ГЕНЕТИКА, 2015, том 51, № 1, с. 89–100

ГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ

УДК 575.174:595.799

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЛОКУСА COI-COII мтДНК МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ *Apis mellifera* L. В ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2015 г. Н. В. Островерхова, О. Л. Конусова, А. Н. Кучер, Т. Н. Киреева, А. А. Воротов, Е. А. Белых

Национальный исследовательский Томский государственный университет, кафедра зоологии беспозвоночных, Томск 634050

e-mail: nvostrov@mail.ru

Поступила в редакцию 06.05.2014 г.

Проведена оценка генетического разнообразия локуса COI-COII мтДНК у медоносной пчелы в Томской области. Зарегистрированы три варианта локуса COI-COII мтДНК: PQQ, PQQQ (характерны для среднерусской породы) и Q (свойствен южным породам). Установлено, что по материнской линии 64% пчелосемей имеют происхождение от среднерусской породы медоносной пчелы, 28% пчелосемей – от южных пород и 8% составляют смешанные пчелосемьи. Для южных районов области показано большее генетическое разнообразие медоносных пчел по сравнению с северными районами, где преобладают однородные по генетическому варианту локуса COI-COII пчелосемьи (96%) и пасеки (73%). В Томской области не обнаружено больших территорий с пчелосемьями, имеющими по материнской линии происхождение от среднерусской породы; выявлено только несколько пасек (как в северных, так и в южных районах), все пчелы которых имеют происхождение от среднерусской породы.

DOI: 10.7868/S0016675815010105

Медоносная пчела *Apis mellifera* L. обладает огромным естественным ареалом, охватывающим всю Африку, Европу и Ближний Восток. На основании морфометрических и молекулярно-генетических маркеров предпринимались подходы к эволюционной классификации многочисленных подвидов и экотипов медоносной пчелы. Так, на основании морфометрического анализа первоначально были выделены хорошо дифференцированные эволюционные ветви, или линии, которые соответствовали географическому происхождению подвидов: к линии M отнесены подвиды медоносной пчелы западной части Средиземноморья и Северо-Западной Европы (*A. m. mellifera*, *A. m. iberiensis*, *A. m. intermissa*, *A. m. sahariensis*, *A. m. siciliana* и *A. m. ruttner*), к линии C – подвиды Юго-Восточной Европы и Восточного Средиземноморья (*A. m. ligustica*, *A. m. carnica, A. m. macedonica*, *A. m. cecropia*, *A. m. cypria*, *A. m. adami*), к линии O – подвиды Ближнего Востока и западной части Азии (*A. m. caucasica*, *A. m. anatoliaca*, *A. m. syriaca*, *A. m. meda*, *A. m. armeniaca*, *A. m. jemenitica*, *A. m. pomonella*) и к линии A – подвиды Африканского континента (*A. m. lamarckii*, *A. m. andansonii*, *A. m. scutellata*, *A. m. monticola*, *A. m. litorea*, *A. m. capensis*, *A. m. unicolor* и *A. m. simensis*) [1, 2]. Однако данные молекулярно-генетического анализа митохондриальной ДНК (мтДНК) показали, что варианты мтДНК не во всех случаях соответствуют морфологической системе. Для подвидов Африки (линия A) и Северо-Западной Европы (линия M) показано соответствие морфометрических и мтДНК результатов; подвиды *A. m. intermissa*, *A. m. sahariensis*, *A. m. siciliana* и *A. m. ruttner* в настоящее время отнесены к североафриканской группе внутри линии A. В то же время подвиды Средиземноморья, Восточной Европы и западной части Азии, сгруппированные в морфологические линии C и O, по вариантам мтДНК существенно не различаются, поэтому все они были отнесены к гипотетической линии C [2, 3]. В популяциях медоносной пчелы Ближнего Востока были найдены отличающиеся от линий A, M и C варианты мтДНК, которые были ассоциированы с морфологической линией O [2, 4]. В дальнейшем, на основании дополнительных молекулярно-генетических данных митохондриальная линия O была идентифицирована как подгруппа африканской линии A и переименована в линию Z [2]. Наконец, еще одна митохондриальная линия, обозначенная Y, была идентифицирована у медоносных пчел Северо-Восточной Африки, которая также вошла в африканскую группу [2]. Изменения коснулись также и эволюционной ветви M: на основании анализа нуклеотидных последовательностей предполагается наличие только одного подвида в этой линии – *A. m. mellifera* [5]. Интересен тот факт, что недавние молекулярно-генетические исследования репрезентативных выборок 14 подвидов с использованием ядерных маркеров (SNP) позволили выделить группы, в значительной степени отражающие традиционные четыре эволюционные ветви, предложенные F. Ruttner на основе морфологии [1, 6].

В Европе встречается несколько подвидов медоносной пчелы, но только подвид *Apis mellifera mellifera* (или темная лесная пчела) освоил лесостепную и лесную зоны и имеет естественный ареал вдоль северной границы Евразии примерно до 60° северной широты. Эволюция темной лесной пчелы проходила в суровых природно-климатических условиях, и в отличие от других подвидов медоносной пчелы *A. m. mellifera* характеризуется высоким уровнем адаптации к неблагоприятным факторам окружающей среды, большей устойчивостью к болезням. Предполагается, что на такой обширной территории не может обитать один подвид медоносной пчелы *A. m. mellifera* со сходной структурой генофонда во всех локальных популяциях. Скорее всего, существуют экологические группы (экотипы), отличающиеся друг от друга как по генетическим параметрам, так и по поведенческим, физиологическим и морфологическим признакам на уровне ниже подвидового [7].

В Сибирь медоносная пчела была завезена 200 лет назад, хорошо адаптировалась к местному климату и растительным сообществам и представляет собой искусственные популяции, зимовку которых контролирует человек. Первоначально в Сибири культивировалась медоносная пчела *Apis mellifera mellifera*, или среднерусская порода (термин, принятый в России), как наиболее адаптированная к суровым климатическим условиям региона. Случаи завоза в Западную Сибирь пчел южных пород, таких как карпатская (производная *A. m. carnica*), серая горная кавказская (*A. m. caucasica*) и итальянская (*A. m. ligustica*), известны с 1920-х годов. В конце прошлого века этот процесс стал массовым и практически неконтролируемым, наблюдается высокий уровень метисации пчел [8]. Массовая межпородная гибридизация приводит к сокращению ареала аборигенных подвидов и "ухудшению" генотипического состава медоносных пчел. Гибридные популяции менее адаптированы к резко изменяющимся в течение года условиям окружающей среды, характеризуются повышенным уровнем заболеваемости и снижением иммунитета [2, 7, 9].

Подвиды медоносной пчелы различаются по генетическим особенностям. Это относится и к межгенному региону COI-COII (последовательность между генами цитохромоксидазы I и цитохромоксидазы II) мтДНК. Локус COI-COII состоит из двух нуклеотидных последовательностей – P (может быть представлен несколькими вариантами – P0, P1 и P2) и Q [10]. Эволюционные линии медоносной пчелы различаются по числу копий последовательностей P (1 или 0) и Q (от 1 до 5) [10, 11]. Например, восточно-европейская линия C обладает самой короткой последовательностью этого межгенного региона (имеет одну копию Q-элемента, P-последовательность отсутствует); подвиды пчел линий M, A, Z и Y характеризуются более длинной последовательностью, так как наряду с P-элементом содержат от одного до пяти элементов Q (т.е. имеют варианты PQ, PQQ, PQQQ, PQQQQ и PQQQQQ). Для южных пород медоносной пчелы (серая горная кавказская, карпатская, итальянская), культивируемых в России, установлена структура локуса, представленная только последовательностью Q, а у среднерусской породы регистрируются несколько вариантов локуса – PQQ, PQQQ, PQQQQ. Таким образом, специфичность пород медоносной пчелы по структуре локуса COI-COII мтДНК позволяет установить происхождение медоносной пчелы по материнской линии.

В настоящем сообщении представлены результаты исследования распространенности генетических вариантов локуса COI-COII мтДНК в популяциях медоносной пчелы на территории Томской области, выполненные с целью характеристики современного состояния генофонда пчел на пасеках и выявления локальных популяций медоносной пчелы среднерусской породы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили рабочие пчелы, отобранные в период 2009–2013 гг. от 316 пчелосемей 56 пасек 11 районов Томской области (рис. 1), в том числе с 19 пасек 14 населенных пунктов шести северных (Парабельского, Колпашевского, Чаинского, Молчановского, Кривошеинского и Бакчарского) и с 37 пасек 29 населенных пунктов пяти южных (Асиновского, Шегарского, Зырянского, Томского, Кожевниковского) районов области (табл. 1).

С учетом особенностей организации пчелосемей для изучения полиморфизма мтДНК можно исследовать одну рабочую пчелу (или одного трутня) от семьи [12]. Сбор образцов должен проводиться тщательным образом, чтобы исключить возможный миграционный дрейф между колониями. Так, в качестве образца может служить личинка, особь при выходе из ячейки расплода или нелетная пчела. Однако при формировании выборок не всегда удается добиться требуемой аккуратности, поэтому во избежание ошибок при определении происхождения пчелосемьи рекомендуется анализировать большее число особей.

В предыдущем исследовании нами при анализе локуса COI-COII мтДНК в некоторых случаях в одной пчелосемье были выявлены пчелы разного происхождения, как среднерусской породы, так и южных пород (выявлены варианты PQQ и Q) [13]. Поэтому для более точной оценки генетического разнообразия пчел от каждой пчелосемьи исследовали от двух до пяти особей, а в случае вы-

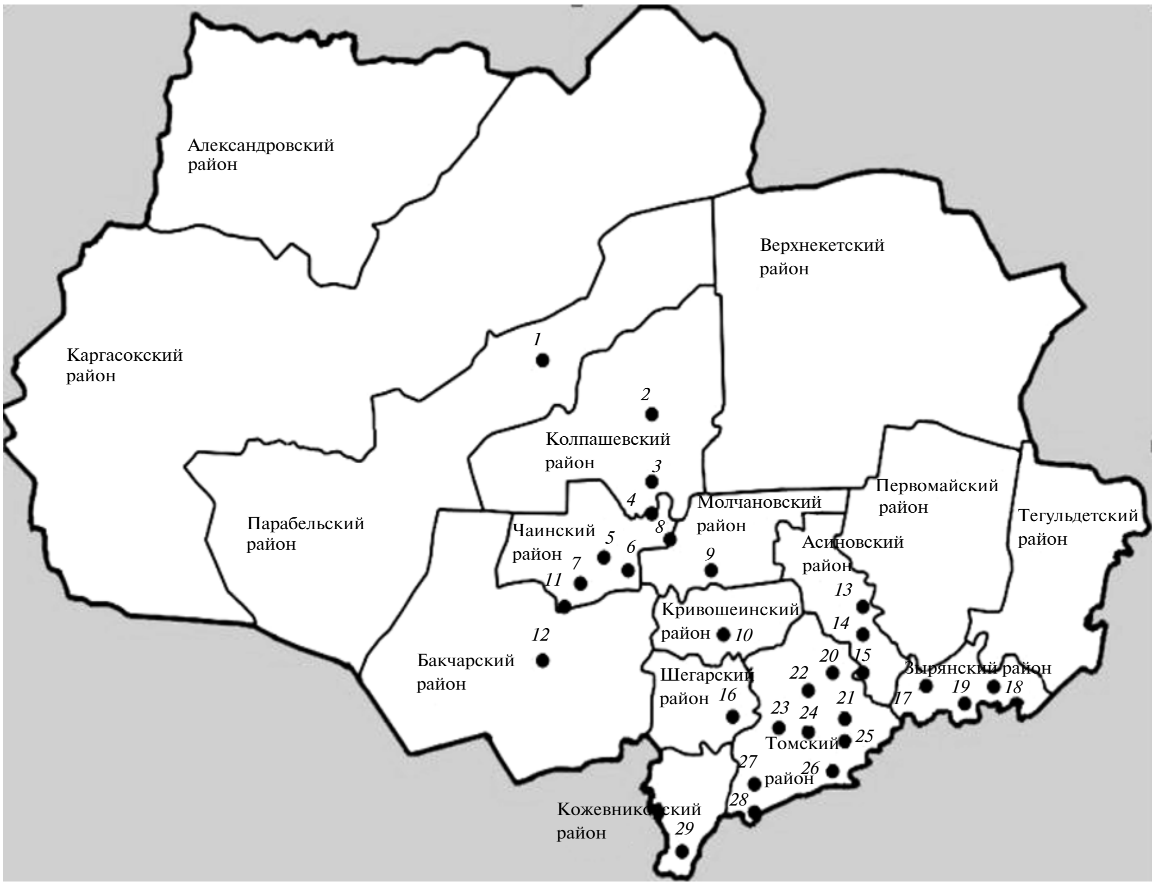

Рис. 1. Карта локализации исследованных пасек Томской области: *1* – с. Парабель; *2* – окр. г. Колпашево; *3* – д. Новоабрамкино; *4* – с. Лeботер; *5* – с. Подгорное; *6* – д. Стрельниково; *7* – с. Гореловка; *8* – д. Сарафановка; *9* – с. Соколовка; *10* – с. Кривошеино; *11* – с. Высокий Яр, д. Крыловка; *12* – с. Бакчар, с. Парбиг; *13* – д. Тихомировка; *14* – урочище Кужербак; *15* – с. Новиковка; *16* – с. Каргала; *17* – с. Дубровка; *18* –с. Окунеево; *19* – с. Зырянское; *20* – д. Кусково; *21* – п. Заречный (Межениновское сельское поселение); *22* – д. Бодажково, с. Семилужки, п. Заречный (Малиновское сельское поселение); *23* –д. Нижне-Сеченово, д. Березкино, с. Зоркальцево, с. Рыбалово, д. Кудринский участок, д. Губино; *24* – п. Синий Утес, д. Магадаево, д. Просекино, с. Коларово, окр. г. Томска; *25* – д. Большое Протопопово; *26* – с. Межениновка; *27* – д. Кандинка, с. Курлек; *28* – с. Яр; *29* – д. Еловка. Пасеки, расположенные на расстоянии менее 15 км друг от друга, обозначены одной точкой.

явления у пчел одной и той же пчелосемьи разных вариантов мтДНК или регистрации морфологических признаков, свойственных разным породам пчел, выборку увеличивали. Всего исследовано 2018 пчел.

Выделение ДНК и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили согласно стандартным методикам с некоторыми модификациями [14, 15]. Для амплификации локуса COI-COII мтДНК использованы следующие последовательности праймеров: 3'-CACATTTAGAAATTCCATTA, 5'-ATAAATATGAATCATGTGGA. Продукты амплификации фракционировали в 1.5%-ном агарозном геле, результаты документировали с использованием системы Gel-Doc XR+ (рис. 2).

Частоты вариантов локуса COI-COII мтДНК сначала оценивали для каждой пчелосемьи отдельно. В дальнейшем для оценки генетического состава пасек в населенных пунктах, а также разнообразия локуса COI-COII мтДНК на уровне районов, наряду с пчелосемьями, в которых регистрировался только один вариант, к расчету привлекались сведения по пчелосемьям смешанного состава. При регистрации разных вариантов локуса COI-COII учитывалась представленность (частоты) этих вариантов в пределах одной пчелосемьи.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Генетическое разнообразие локуса COI-COII мтДНК

В популяциях медоносной пчелы, локализованных на территории Томской области, зарегистрированы три варианта локуса COI-COII мтДНК, два из которых (PQQ и PQQQ) характер-

Таблица 1. Распространенность вариантов локуса COI-COII мтДНК у пчел в районах и населенных пунктах Томской области

Географическая локализация: **район**, населенный пункт	Количество		Выявленные варианты	Частота регистрации вариантов локуса COI-COII мтДНК (PQQ/PQQQ/Q)		
	пчелосемей	пчел		на пасеках	в населенных пунктах	в районах
СЕВЕРНЫЕ РАЙОНЫ						
Парабельский р-н	**1**	**24**				**1.00/0/0**
с. Парабель	1	24	PQQ		1.00/0/0	
Колпашевский р-н	**29**	**138**				**0.07/0/0.93**
окр. г. Колпашево	1	13	Q		0/0/1.00	
д. Новоабрамкино	28	125	PQQ, Q		0.07/0/0.93	
Чаинский р-н	**74**	**339**				**0.90/0/0.10**
с. Леботер	10	54	PQQ, Q		0.41/0/0.59	
с. Подгорное: пасека-1	1	5	PQQ	1.00/0/0	0.91/0/0.09	
пасека-2	9	45	PQQ	1.00/0/0		
пасека-3	6	32	PQQ, Q	0.97/0/0.03		
пасека-4	2	10	PQQ	1.00/0/0		
пасека-5	3	16	PQQ, Q	0.47/0/0.53		
д. Стрельниково	42	172	PQQ		1.00/0/0	
с. Гореловка	1	5	PQQ		1.00/0/0	
Молчановский р-н	**18**	**131**				**0.94/0/0.06**
с. Соколовка: пасека-1	1	17	Q	0/0/1.00	0.50/0/0.50	
пасека-2	1	5	PQQ	1.00/0/0		
д. Сарафановка	16	109	PQQ		1.00/0/0	
Кривошеинский р-н	**31**	**180**				**1.00/0/0**
окр. с. Кривошеино	31	180	PQQ		1.00/0/0	
Бакчарский р-н	**26**	**152**				**0.34/0/0.66**
с. Парбиг	10	72	PQQ, Q		0.87/0/0.13	
окр. с. Бакчар	1	6	Q		0/0/1.00	
с. Высокий Яр	9	44	Q		0/0/1.00	
д. Крыловка	6	30	Q		0/0/1.00	
Всего по северным районам: населенных пунктов — 14; пасек — 19; пчелосемей — 179; пчел — 964						**0.70/0/0.30**
ЮЖНЫЕ РАЙОНЫ						
Асиновский р-н	**20**	**97**				**0.39/0.46/0.15**
урочище Кужербак	10	51	PQQ, PQQQ		0.16/0.84/0	
д. Тихомировка	5	21	PQQ, Q		0.40/0/0.60	
с. Новиковка	5	25	PQQ, PQQQ		0.84/0.16/0	
Шегарский р-н	**1**	**10**				**0.10/0/0.90**
с. Каргала	1	10	PQQ, Q		0.10/0/0.90	
Зырянский р-н	**30**	**154**				**0.54/0.24/0.22**
с. Зырянское: пасека-1	4	18	PQQQ	0/1.00/0	0.05/0.44/0.51	
пасека-2	5	30	PQQ, Q	0.09/0/0.91		

Таблица 1. Окончание

Географическая локализация: **район**, населенный пункт	Количество		Выявленные варианты	Частота регистрации вариантов локуса COI-COII мтДНК (PQQ/PQQQ/Q)		
	пчелосемей	пчел		на пасеках	в населенных пунктах	в районах
с. Дубровка	19	96	PQQ, PQQQ		0.84/0.16/0	
с. Окунеево	2	10	Q		0/0/1.00	
Томский р-н	**74**	**713**				**0.39/0.12/0.49**
с. Межениновка	2	10	PQQ, Q		0.90/0/0.10	
д. Губино: пасека-1	2	10	PQQ	1.00/0/0	0.50/0/0.50	
пасека-2	2	9	Q	0/0/1.00		
пасека-3	1	24	PQQ	1.00/0/0		
пасека-4	1	5	Q	0/0/1.00		
д. Магадаево	3	14	PQQ		1.00/0/0	
д. Кандинка	5	26	PQQ, Q		0.17/0/0.83	
д. Просекино: пасека-1	5	35	PQQ, Q	0.20/0/0.80	0.38/0/0.62	
пасека-2	2	11	PQQ, Q	0.82/0/0.18		
д. Бодажково	4	43	PQQ, Q		0.80/0/0.20	
д. Нижне-Сеченово	2	8	PQQQ, Q		0/0.75/0.25	
п. Синий Утес	3	56	Q		0/0/1.00	
с. Зоркальцево	1	7	PQQ		1.00/0/0	
с. Рыбалово: пасека-1	1	29	PQQ	1.00/0/0	0.50/0.50/0	
пасека-2	1	59	PQQQ	0/1.00/0		
д. Кудринский участок	1	16	PQQ, PQQQ		0.63/0.37/0	
с. Курлек: пасека-1	18	71	PQQ, Q	0.50/0/0.50	0.36/0.15/0.49	
пасека-2	7	113	PQQ, PQQQ, Q	0.01/0.54/0.45		
с. Коларово: пасека-1	1	24	PQQ	1.00/0/0	0.62/0/0.38	
пасека-2	2	12	PQQ, Q	0.43/0/0.57		
с. Семилужки	2	44	PQQ, Q		0.50/0/0.50	
п. Заречный (Межениновское сельское поселение)	1	15	Q		0/0/1.00	
п. Заречный (Малиновское сельское поселение)	2	22	PQQQ		0/1.00/0	
д. Кусково	1	9	Q		0/0/1.00	
д. Большое Протопопово	1	7	Q		0/0/1.00	
д. Березкино	1	8	Q		0/0/1.00	
с. Яр	1	10	Q		0/0/1.00	
окр. г. Томска	1	16	Q		0/0/1.00	
Кожевниковский р-н	**12**	**80**				**1.00/0/0**
д. Еловка	12	80	PQQ		1.00/0/0	
Всего по южным районам: населенных пунктов – 29; пасек – 37; пчелосемей – 137; пчел – 1054						**0.48/0.18/0.34**
Всего: населенных пунктов – 43; пасек – 56; пчелосемей – 316; пчел – 2018						**0.61/0.08/0.31**

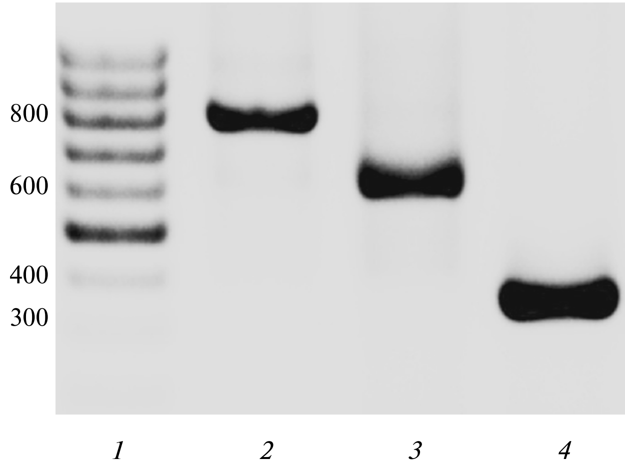

Рис. 2. Результаты электрофоретического разделения продуктов ПЦР со специфическими праймерами для выявления полиморфизма локуса COI-COII мтДНК медоносной пчелы. Дорожка *1* – ДНК-маркер, 100 пн (фрагмент, имеющий длину 500 пн, показывает наибольшую интенсивность); дорожки *2* и *3* – образцы ДНК среднерусской породы, варианты PQQQ и PQQ (800 и 600 пн соответственно); дорожка *4* – образец ДНК южной породы, вариант Q (размер фрагмента 350 пн).

ны для среднерусской породы и один (Q) – для южных пород (табл. 1). В целом из 316 пчелосемей 28% имели происхождение от южных пород медоносной пчелы, 64% – от среднерусской породы и 8% имели смешанное происхождение (в семьях регистрировались варианты мтДНК, характерные и для среднерусской, и для южных пород). 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.

В полном соответствии с особенностями генетического состава по локусу COI-COII среднерусской породы в Томской области среди пчелосемей смешанного породного состава наиболее часто регистрировались семьи с аллелями PQQ и Q (88.0%) и реже – с вариантами PQQQ и Q (8.0%), а в одной семье (4%) в с. Курлек Томского района (пасека-2) были выявлены пчелы всех трех линий – PQQ, PQQQ и Q (табл. 1). Однако в смешанных пчелосемьях представленность разных вариантов мтДНК оказалась неодинаковой. Из 25 пчелосемей со смешанным составом равно представлены разные варианты локуса COI-COII мтДНК у пчел только в 20% пчелосемей (по одной семье на пасеке-5 с. Подгорное, пасеке-2 с. Зырянское, пасеке-1 с. Курлек и пасеках д. Бодажково и д. Нижне-Сеченово), а в подавляющем большинстве случаев (20 семей, 80%) у пчел преобладал один из вариантов данного локуса.

Наличие пчел с разными вариантами локуса мтДНК в одной пчелосемье может быть связано с особенностями работы на пасеке. В частности, смешанные по составу пород пчелосемьи образуются при объединении двух семей разного происхождения с целью их усиления (например, такая ситуация имела место на пасеках с. Курлек Томского района). Однако в тех случаях, когда регистрируется выраженная диспропорция по представленности разных вариантов мтДНК в пчелосемьях, это также может быть следствием "миграционного" обмена между семьями, например вследствие блуждания и "впрашивания" рабочих пчел.

Полученные результаты позволяют заключить, что на пасеках Томской области регистрируются варианты локуса COI-COII мтДНК, характерные как для среднерусской (2 варианта), так и для южных пород. Следует отметить, что исследования генетических особенностей медоносной пчелы на территории России немногочисленны [15–21]. Особенности мтДНК (локус COI-COII, в некоторых работах – ND2) изучены у медоносных пчел ряда популяций европейской части России (Кировская область), Урала (Башкортостан, Удмуртия, Пермский край, Свердловская и Челябинская области) [15–20], а также Алтая и Сибири [21]. Как и в Томской области, на территории Башкортостана [17] и особенно на территории Челябинской [15], Свердловской [18] и Кировской областей [19] интенсивно завозят южные породы медоносной пчелы. В то же время полученные разными исследовательскими коллективами результаты указывают на наличие специфичности в генофондах пчел на разных территориях [17, 21]. Так, в популяциях медоносной пчелы *Apis mellifera* в Татарстане, Свердловской, Челябинской и Кировской областей регистрировались только два аллельных варианта COI-COII мтДНК – PQQ и Q, тогда как в некоторых популяциях европейской части России (орловской, вологодской), Урала (башкирской, пермской), Алтая (горно-алтайской) и Сибири (кемеровской, красноярской) выявлены другие, более "тяжелые" варианты COI-COII мтДНК, специфичные для среднерусской породы – PQQQ (800 пн) и PQQQQQ (1200 пн) [21]. Отмечается определенная дифференциация различных регионов в отношении генотипического состава медоносной пчелы по частоте регистрации данных вариантов.

Географическая дифференциация пчелосемей по локусу COI-COII мтДНК

Пчелосемьи различных районов Томской области различаются между собой по частоте регистрации вариантов локуса COI-COII мтДНК (табл. 2). Для северных территорий из 179 пчело-

Таблица 2. Распределение пчелосемей по вариантам локуса COI-COII мтДНК

Административный район	Количество пчелосемей	Регистрируемые в пчелосемьях варианты локуса COI-COII мтДНК													
		PQQ		PQQQ		Q		PQQ и PQQQ		PQQ и Q		PQQQ и Q		PQQ, PQQQ и Q	
		N	*p*	*N*	*p*	*N*	*p*	*N*	*p*	*N*	*p*	*N*	*p*	*N*	*p*
Северные районы															
Парабельский	1	1	1.00												
Колпашевский	29	2	0.07			27	0.93								
Чаинский	74	63	0.85			5	0.07			6	0.08				
Молчановский	18	17	0.94			1	0.06								
Кривошеинский	31	31	1.00												
Бакчарский	26	7	0.27			17	0.65			2	0.08				
Итого	**179**	**121**				**50**				**8**					
Южные районы															
Асиновский	20	6	0.3	6	0.3	3	0.15	5	0.25						
Шегарский	1									1	1.00				
Зырянский	30	14	0.47	6	0.2	6	0.2	3	0.1	1	0.03				
Томский	74	21	0.28	7	0.1	30	0.41	1	0.01	12	0.16	2	0.03	1	0.01
Кожевниковский	12	12	1.00												
Итого	**137**	**53**		**19**		**39**		**9**		**14**		**2**		**1**	
Всего	**316**	**174**		**19**		**89**		**9**		**22**		**2**		**1**	

Примечание. *N* и *p* – число и частота пчелосемей с соответствующим вариантом локуса COI-COII мтДНК.

семей однородными по генетическому варианту локуса мтДНК были 96% семей (в том числе 68% имели происхождение от среднерусской породы, у которых регистрировался только вариант PQQ, 28% происходили от южных пород), и только 4% имели смешанный состав (регистрировались особи с вариантами локуса COI-COII, характерными и для среднерусской, и для южных пород). При этом на пасеках Чаинского и Молчановского районов преобладают пчелосемьи, имеющие происхождение от среднерусской породы (85 и 94% соответственно), реже встречаются пчелосемьи южного происхождения, в Чаинском районе также выявлены пчелосемьи со смешанным породным составом (табл. 1, 2). В то же время на пасеках Колпашевского и Бакчарского районов, наоборот, преобладают пчелосемьи южного происхождения (93 и 65% соответственно), и только в Бакчарском районе было зарегистрировано несколько пчелосемей, где особи имели варианты PQQ и Q (табл. 1, 2).

Для южных территорий процент пчелосемей, однородных по вариантам локуса COI-COII, был несколько ниже по сравнению с северными районами и составил 81% (табл. 2). Из 137 пчелосемей 53% имели происхождение от среднерусской породы (однородные по составу), 28% были южного происхождения, на долю пчелосемей смешанного состава пород приходилось 19%. В отличие от северных регионов у пчел южных территорий, имеющих происхождение от среднерусской породы, выявлено два варианта локуса COI-COII – PQQ и PQQQ, в то же время наиболее часто регистрировались семьи с пчелами, имеющими вариант PQQ (65.4% от всех семей среднерусской породы), реже встречались семьи с пчелами, имеющими вариант PQQQ (23.5%), и смешанные пчелосемьи, имеющие пчел с двумя вариантами – PQQ и PQQQ (11.1%). Пчелосемьи с вариантом PQQQ выявлены в трех южных районах области – Асиновском, Зырянском и Томском, причем в Асиновском районе половина пчелосемей, имеющих происхождение от среднерусской породы, была представлена вариантом PQQQ. В этих же районах выявлены также семьи с особями среднерусского происхождения, имеющими разные варианты локуса мтДНК – как PQQ, так и PQQQ. Для южных районов области также характерна неоднородность в отношении частоты регистрации различных вариантов локуса COI-COII: в Кожевниковском районе все 12 изученных пчелосемей (100%) имели аллель PQQ, тогда как доля пчелосемей с таким вариантом в Зырянском районе составила 47%, в Асиновском – 30%, в Томском – 28% (табл. 1, 2).

Для Томского района характерно наибóльшее генетическое разнообразие пчелосемей – выявлены все три варианта локуса COI-COII, зарегистрированные в Томской области, причем встречались как генетически однородные пчелосемьи, так и со всевозможными комбинациями аллелей этого локуса у особей одной и той же пчелосемьи. Высокое разнообразие по локусу COI-COII в Томском районе может быть следствием более развитого пчеловодства в этом районе, близкого расположения пасек относительно друг друга, а также бесконтрольного и необоснованного с точки зрения породного районирования разведения различных пород медоносной пчелы.

В последнее время в Томской области наблюдается предпочтительное разведение на пасеках карпатской породы как более миролюбивой и более доступной в пчелопитомниках России. В то же время именно среднерусская порода как самая адаптированная к продолжительной холодной зиме, короткому летнему взятку, более устойчивая к ряду заболеваний должна рассматриваться основной породой для разведения на территории Сибири, особенно в северных районах Томской области. Активный завоз на территорию области пчел южного происхождения привел к высокому уровню смешения пчелосемей, появлению значительного числа гибридных пасек. Однако, несмотря на высокую гетерогенность в отношении генетических особенностей по мтДНК пчелосемей, в ряде районов (Зырянском, Томском, Кривошеинском и др.) выявлены локальные популяции медоносной пчелы среднерусской породы (табл. 1).

Генетическая гетерогенность пасек Томской области

Если проанализировать распределение вариантов мтДНК на уровне пасек, то однородные по локусу COI-COII пасеки составили 61% (в том числе 29% пасек с пчелами, имеющими вариант PQQ; 5% – вариант PQQQ и 27% пасек с вариантом Q, свидетельствующим о происхождении пчел по материнской линии от южных пород). На долю пасек со смешанным по принадлежности к породам составом особей (регистрировались два или три варианта локуса COI-COII мтДНК) приходилось 39%, среди которых преобладали пасеки (29%), где были представлены особи с аллелем PQQ, специфичным для среднерусской породы, и “южным” вариантом Q (табл. 1, 3). Четыре пасеки (7%) имели пчел с разными вариантами, но специфичными для среднерусской породы (PQQ/PQQQ), т.е. пчелы имели происхождение от среднерусской породы по материнской линии.

Среди 19 пасек северных районов преобладали однородные по генетическому варианту локуса COI-COII, на их долю приходилось 73%, тогда

Таблица 3. Распределение пасек Томской области по вариантам локуса COI-COII мтДНК

Варианты локуса COI-COII и их сочетания	Северные районы		Южные районы		Всего	
	число пасек	доля пасек	число пасек	доля пасек	число пасек	доля пасек
PQQ	9	0.47	7	0.19	16	0.29
PQQQ	0	0.00	3	0.08	3	0.05
Q	5	0.26	10	0.27	15	0.27
PQQ/PQQQ	0	0.00	4	0.11	4	0.07
PQQ/Q	5	0.26	11	0.30	16	0.29
PQQQ/Q	0	0.00	1	0.03	1	0.02
PQQ/PQQQ/Q	0	0.00	1	0.03	1	0.02
Всего	**19**		**37**		**56**	

как среди 37 пасек южных районов частота регистрации таких пасек была ниже – 54%. В связи с тем, что пчелосемьи северных территорий характеризовались относительно невысоким разнообразием по изучаемому варианту мтДНК, ожидаемым является также небольшое число "генетических вариантов" пасек: обнаружены пасеки с пчелами, имеющими либо вариант PQQ, специфичный для среднерусской породы, либо пасеки с пчелами южного происхождения (вариант Q), либо смешанные пасеки с пчелами разного происхождения (только варианты PQQ и Q) (табл. 3). Такая особенность пчелосемей и пасек севера Томской области, вероятно, связана с тем, что в связи с более суровыми климатическими условиями здесь в целом менее развито пчеловодство (меньше пасек). На пасеках южных районов, наоборот, отмечено большее генетическое разнообразие пчел, у которых обнаружены все три варианта локуса COI-COII мтДНК как по отдельности, так и в разных сочетаниях.

Оценка генетического разнообразия медоносной пчелы на пасеках Томской области на основе анализа мтДНК (локус COI-COII) показала, что генетическая структура популяций пчел в Томской области достаточно сложная и мозаичная, особенно в южных районах области (рис. 3). Не обнаружено больших территорий с однородным по генетическому (породному) составу массивом пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы по материнской линии. Так, частота регистрации полиморфных вариантов локуса COI-COII мтДНК в северных районах Томской области варьирует в границах: для PQQ – от 0.07 в Колпашевском районе до 1.0 в Парабельском; соответственно, частота аллеля Q находится в интервале 0.93–0.0 (рис. 3; табл. 1). В южных районах размах изменчивости частот аллелей составил: для PQQ – от 0.10 (Шегарский район) до 0.54 (Зырянский район); для PQQQ – от 0 (Шегарский, Кожевниковский районы) до 0.46 (Асиновский район); для Q – от 0 (Кожевниковский район) до 0.9 (Шегарский район) (рис. 3; табл. 1). Более того, и в северных, и в южных районах во всех случаях, когда были изучены пасеки нескольких населенных пунктов в районе или несколько пасек в одном населенном пункте, также регистрировался высокий уровень дифференциации по генетическому разнообразию локуса COI-COII у пчел как населенных пунктов в пределах районов, так и пасек в пределах одного населенного пункта (табл. 1).

Таким образом, геногеографическая карта генофонда мтДНК медоносной пчелы Томской области имеет свою специфику и отличается от других территорий России. Например, на территории Башкортостана был выделен один сохранившийся резерват генофонда *A. m. mellifera*, локализованный в специализированном заповеднике бортевых пчел "Шульган-Таш" (Бурзянский район) [14, 17]. В Томской области выявлено только несколько пасек, как в северных районах области, так и в южных, все пчелосемьи которых имеют происхождение от среднерусской породы по материнской линии. Очевидно, что между локаль-

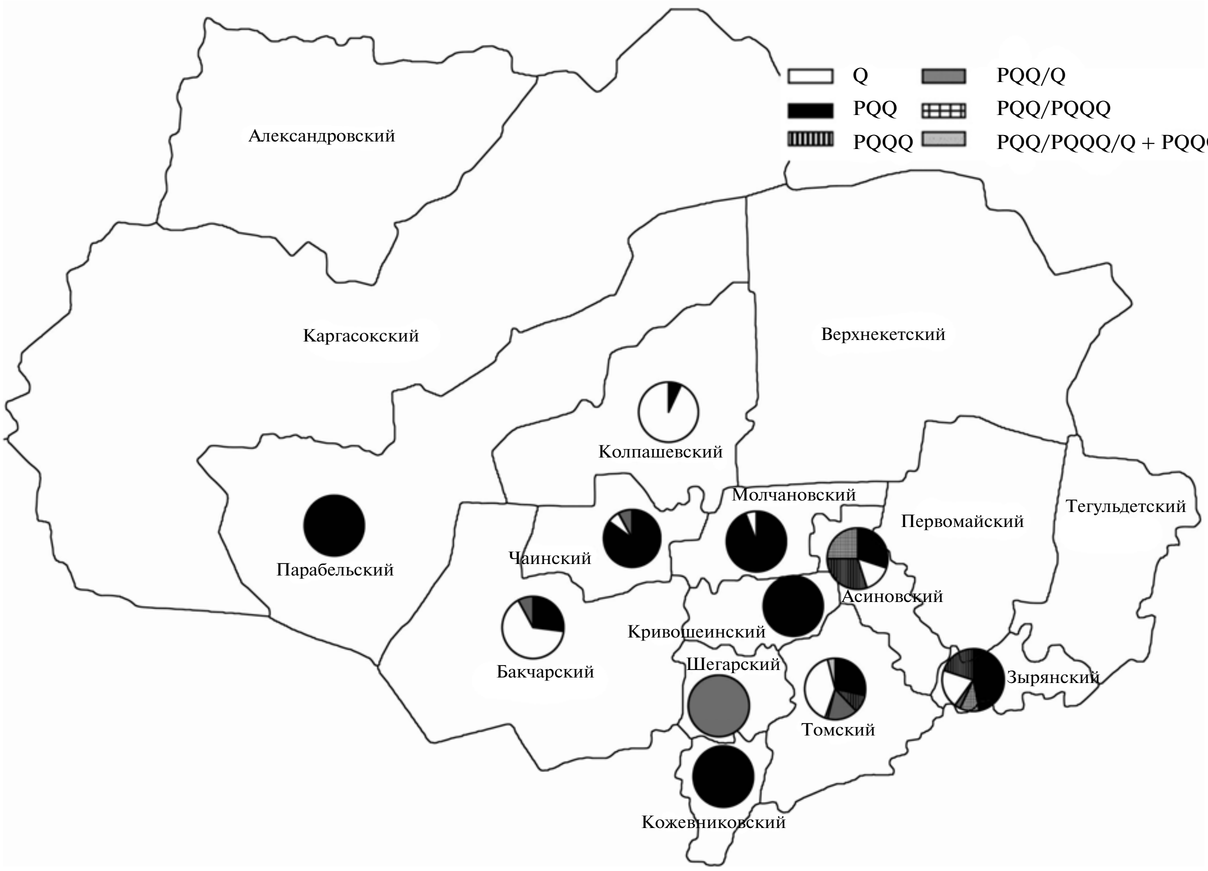

Рис. 3. Распределение вариантов локуса COI-COII мтДНК по районам Томской области. Варианты PQQ/PQQQ/Q (1%) и PQQQ/Q (3%), которые встречаются только в Томском районе, объединены.

ными популяциями медоносной пчелы Томской области происходит непрерывный поток генов как под воздействием антропогенных, так и естественных факторов (что особенно характерно для южных районов, и Томского района в частности). Следует, однако, иметь в виду, что в настоящей работе исследован один ДНК-маркер – локус мтДНК, который маркирует только материнскую составляющую генома. Одновременное же обитание пчел в одном районе, на одной пасеке и, тем более, в одной пчелосемье может способствовать процессам метисации различных пород. Так, ранее нами на основании сопоставления различных вариантов мтДНК и морфометрических показателей медоносных пчел 10 пчелосемей гибридной пасеки в с. Леботер Томской области было показано, что практически не регистрируется соответствие между заключением о принадлежности к породе на основании данных по вариантам мтДНК и специфичными для различных пород морфометрическими показателями [13]. Это свидетельствует о том, что на данной пасеке произошла метисация среднерусской и южных пород медоносной пчелы. Причем процесс “вытеснения генов” у пчел среднерусской породы менее масштабный, поскольку среди особей, обладающих характерным для данной породы вариантом локуса COI-COII, зарегистрирован меньший процент пчел с морфометрическими признаками, специфичными для южных пород, по сравнению с аналогичными данными, показанными для пчел с вариантом Q. Возможной причиной данной ситуации рассматривается особенность формирования популяции пчел: южные породы стали завозиться на пасеку недавно, и доля новых пчелосемей южных пород от общего числа семей пасеки была незначительной. Это указывает на важность комплексного подхода к установлению принадлежности пчелосемей к той или иной породе – учет не только морфометрических, но и молекулярно-генетических показателей (с учетом как митохондриального, так и ядерного генома). К сожалению, данные о структуре генофонда популяций медоносной пчелы по маркерам ядерного генома немногочисленны, а для России – единичны [22, 23].

Что касается разработки мероприятий, направленных на сохранение в Томской области популяций пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы, то важными представляются принятие мер по сохранению генофонда каждой из обнаруженных локальных популяций среднерусской породы от влияния помесных форм и "южных" пород, осуществление тщательного контроля пчелосемей, а также изучение чистопородности на основании морфометрических показателей. Важным является также анализ генетических особенностей различных пород медоносной пчелы по ядерным маркерам, что в дальнейшем может помочь контролировать уровень метисации медоносной пчелы в пчелосемьях и на пасеках не только по материнской, но и по отцовской линии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-98116-р-сибирь-а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ruttner F.* Biogeography and Taxonomy of Honey Bees. Berlin: Springer-Verlag, 1988. 288 p.
2. *Meixner M.D., Pinto M.A., Bouga M. et al.* Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera* // COLOSS BEEBOOK / Eds Dietemann V., Ellis J.D., Neumann P. Volume I: standard methods for *Apis mellifera* research // J. Apicultural Research. 2013. V. 52. № 4. P. 1–27.
3. *Garnery L., Cornuet J.M., Solignac M.* Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis // Mol. Ecology. 1992. № 1. P. 145–154.
4. *Frank P., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.M.* Molecular confirmation of a fourth lineage in honey bees from the Near East // Apidologie. 2000. № 31. P. 167–180.
5. *Ilyasov R.A., Kutuev I.A., Petukhov A.V. et al.* Phylogenetic relationships of dark European honeybees *Apis mellifera mellifera* L. from the Russian Ural and West European populations // J. Apicultural Science. 2011. V. 55. № 1. P. 67–76.
6. *Whitfield C.W., Behura S.K., Berlocher S.H. et al.* Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera* // Science. 2006. V. 314. P. 642–645.
7. *Meixner M.D., Costa C., Kryger P. et al.* Conserving diversity and vitality for honey bee breeding // J. Apicultural Research. 2010. V. 49. № 1. P. 85–92.
8. *Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Островерхова Н.В. и др.* Медоносная пчела и пчеловодство в Томской области: прошлое, настоящее и будущее // Вестник Томского гос. ун-та. Биология. 2009. № 4 (8). С. 15–27.
9. *De la Rúa P., Jaffé R., Dall'olio R. et al.* Biodiversity, conservation and current threats to European honey bees // Apidologie. 2009. V. 40. № 3. P. 263–284.
10. *Cornuet J.M., Garnery L., Solignac M.* Putative origin and function of the intergenic region between COI and COII of *Apis mellifera* L. mitochondrial DNA // Genetics. 1991. V. 128. № 2. P. 393–403.
11. *Rortais A., Arnold G., Alburaki M. et al.* Review of the DraI COI-COII test for the conservation of the black honey bee (*Apis mellifera mellifera*) // Conserv. Genetics Resources. 2011. V. 3. P. 383–391.
12. *Evans J.D., Chen Y.P., Cornman R.S. et al.* Standard methodologies for molecular research in *Apis mellifera* // COLOSS BEEBOOK / Eds Dietemann V., Ellis J.D., Neumann P., Volume I: standard methods for *Apis mellifera* research // J. Apicultural Research. 2013. V. 52. № 4. P. 1–53.
13. *Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н. и др.* Популяционно-генетическая структура медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) в районе д. Леботер Чаинского района Томской области // Вестник Томского гос. ун-та. Биология. 2013. № 1 (21). С. 161–172.
14. *Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В., Поскряков А.В. и др.* Использование метода ПЦР для контроля чистопородности пчелосемей *Apis mellifera mellifera* L. в условиях Южного Урала // Генетика. 1998. Т. 34. № 11. С. 1574–1577.
15. *Николенко А.Г., Поскряков А.В.* Полиморфизм локуса *COI-COII* митохондриальной ДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* L. на Южном Урале // Генетика. 2002. Т. 38. № 4. С. 458–462.
16. *Ильясов Р.А., Петухов А.В., Поскряков А.В., Николенко А.Г.* Локальные популяции *Apis mellifera mellifera* L. на Урале // Генетика. 2007. Т. 43. № 6. С. 855–858.
17. *Саттаров В.Н.* Породный состав пчел горно-лесной зоны Башкортостана // Пчеловодство. 2009. № 7. С. 20–21.
18. *Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Филатов В.С., Николенко А.Г.* Характеристика популяции пчел юго-запада Свердловской области // Пчеловодство. 2008. № 5. С. 18.
19. *Брандорф А.З., Ивойлова М.М., Ильясов Р.А. и др.* Популяционно-генетическая дифференциация медоносных пчел Кировской области // Пчеловодство. 2012. № 7. С. 14–16.
20. *Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Колбина Л.М., Николенко А.Г.* Сохранение *Apis mellifera mellifera* L. в Удмуртской Республике // Пчеловодство. 2007. № 6. С. 13–14.
21. *Кривцов Н.И., Горячева И.И.* Генетический анализ внутривидовой структуры пчелы медоносной // Пчеловодство. 2009. № 10. С. 8–9.
22. *Непейвода С.Н., Колбина Л.М., Воробьева С.Л. и др.* Анализ генетической дифференциации популяций *Apis mellifera* в Удмуртии // Пчеловодство. 2011. № 10. С. 12–13.
23. *Кривцов Н.И., Бородачев А.В., Лебедев В.И. и др.* Биологические, морфологические и генетические особенности пчел разных видов // Пчеловодство. 2012. № 1. С. 14–17.

Genetic Diversity of the Locus COI-COII of Mitochondrial DNA in Honeybee Populations (*Apis mellifera* L.) from the Tomsk Region

N. V. Ostroverkhova, O. L. Konusova, A. N. Kucher, T. N. Kireeva, A. A. Vorotov, and E. A. Belikh

Department of Invertebrate Zoology, National Research Tomsk State University, Tomsk, 634050 Russia
e-mail: nvostrov@mail.ru

An assessment of the genetic diversity of the COI-COII mtDNA locus in honeybee populations from the Tomsk region was conducted. Three variants of the COI-COII mtDNA locus were registered: PQQ, PQQQ (typical for Middle Russian race), and Q (typical for southern breeds). It was established that 64% of bee colonies of the maternal line originate from the Middle Russian honeybee race, 28% of bee colonies originate from southern species, and 8% are mixed bee colonies. The southern parts of the region show a higher genetic diversity of honey bees as compared to northern regions, which are dominated by bee colonies (96%) and apiaries (73%) that are homogeneous for the genetic variant of locus COI-COII. The Tomsk region has no large areas with bee colonies maternally originating from the Middle Russian breed; only a few apiaries (both in the northern and southern areas) were revealed in which all bees originated from the Middle Russian breed.

English translation of paper is published in "Russian J. Genetics" (2015, vol. 51, no. 1), www.maik.ru.