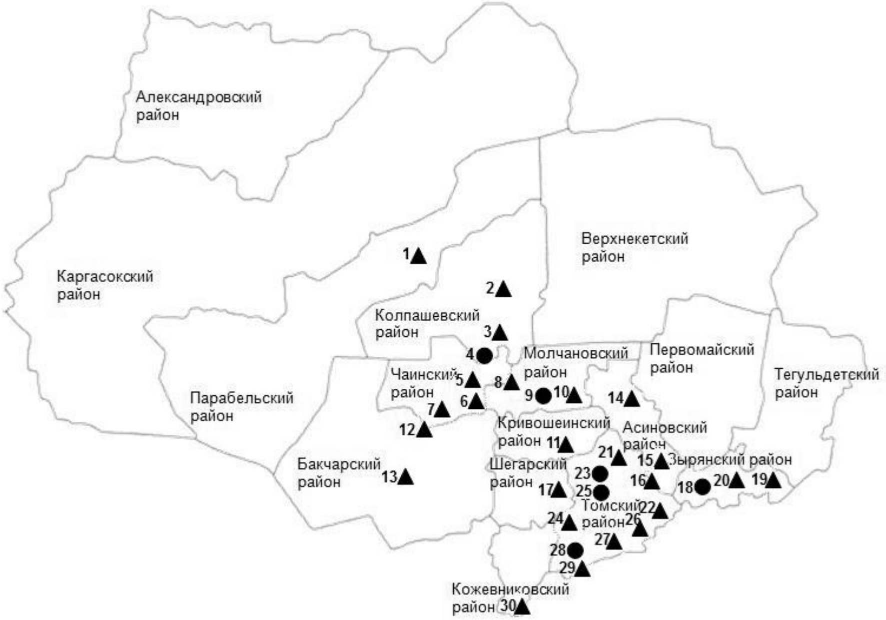

Рис. 1. Карта-схема расположения исследованных пасек в Томской области: 1 – с. Парабель; 2 – окр. г. Колпашево; 3 – д. Новоабрамкино; 4 – с. Леботер; 5 – с. Подгорное; 6 – д. Стрельниково; 7 – с. Гореловка; 8 – д. Сарафановка; 9 – с. Могочино, 10 – с. Соколовка; 11 – с. Кривошеино; 12 – с. Высокий Яр, д. Крыловка; 13 – с. Бакчар, с. Парбиг; 14 – д. Тихомировка; 15 – урочище Кужербак; 16 – с. Новиковка; 17 – с. Каргала; 18 – с. Дубровка; 19 – с. Окунеево; 20 – с. Зырянское; 21 – д. Кусково; 22 – п. Заречный 1; 23 – д. Бодажково, с. Семилужки, п. Заречный 2; 24 – д. Нижне-Сеченово; д. Березкино, с. Зоркальцево, с. Рыбалово. д. Кудринский участок, д. Губино; 25 – п. Синий Утес, д. Магадаево, д. Просекино, с. Коларово, окр. г. Томска; 26 – д. Большое Протопопово; 27 – с. Межениновка; 28 – д. Кандинка, с. Курлек; 29 – с. Яр; 30 – д. Еловка. Пасеки, расположенные на расстоянии менее 15 км друг от друга, обозначены одной точкой. ● – пасеки, пчелы с которых исследованы с использованием мтДНК-анализа и микросателлитного анализа, ▲ – пасеки, пчелы с которых исследованы с использованием только мтДНК-анализа.

Первоначально была проведена оценка генетического разнообразия локуса COI–COII мтДНК. Изучено 2018 особей, полученных от 316 пчелосемей 56 пасек Томской области, в том числе с 19 пасек 14 населенных пунктов 6 северных (Парабельского, Колпашевского, Чаинского, Молчановского, Бакчарского и Кривошеинского) и с 37 пасек 29 населенных пунктов 5 южных (Асиновского, Шегарского, Зырянского, Томского, Кожевниковского) районов области.

Для анализа полиморфизма микросателлитных локусов (динуклеотида A008 (rs267233127) и тетрануклеотида AC216 (rs267233422)) использовали 259 медоносных пчел, отобранных с 7 пасек четырех районов Томской области (Томского, Зырянского, Молчановского и Чаинского районов) (рис. 1), для которых было установлено происхождение согласно данным морфометрического и мтДНК-анализа.

Таблица 1

Характеристика ДНК-локусов, последовательность праймеров и условия амплификации

Локус, хромосома	Размер локуса (пн)	Последовательность	T°C отжига	$MgCl_2$ (mM)	Последовательность праймеров прямого (F) и обратного (R) (5′→3′)
COI-COII мтДНК	350–800		58	1,5	F:CACATTTAGAATTCCATTA R:ATAAATATGAATCATGTGGA
A008, хр-ма 2, (rs267233127)	160	$(GA)_{15}$...$(GCTCG)_5$	55	1,2	F:CGCGAAGGTAAGGTAAATGGAAC R:GGCGGTTAAAGTTCTGG
AC216, хр-ма 10, (rs267233422)	95	$(ACGC)_6$	50	1,5	F:TGTCGCCTCCATTCCG R:GGTTTAGAATTCGACTCCGT

Выделение ДНК и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили согласно стандартным методикам (Никоноров и др., 1998; Николенко, Поскряков, 2002; Solignac et al., 2003) с применением специфических праймеров (табл. 1). Для анализа микросателлитных локусов использовали один меченный флуоресцентной меткой праймер из каждой пары. Продукты амплификации фракционировали в 1,5% агарозном геле, результаты документировали с использованием системы Gel-Doc XR+. Генотипирование проводили на базе Центра коллективного пользования ФГБНУ «НИИ медицинской генетики» (г. Томск) на генетическом анализаторе ABI Prism 3730 с применением стандартов длины молекул ДНК GeneScan500-ROX в условиях, рекомендуемых производителем. Анализ размера фрагментов осуществляли с помощью программного обеспечения GeneMapper Software.

Для статистической обработки данных использовались стандартные методы, применяемые при изучении генетического разнообразия популяций.

Характеристика изменчивости локуса COI-COII мтДНК у медоносных пчел Томской популяции

Изучено генетическое разнообразие медоносных пчел Томской популяции по локусу COI-COII мтДНК. Зарегистрировано три варианта локуса COI-COII мтДНК, два из которых (PQQ и PQQQ) характерны для среднерусской породы и один (Q) – для пород южного происхождения (рис. 2).

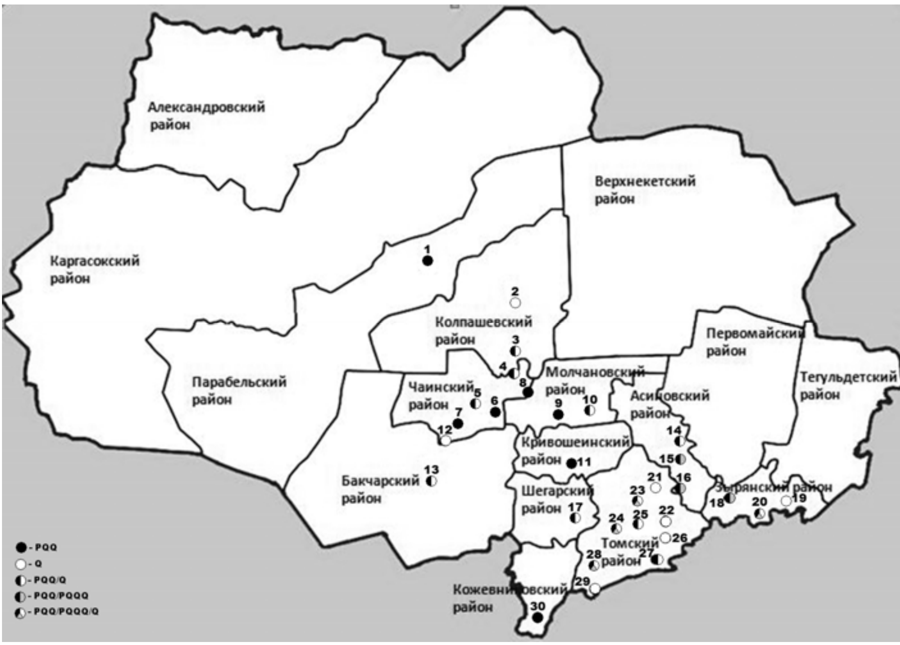

Рис. 2. Распространенность вариантов локуса COI-COII мтДНК у медоносных пчел на территории Томской области. Пасеки, расположенные на расстоянии менее 15 км друг от друга, обозначены одной точкой. Цифровые обозначения см. рис. 1.

В целом, из 316 пчелосемей по материнской линии большинство (64%) имели происхождение от среднерусской породы, 28% – от южных пород медоносной пчелы и для 8% установлено смешанное происхождение (в семьях регистрировались варианты мтДНК, характерные и для среднерусской, и для пород южного происхождения). Пчелосемьи, происходящие от среднерусской породы, были генетически гетерогенны по локусу COI–COII: в 86,1% от общего числа пчелосемей среднерусской породы регистрировался вариант PQQ, у 9,4% – вариант PQQQ, а еще в 4,5% пчелосемей были выявлены особи, как с аллелем PQQ, так и с аллелем PQQQ. Более подробная характеристика изменчивости пчелосемей Томской области по локусу COI-COII мтДНК опубликована в работе Н.В. Островерховой с соавторами (Островерхова и др., 2015).

Характеристика изменчивости микросателлитных локусов у пчел

Проведен анализ изменчивости двух микросателлитных локусов (А008, АС216) (табл. 2) у рабочих пчел из пчелосемей разного происхождения; всего изучено 259 медоносных пчел. Среди изученных микросателлитных локусов, локус А008 оказался полиморфным, а по локусу АС216 у всех обследованных особей зарегистрирован только один вариант – аллель размером 91 пн.

Таблица 2

Характеристика изменчивости микросателлитного локуса А008

Генотипы	Частота регистрации генотипов	Частота аллелей *	Популяционно-генетические параметры
153–153	0,008	P_{153}=0,0523±0,0098	h_o=0,3101±0,0288
153–163	0,085	P_{163}=0,7306±0,0195	h_e=0,4481±0,0259
153–171	0,004	P_{171}=0,0213±0,0064	D= – 0,3080±0,1147
163–163	0,602	P_{173}=0,0426±0,0089	t_d =3,56 ($p<0{,}001$)
163–171	0,039	P_{175}=0,1027±0,0134	
163–173	0,058	P_{179}=0,0504±0,0096	
163–175	0,066		
171–171	0,008		
173–173	0,004		
173–175	0,008		
175–175	0,039		
175–179	0,062		
179–179	0,019		

Примечание. Приведена частота аллеля с ошибкой. h_o – наблюдаемая гетерозиготность; h_e – ожидаемая гетерозиготность; D – относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой; параметры h_o, h_e и D приведены со значениями стандартной ошибки. t_d – критерий Стьюдента использован для сравнения значений наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, p – достигнутый уровень статистической значимости.

В результате анализа полиморфизма микросателлитного локуса А008 у исследованных пчел установлено 13 вариантов генотипов: 7 гетерозиготных и 6 гомозиготных. Отмечается высокая частота встречаемости гомозиготного генотипа «163–163». Всего зарегистрировано 6 аллелей размером от 153 пн до 179 пн. Наиболее часто среди обследованных особей регистрировался аллель размером 163 пн; его частота P_{163} была более 0,7. Вторым по частоте регистрации являлся аллель размером 175 пн (P_{175} = 0,103). Остальные аллели встречались редко (менее 0,06).

В обследованной выборке по микросателлитному локусу А008 выявлено статистически значимое отклонение наблюдаемой гетерозиготности (h_o = 0,3101) от ожидаемой (h_e = 0,4481): регистрировался 30%-ный (D = –0,3080) недостаток гетерозигот по сравнению с ожидаемым при условии соблюдения равновесия Харди-Вайнберга. В качестве причины недостатка гетерозигот могут выступать инбридинг и подразделенность популяции. В отношении полученных данных по локусу А008 для обследованной выборки нельзя исключить ни одну из этих причин, с учетом, во-первых, особенностей размножения пчел, во-вторых – широкой географией локализации обследованных выборок. Кроме того, как указывалось выше, согласно данным мтДНК-анализа включенные в обследование особи представлены пчелами, относящимися к разным породам (среднерусской, южной и смешанного происхождения). Это указывает на то, что в последующих исследованиях генетической структуры медоносной пчелы необходимо учитывать как породность пчел, так и территориальную локализацию сформированных выборок.

Генетическое разнообразие микросателлитного локуса А008 у медоносных пчел (пчелосемей) разного происхождения

Для всех особей пчел, исследованных с использованием микросателлитного локуса А008, были определены основные породоопределяющие морфометрические показатели крыла: кубитальный и гантельный индекс, дискоидальное смещение (данные не приведены). На основании данных морфометрического и мтДНК-анализа были выделены следующие выборки пчел по принадлежности к породе (эволюционным ветвям): среднерусская порода (*Apis mellifera mellifera*), карпатская порода (*Apis mellifera carnica* var. *ukrainica carpatica*) и пчелы гибридного происхождения (табл. 3).

Специфической генетической структурой по микросателлитному локусу А008 характеризовались пчелы, имеющие происхождение от среднерусской породы (*A. m. mellifera*, линия М), и пчелы карпатской породы (*A. m. carnica* var. *ukrainica carpatica*, линия С), для которых показан различный спектр аллелей и генотипов (табл. 3). Всего для пчел среднерусской породы зарегистрировано 5 аллелей, тогда как для пчел карпатской породы – только 2 аллеля. Спектр аллелей у гибридов полностью соответствовал таковому пчел среднерусской породы.

Аллель «163» локуса А008 (частота встречаемости P_{163} = 0,857) характерен для пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы (эволюционная линия М), и он не описан у пчел карпатской породы (эволюционная линия С). У гибридных пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы, аллель размером 163 пн так же встречается с высокой частотой (P_{163} = 0,784). Для пчел карпатской породы по локусу А008 к категории специфичных аллелей можно отнести вариант «179» (частота встречаемости P_{179} = 0,419). Второй аллель (размером 175 пн), выявленный у карпатской породы с высокой частотой (P_{175} = 0,581), описан также у пчел среднерусской породы (P_{175} = 0,068) и гибридных пчел (P_{175} = 0,010), но с низкой частотой, причем у среднерусских пчел данный аллель регистрировался только в гетерозиготном состоянии.

Таким образом, для локуса А008 установлены различия как по спектру аллелей, так и по частоте их регистрации между обследованными пчелами разных выборок.

Таблица 3

Характеристика аллельного спектра микросателлитного локуса A008 у медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в разных популяциях (эволюционные линии M и C)

Размер аллеля, пн	Частота аллелей в разных популяциях							
	Сибирская популяция			Европейские популяции**				
	Томская			Бельгия	Швеция	Франция*	Греция	Франция
	A. m. mellifera (линия M)	*A. m. carnica* var. *ukrainica carpatica* (линия C)	Гибриды (линии M+C)	*A. m. mellifera* (линия M)			*A. m. macedonica* (линия C)	Гибридная зона (линии M+C)
116							0,017	
148				0,783	0,727	0,267–0,969		0,929
152						0,022		
153	0,016		0,113					
154						0,017–0,083		
155						0,033		
156				0,133	0,227	0,017–0,300	0,100	0,036
157						0,050		
158					0,023	0,016–0,117	0,350	0,024
159						0,017		
160				0,050		0,010–0,100	0,317	0,012
162				0,033		0,017–0,034	0,117	
163	0,857		0,784				0,083	
164					0,023	0,010–0,022	0,017	
166						0,017		
171	0,024		0,044					
173	0,036		0,049					
175	0,068	0,581	0,010					
179		0,419						

Примечание. *На территории Франции исследовано 8 популяций медоносной пчелы. Указаны нижнее и верхнее значение частоты встречаемости аллелей по всем популяциям. **Использованы литературные данные Garnery et al. (1998) и Franck et al. (1998).

Обсуждение

В настоящее время при анализе породности пчел широко используется классический морфометрический метод (оценка пчел по комплексу количественных признаков, таких как размеры хитиновых частей и параметры крыла), а также анализ митохондриального генома (локус COI–COII мтДНК) (Meixner et al., 2013). Однако в связи с высоким уровнем смешения пород пчел морфометрический метод, возможно, не является достаточным при определении породной принадлежности пчел, тем более он не пригоден для определения тех пород, на основе которых сформировались гибридные пчелосемьи, а мтДНК-анализ позволяет определить только материнскую составляющую в геноме пчелы. Кроме того, в гибридных пчелосемьях у пчел может наблюдаться несоответствие данных морфометрического и мтДНК-анализа (Островерхова и др., 2013), но эти данные также не позволяют сделать заключение об уровне метисации и всех породах, которые сформировали гибриды.

Для дифференциации пород и подвидов медоносной пчелы необходима разработка диагностических ДНК-маркеров ядерного генома. Однако, несмотря на то, что геном медоносной пчелы секвенирован в 2006 г. (Honey Bee Genome Sequencing Consortium, 2006), оптимальные ДНК-маркеры для идентификации подвидов медоносной пчелы до сих пор не разработаны.

В настоящее время наиболее перспективным подходом рассматривается генотипирование пород и подвидов пчел с использованием ряда микросателлитных маркеров (SSR) (Solignac et al., 2003). К сожалению, для медоносных пчел не разработан общепринятый справочный каталог (референс-материал) по генетическим вариантам микросателлитных локусов (например, стандартная аллельная лестница), а в доступных научных публикациях, посвященных исследованию генетического разнообразия медоносных пчел разных популяций, не приводятся первичные данные по спектру и частотам аллелей и генотипов. Серьезным ограничением при сравнении данных независимых исследований является также использование большого разнообразия микросателлитных локусов (Meixner et al., 2013), спектр которых не перекрывается в исследованиях разных коллективов авторов. Иными словами, настоящий период можно рассматривать как период накопления информации относительно вариабельности разных микросателлитных локусов в различных популяциях медоносной пчелы.

После накопления определенного массива данных станет возможной разработка общей универсальной шкалы длин фрагментов ДНК исследованных микросателлитных локусов, что, в свою очередь, позволит генотипировать пчел и выполнять внутрипородные и межпородные сравнения, временной и пространственный мониторинг генофондов. Различные сочетания определенных типов ПЦР-продуктов образуют специфические совокупности SSR-спектров, благодаря которым формируются генофондные профили породы и подвида, породоспецифические паттерны, генофондный стандарт породы. Породо- и подвидо-специфичные сочетания фрагментов ДНК могут рассматриваться как ДНК-«штрихкод» для конкретной породы или подвида медоносной пчелы. Разработка диагностических ДНК-маркеров позволит проводить оценку породности и качества пчел и пчелосемей, что является научной основой генетической паспортизации медоносных пчел – одной из основных задач племенной работы в пчеловодстве.

Вместе с тем, имеется возможность сравнить полученные в настоящем исследовании данные с результатами генотипирования пчел, обитающих на территории России (Кривцов и др., 2011) и Европы (Garnery et al., 1998; Franck et al., 1998). Так, при исследовании дифференциации основных пород (среднерусской, карпатской и серой горной кавказской) пчел, полученных с пасек племенных хозяйств России, с использованием 8 микросателлитных локусов (A024, A088, A113, AP043, APX01, HB-C16-01, HB-C16-05, HB-THE-03) было показано, что наибольшим генетическим разнообразием характеризуются пчелы карпатской породы, тогда как наименьшим – среднерусские пчелы (Кривцов и др., 2011). В настоящем исследовании, наоборот, наибольшее генетическое разнообразие установлено у пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы. Однако, следует отметить, что в настоящем исследовании был изучен только один и иной микросателлитный локус – A008, что может быть одной из причин противоречивости результатов.

Результаты, полученные в настоящем исследовании по локусу A008, также отличаются от данных, полученных по этому же локусу для медоносных пчел европейских популяций (Garnery et al., 1998; Franck et al., 1998) (табл. 3). Так, при исследовании полиморфизма 11 микросателлитных локусов (включая A8, который соответствует локусу A008 в настоящем исследовании) у пчел 17 популяций Европы всего к категории диагностических было отнесено 29 аллелей, дифференцирующих эволюционные линии M и C. Для локуса A8 зарегистрировано 14 аллелей размером от 116 до 166 пн, причем аллели «158», «160», «162» и «164» рассматриваются как диагностические, и хотя они описаны и у пчел *A. m. mellifera (*линия M), считаются определяющими принадлежность пчел к линии C, т.е. для линии M являются привнесенными пчелами другой эволюционной ветви (процесс интрогрессии).

В популяциях медоносных пчел Франции, Бельгии и Швеции (*A. m. mellifera*, линия M) с высокой частотой встречается аллель размером 148 пн – от 0,267 до 0,969, который не зарегистрирован в популяции Греции (*A. m. macedonica*, линия C), т.е. вероятно, аллель маркирует пчел линии M. Более «тяжелые» аллели размером 158–164 пн описаны у пчел *A. m. mellifera* (линия M) и *A. m. macedonica* (линия C). У пчел *A. m. mellifera* эти аллели встречаются с низкой частотой – от 0,010 до 0,117, у пчел *A. m. macedonica* – от 0,017 до 0,350. Причем, аллели размером 158–164 характерны для пчел *A. m. mellifera*, имеющих митохондриальный гаплотип линии C (вариант Q).

В настоящем исследовании выявлено шесть аллелей локуса A008 размером 153, 163, 171, 173, 175 и 179 пн, т.е. зарегистрированы более «тяжелые» варианты по сравнению со спектром аллелей у пчел европейских популяций, у которых вообще не выявлены аллели размером более 166 пн. На территории Томской области у пчел преобладает аллель «163», тогда как аллель «148», наиболее часто встречающийся у пчел *A. m. mellifera* на территории Европы, вообще не обнаружен. Аллель «163», вероятно, является специфичным для среднерусских пчел (*A. m. mellifera*, линия M), обитающих на территории Томской области, так как выявлен во всех пчелосемьях, имеющих происхождение от среднерусской породы.

Таким образом, результаты настоящего исследования в отношении спектра аллелей локуса A008 у пчел не согласуются с данными по европейским популяциям, согласно которым аллели размером более 158 пн рассматриваются как специфичные для линии C и не характерные для *A. m. mellifera*. Наконец, два аллеля размером 175 пн и 179 пн, зарегистрированные у пчел на пасеках Томской области вообще не описаны у пчел европейских популяций. Вероятно, следует рассматривать выявленные аллели и генотипы не только и не столько как определяющие генетическое разнообразие разных пород (происхождение пчел), но как связанные с географическими и экологическими условиями обитания (специфические адаптации к местным условиям) (De la Rúa et al., 2009; Meixner et al., 2013), поскольку исследованы разные экотипы медоносных пчел (европейская и сибирская популяции).

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Программы «Научный фонд ТГУ им. Д.И. Менделеева» (№ 8.1.66.2015) в 2015 г. и гранта РФФИ 13-04-98116-р-сибирь-а.

ЛИТЕРАТУРА

Брандорф А.З., Ивойлова М.М., Ильясов Р.А. и др. 2012. Популяционно-генетическая дифференциация медоносных пчел Кировской области. *Пчеловодство*, 7: 14–16. [Brandorf A.Z., Ivoilova M.M., Il'yasov R. A. et al. 2012. Population-genetic differentiation of honey bees in the Kirov region. *Pchelovodstvo*, 7: 14–16.]

Зиновьева Н.А., Кривцов Н.И., Форнара М.С. и др. 2011. Микросателлиты как инструмент для оценки динамики аллелофонда при создании приокского типа среднерусской породы медоносной пчелы *Apis mellifera* L. *Сельскохозяйственная биология*, 6: 75–79. [Zinovieva N.A., Krivtsov N.I., Fornara M.C. et al. 2011. Microsatellites as a tool for the assessment of the allele pool when creating Prioksky type of Middle Russian race of honeybee *Apis mellifera* L. *Selskokhozyaistvennaya biologiya*, 6: 75–79.]

Ильясов Р.А., Петухов А.В., Поскряков А.В., Николенко А.Г. 2007a. Локальные популяции *Apis mellifera mellifera* L. на Урале. *Генетика*, 43(6): 855–858. [Il'yasov R.A., Petukhov A.V., Poskryakov A.V., Nikolenko A.G. 2007. Local honeybee (*Apis mellifera mellifera* L.) populations in the Urals. *Russian Journal of Genetics*, 43(6): 855–858.]

Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Колбина Л.М., Николенко А.Г. 2007b. Сохранение *Apis mellifera mellifera* L. в Удмуртской Республике. *Пчеловодство*, 6: 13–14. [Il'yasov R.A., Poskryakov A.V., Kolbina L.M., Nikolenko A.G. 2007. Saving *Apis mellifera mellifera* L. in the Udmurt Republic. *Pchelovodstvo*, 6: 13–14.]

Ильясов Р.А., Поскряков А.В.,Филатов В.С., Николенко А.Г. 2008. Характеристика популяции пчел юго-запада Свердловской области. *Пчеловодство*, 5: 18. [Il'yasov R.A., Poskryakov A.V., Filatov V.S., Nikolenko A.G. 2008. Characteristics of the population of bees southwest of the Sverdlovsk region. *Pchelovodstvo*, 5: 18.]

Кривцов Н.И., Горячева И.И. 2009. Генетический анализ внутривидовой структуры пчелы медоносной. *Пчеловодство*, 10: 8–9. [Krivtsov N.I., Goryacheva I.I. 2009. Genetic analysis of intraspecific structure of honeybee. *Pchelovodstvo*, 10: 8–9.]

Кривцов Н.И., Зиновьева Н.А., Бородачев А.В. и др. 2011. Дифференциация основных пород пчел с использованием микросателлитов. *Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.П. Костычева*, 4(12): 23–27. [Krivtsov N.I., Zinovieva N.A., Borodachev A.V. et al. 2011. Differentiation of the main species of bees using microsatellites. *Vestnik Ryazanskogo gosudarstvennogo agrotekhnologicheskogo universiteta im. P.P. Kostycheva*, 4(12): 23–27.]

Кривцов Н.И., Бородачев А.В., Лебедев В.И. и др. 2012. Биологические, морфологические и генетические особенности пчел разных видов. *Пчеловодство*, 1: 14–17. [Krivtsov N.I., Borodachev A.V., Lebedev V.I. et al. 2012. Biological, morphological and genetic particular qualities of different species of bees. *Pchelovodstvo*, 1: 14–17.]

Непейвода С.Н., Колбина Л.М., Воробьева С.Л. и др. 2011. Анализ генетической дифференциации популяций *Api mellifera* в Удмуртии. *Пчеловодство*, 10: 12–13. [Nepeivoda S.N., Kolbina L.M., Vorob'eva S.L. et al. 2011. Analysis of genetic differentiation of populations Apis mellifera in Udmurtia. *Pchelovodstvo*, 10: 12–13.]

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. [Nikolenko A.G., Poskryakov A.V. 2002. Polymorphism of locus COI-COII of mitochondrial DNA in the honey bee *Apis mellifera* L. from the Southern Ural Region. *Russian Journal of Genetics*, 38(4): 364–368.]

Николенко А.Г., Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Кугейко В.О. 2013. Опыт молекулярно-генетической сертификации пасеки. *Пчеловодство*, 5: 14. [Nikolenko A.G., Il'yasov R.A., Poskryakov A.V., Kugeiko V.O. 2013. Practice in molecular genetic certification apiary. *Pchelovodstvo*, 5: 14.]

Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В., Поскряков А.В. и др. 1998. Использование метода ПЦР для контроля чистопородности пчелосемей *Apis mellifera mellifera* L. в условиях южного Урала. *Генетика*, 34(11): 1574–1577. [Nikonorov Yu.M., Benkovskaia G.V., Poskryakov A.V. et al. 1998. The use of the PCR technique for control purebreeding of honeybees (*Apis mellifera mellifera* L.) colonies from the Southern Urals. *Russian Journal of Genetics*, 34(11): 1344–1347.]

Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н. и др. 2013. Популяционно-генетическая структура медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) в районе д. Леботёр Чаинского района Томской области. *Вестник Томского государственного университета. Биология*, 1(21): 161–172. [Ostroverkhova N.V., Konusova O.L., Kucher A.N. et al. 2013. Population genetic structure of the honeybee (*Apis mellifera* L.) near the village Leboter, Chainsk region of Tomsk region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*, 1(21): 161–172.]

Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н. и др. 2015. Генетическое разнообразие локуса COI–COII мтДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в Томской области. *Генетика*, 51(1): 89–100. [Ostroverkhova N.V., Konusova O.L., Kucher A.N. et al. 2015 Genetic diversity of the locus COI–COII of mitochondrial DNA in honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from the Tomsk region. *Russian Journal of Genetics*, 51(1): 89–100.]

Саттаров В.Н. 2009. Породный состав пчел горнолесной зоны Башкортостана. *Пчеловодство*, 7: 20–21. [Sattarov V.N. 2009. The species consist of bees mountain forest zone of Bashkortostan. *Pchelovodstvo*, 7: 20–21.]

Bodur C., Kence M., Kence A. 2007. Genetic structure of honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) populations of Turkey inferred from microsatellite analysis. *Journal of Apicultural Research*, 46(1): 50–56.

Bourgeois L., Sylvester A., Danka R., Rinderer T. 2008. Comparison of microsatellite DNA diversity among commercial queen breeder stocks of Italian honey bees in the United States and Italy. *Journal of Apicultural Research*, 47(2): 93–98.

Canovas F., De la Rúa P., Serrano J., Galian J. 2011. Microsatellite variability reveals beekeeping influences on Iberian honeybee populations. *Apidologie*, 42(3): 235–251.

Dall'olio R., Marino A., Lodesani M., Moritz R.F.A. 2007. Genetic characterization of Italian honey bees, *Apis mellifera ligustica*, based on microsatellite DNA polymorphisms. *Apidologie*, 38: 207–217.

De la Rúa P., Jaffé R., Dall'olio R. et al. 2009. Biodiversity, conservation and current threats to European honey bees. *Apidologie*, 40(3): 263–284.

Franck P., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.M. 1998. The origin of west European subspecies of honey bees (*Apis mellifera*): new insights from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution*, 52(4): 1119–1134.

Frank P., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.M. 2000. Molecular confirmation of a fourth lineage in honey bees from the Near East. *Apidologie*, 31: 167–180.

Garnery L., Cornuet J.M., Solignac M. 1992. Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology*, 1: 145–154.

Garnery L., Franck P., Baudry E. et al. 1998. Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*). II. Microsatellite loci. *Genetics Selection and Evolution*, 30(Suppl. 1): 49–74.

Honey Bee Genome Sequencing Consortium. 2006. Insights into social insects from the genome of the honey bee *Apis mellifera*. *Nature*, 443(7114): 931–949.

Ilyasov R.A., Kutuev I.A., Petukhov A.V. et al. 2011. Phylogenetic relationships of dark European honeybees *Apis mellifera mellifera* L. from the Russian Ural and West European populations. *Journal of Apicultural Science*, 55(1): 67–76.

Meixner M.D., Pinto M.A., Bouga M. et al. 2013. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52(4): 1–27.

Miguel I., Iriondo M., Garnery L. et al. 2007. Gene flow within the M evolutionary lineage of *Apis mellifera*: role of the Pyrenees, isolation by distance and postglacial recolonization routes in the Western Europe. *Apidologie*, 38: 141–155.

Miguel I., Baylac M., Iriondo M. et al. 2010. Both geometric morphometric and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera* M evolutionary branch. *Apidologie*, 42: 150–161.

Muñoz I., Dall'olio R., Lodesani M., De la Rúa P. 2009. Population genetic structure of coastal Croatian honey bees (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie*, 40: 617–626.

Nikolova S. 2011. Genetic variability of local Bulgarian Honey Bees *Apis mellifera macedonica* (*rodopica*) based on microsatellite DNA analysis. *Journal of Apicultural Science*, 55(2): 117–129.

Oleksa A., Chybicki I., Tofilski A., Burczyk J. 2011. Nuclear and mitochondrial patterns of introgression into native dark bees (*Apis mellifera mellifera*) in Poland. *Journal of Apicultural Research*, 50(2): 116–129.

Soland-Reckeweg G., Heckel G., Neumann P. et al. 2009. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Insect Conservation*, 13: 317–328.

Solignac M., Vautrin D., Loiseau A. et al. 2003. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) genome. *Molecular Ecology Notes*, 3: 307–311.

Whitfield C.W., Behura S.K., Berlocher S.H. et al. 2006. Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science*, 314: 642–645.