

УДК 575.174:595.799

doi: 10.17223/19988591/47/8

**Н.В. Островерхова, С.А. Россейкина, О.Л. Конусова,  
А.Н. Кучер, Т.Н. Киреева**

*Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
г. Томск, Россия*

## **Разнообразие медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в Томской области по морфометрическим и молекулярно-генетическим маркерам**

*Представлены результаты исследования породного состава и генетического разнообразия медоносных пчел, обитающих на территории Томской области. Всего исследовано 337 пчелиных семей, полученных с 65 пасек области. На основании анализа изменчивости морфометрических признаков (показатели крыла, а именно кубитальный и гантельный индексы, дискоидальное смещение) и вариабельности локуса COI-COII мтДНК установлено, что большинство исследованных пчелиных семей представляют собой гибриды, имеющие происхождение от среднерусской породы по материнской линии (зарегистрированы варианты PQQ и PQQQ локуса COI-COII мтДНК). Выявлены пасеки в Чаинском, Тегульдетском, Молчановском, Зырянском и Томском районах, где сохранились и разводятся медоносные пчелы среднерусской породы. Согласно данным о вариабельности 9 микросателлитных локусов, ядерный геном гибридных пчел, имеющих происхождение, как от среднерусской, так и карпатской пород, более близок по спектру и частоте аллелей изученных ДНК-маркеров геному среднерусской породы. Обсуждаются факторы, определяющие генетическое разнообразие медоносных пчел.*

**Ключевые слова:** *Apis mellifera*; генетическое разнообразие; морфометрический метод; локус COI-COII мтДНК; микросателлитные локусы.

### **Введение**

Генетическое разнообразие, характерное для природных популяций медоносной пчелы, является одним из наиболее важных условий, необходимых для существования и устойчивого развития пчеловодства [1–3]. В настоящее время во всем мире наблюдается глобальная потеря разнообразия и численности пчел [4–9], поэтому одной из основных задач пчеловодства является сохранение аборигенных подвидов и популяций медоносной пчелы [3, 10–14]. Нативные подвиды наиболее приспособлены к местным природно-климатическим условиям, и их исчезновение означает потерю уникальных генетических комбинаций (и признаков), сформированных путем естественного отбора в течение длительного периода времени. Основными причинами потери генетического разнообразия медоносной пчелы *Apis*

*mellifera* L. рассматриваются замещение естественных популяций более миролюбивыми и продуктивными коммерческими (неместными) подвидами, распространение паразитов и патогенов медоносной пчелы, а также бессистемное использование пестицидов и ядохимикатов [10, 11, 13–19]. Мониторинг местного подвида (экотипа) медоносной пчелы и ограничение интродукции коммерческих пчелиных семей позволят снизить уровень межпородной гибридизации пчел и сохранить генетическое разнообразие и уникальный генофонд аборигенных пчел [11].

В Сибири первоначально культивировалась среднерусская пчела (темная лесная) *Apis mellifera mellifera* L., которая была завезена 230 лет назад, как наиболее адаптированная к суровым природно-климатическим условиям региона, таким как низкие температуры, продолжительная зима и короткий летний взлет. С конца XX в. отмечен массовый завоз пчел южного происхождения, преимущественно карпатской пчелы *Apis mellifera carpathica* [20], в результате чего на территории Сибири изменились представленность подвидов медоносной пчелы и их генотипический состав. Однако изученность медоносных пчел в Сибири недостаточна, а имеющиеся данные фрагментарны и не дают целостного представления о породном составе, текущем состоянии популяций и их генофонда, что является препятствием для более полного понимания путей развития популяций *A. mellifera*, реальной оценки процесса гибридизации пчел и его последствий, а также решения задач практического пчеловодства. Кроме того, в отличие от других регионов России и Европы, где отмечены такие негативные процессы в популяциях медоносной пчелы, как коллапс пчелиных семей [4–9, 21, 22], на территории Томской области зарегистрированы только единичные случаи массовой гибели семей, поэтому значительный интерес представляет оценка биологического разнообразия и адаптационного потенциала медоносной пчелы в условиях Сибири.

Систематические исследования медоносной пчелы на территории Сибири, включая Томскую область, были начаты в 2004 г. сотрудниками научно-практического центра «Апис» Томского государственного университета. Первоначально породный состав медоносных пчел на территории Томской области изучался с использованием классического морфологического метода, включающего исследование окраски тела, крыловых показателей и других морфометрических признаков [23]. Начиная с 2009 г. для исследования медоносных пчел стали применяться молекулярно-генетические методы с использованием ДНК-маркеров митохондриального (мтДНК) и ядерного геномов и выполнены пилотные исследования с целью первичной характеристики генетического разнообразия пчел, а также поиска высокополиморфных информативных ДНК-маркеров [24–30].

Однако следует указать, что классические морфометрические признаки и маркеры митохондриального и ядерного геномов, широко применяемые для исследования породного состава медоносных пчел, обладают разной

информативностью [31–35]. Так, анализ полиморфизма мтДНК позволяет определить происхождение пчелиных семей только по материнской линии; исследования изменчивости ядерного генома (в том числе и микросателлитных локусов) все еще не получили широкого распространения (мало информации по породной и территориальной специфичности генофондов), а морфометрические признаки, с учетом широкого распространения межпородной гибридизации, не всегда позволяют корректно определить породный состав медоносных пчел [31, 36, 37]. В связи с этим только использование комплекса разных методов исследования обеспечит четкую и полную идентификацию подвидов медоносной пчелы.

В данной статье представлены результаты 10-летнего комплексного исследования медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области, с использованием морфометрического и молекулярно-генетических методов (проведен анализ вариабельности локуса *COI-COII* мтДНК и микросателлитных локусов ядерного генома).

Цель работы – выявить биологическое разнообразие медоносной пчелы *Apis mellifera*, обитающей на территории Томской области, по морфометрическим и молекулярно-генетическим маркерам.

### Материалы и методики исследования

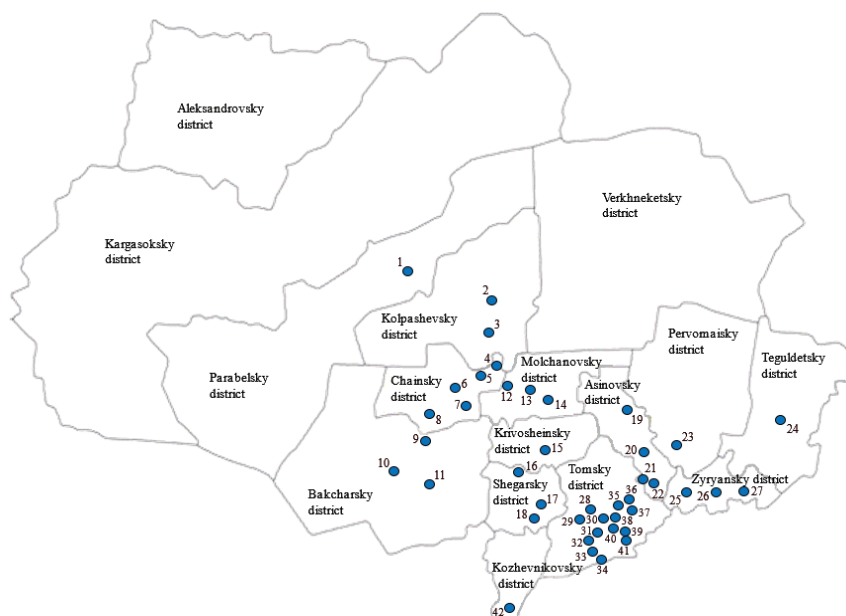
Материалом для исследования послужили образцы рабочих особей, полученных с 65 пасек 47 населенных пунктов 13 районов Томской области (рис. 1). Исследование медоносных пчел проведено с использованием морфометрического и молекулярно-генетических методов.

Для исследования породного состава медоносных пчел первоначально проведен анализ мтДНК (изучена вариабельность локуса *COI-COII*), чтобы определить происхождение пчелиной семьи по материнской линии. Анализировалось 3–5 особей от семьи. Затем для более полной характеристики пчелиной семьи и ее соответствия стандарту породы выполнен морфометрический анализ (20–30 особей от семьи). Всего исследовано 337 пчелиных семей.

Для оценки генетического разнообразия медоносных пчел проведен анализ изменчивости 9 микросателлитных локусов; изучено 5–15 особей от семьи. Анализ ядерного генома выполнен для медоносных пчел, полученных от 106 семей; всего 893 особи.

#### *Морфометрический метод*

Изучены основные пороодоопределяющие морфометрические показатели крыла: кубитальный и гантельный индексы, дискоидальное смещение [17, 26]. Полученные результаты морфометрического исследования сравнивали со стандартами значений, принятыми для рабочих особей разных пород пчел [10, 27, 28].



**Рис. 1.** Карта локализации исследованных пасек Томской области (здесь и на рис. 2, 3): 1 – с. Парабель; 2 – окр. г. Колпашево; 3 – д. Новоабрамкино; 4 – с. Чалково; 5 – с. Леботер; 6 – с. Подгорное; 7 – д. Стрельниково; 8 – с. Гореловка; 9 – с. Высокий Яр, д. Крыловка; 10 – с. Парбиг; 11 – с. Бакчар; 12 – д. Сарафановка; 13 – с. Могочино; 14 – с. Соколовка; 15 – с. Кривошеино; 16 – с. Монастырка; 17 – с. Каргала, с. Старая Шегарка; 18 – с. Баткат; 19 – д. Тихомировка; 20 – урочище Кужербак; 21 – с. Новиковка; 22 – д. Цветковка; 23 – д. Крутоложное; 24 – с. Тегульдэт; 25 – с. Дубровка; 26 – с. Зырянское; 27 – с. Окунево; 28 – д. Губино; 29 – с. Рыбалово, д. Кудринский участок; 30 – окр. г. Томска, д. Просекино, с. Коларово; 31 – п. Синий Утес; 32 – д. Кандинка; 33 – с. Курлек; 34 – с. Яр; 35 – д. Кусково; 36 – п. Заречный (Малиновское сельское поселение); 37 – с. Семилужки; 38 – д. Бодажково; 39 – с. Межениновка; 40 – д. Большое Протопопово; 41 – п. Заречный (Межениновское сельское поселение); 42 – д. Еловка. Пасеки, расположенные на расстоянии менее 20 км друг от друга, отмечены одной точкой.

*Примечание.* В северных районах Томской области (Александровском, Кargasокском, Верхнекетском) пчеловодство отсутствует из-за суровых природно-климатических условий

**[Fig. 1.** Map of sample locations in Tomsk region. Here and in Fig. 2 and 3, the numbers indicate the studied settlements: 1 - v. Parabel; 2 - vicinity of Kolpashevo; 3 - v. Novoabramkino; 4 - v. Chalkovo; 5 - v. Leboter; 6 - v. Podgornoe; 7 - v. Strelnikovo; 8 - v. Gorelovka; 9 - v. Vysoky Yar, v. Krylovka; 10 - v. Parbig; 11 - v. Bakchar; 12 - v. Saraphanovka; 13 - v. Mogochino; 14 - v. Sokolovka; 15 - v. Krivosheino; 16 - v. Monastyrka; 17 - v. Kargala, v. Staraya Shegarka; 18 - v. Batkat; 19 - v. Tichomirovka; 20 - v. Kuzherbak; 21 - v. Novikovka; 22 - v. Tsvetkovka; 23 - v. Krutolozhnoe; 24 - v. Teguldet; 25 - v. Dubrovka; 26 - v. Zyryanskoe; 27 - v. Okunevo; 28 - v. Gubino; 29 - v. Rybalovo, v. Kudrinsky uchastok; 30 - vicinity of Tomsk, v. Prosekiно, v. Kolarovo; 31 - p. Sinii Utes; 32 - v. Kandinka; 33 - v. Kurlek; 34 - v. Yar; 35 - v. Kusovo; 36 - v. Zarechnyi (Malinovskoe rural settlement); 37 - v. Semiluzhki; 38 - v. Bodazhkovо; 39 - v. Mezheninovka; 40 - v. Bol'shoe Protopopovo; 41 - v. Zarechnyi (Mezheninovskoe rural settlement); 42 - v. Elovka. Apiaries located at a distance less than 20 km from each other are marked as a single point.

*Note.* In the northern districts of Tomsk region (Aleksandrovsky, Kargasoksky, Verkhneketsky), there is no beekeeping due to harsh climatic conditions]

### *Молекулярно-генетические методы*

Для проведения молекулярно-генетического исследования использованы образцы пчел, которые хранились в 96%-ном спирте при температуре 4°C. Выделение ДНК из индивидуальных особей проведено модифицированным методом экстракции смесью гуанидинтиоцианат-фенол-хлороформ [18, 29].

Выделенная ДНК анализировалась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров, маркирующих межгенный локус *COI-COII* митохондриального генома. Использованы следующие последовательности праймеров: F-5'–CACATTTAGAAATTCATTA, R-5'–ATAAATATGAATCATGTGGA [29]. 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.

Изучен полиморфизм 9 микросателлитных локусов: *A008*, *Ap049*, *A043*, *AC117*, *Ap243*, *H110*, *A024*, *A113*, *SV185*. ПЦР проводили согласно описанной ранее методике с применением специфических праймеров [30]. Использовали один меченный флуоресцентной меткой праймер из каждой пары. Генотипирование выполнено на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики ТНИМЦ РАН, г. Томск) на генетическом анализаторе ABI Prism 3730 (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA) с применением стандартов длины молекул ДНК GeneScan500-ROX в условиях, рекомендуемых производителем. Размер фрагментов проанализирован с помощью программного обеспечения GeneMapper Software.

Для статистической обработки данных (расчет частот аллелей со стандартной ошибкой, показателей наблюдаемой (*Ho*) и ожидаемой (*He*) гетерозиготности) использованы стандартные методы, применяемые при изучении генетического разнообразия популяций [31, 32]. Оценка статистически значимых различий между наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготностью проведена с использованием *t*-критерия Стьюдента. Морфометрические данные представлены в виде среднего арифметического значения со стандартной ошибкой. Для оценки дифференциации различных подвидов медоносной пчелы и определения уровня генетической гетерогенности выборок пчел из популяций различной географической локализации использован метод главных координат (Principal Coordinates Analysis, PCoA), основанный на расчете генетических дистанций между выборками пчел. Расчеты проведены в программах Microsoft Office Excel 2010, StatSoft STATISTICA 8.0 for Windows, GENALEX 6 [32].

## **Результаты исследования и обсуждение**

### ***Распространение пород медоносной пчелы в Томской области***

Для выявления породного состава медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области, проведено комплексное исследование, включающее

морфометрический и молекулярно-генетический анализ (полиморфизм локуса *COI-COII* мтДНК) медоносных пчел.

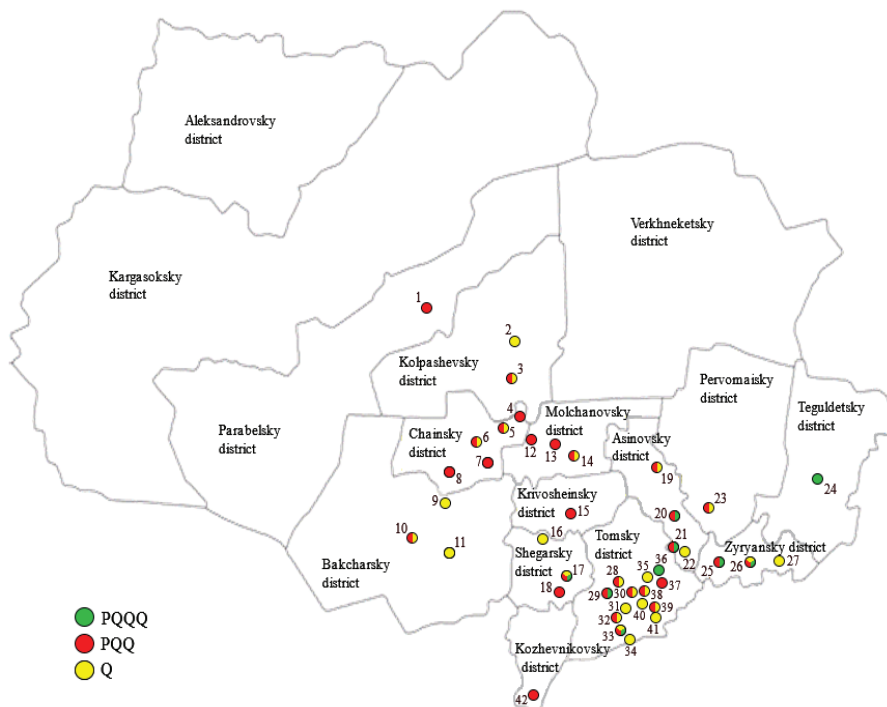
*Генетическое разнообразие медоносных пчел по митохондриальной ДНК*

Согласно данным анализа полиморфизма мтДНК (вариабельность локуса *COI-COII*) у медоносных пчел Томской области зарегистрировано три варианта локуса *COI-COII* мтДНК: PQQ, PQQQ (характерны для *A. m. mellifera*, эволюционная линия М) и Q (свойствен породам южного происхождения, эволюционная линия С). Из исследованных 337 пчелиных семей 62,9% семей имели происхождение по материнской линии от среднерусской породы, 29,1% семей – от пород южного происхождения и 8,0% составляли смешанные семьи, которые формируются пчеловодами путем объединения нескольких семей, в том числе семей разного происхождения, с целью их усиления (в этих семьях регистрировались особи с вариантами локуса *COI-COII*, характерными как для среднерусской, так и для «южных» пород медоносной пчелы) (рис. 2).

Для пчелиных семей, имеющих происхождение от среднерусской породы (всего идентифицировано 212 семей), характерна генетическая гетерогенность по локусу *COI-COII*: в 85,3% семей регистрировался вариант PQQ, у 10,7% – вариант PQQQ, а у 4,0% семей выявлены как особи с вариантом PQQ, так и пчелы с вариантом PQQQ (от общего числа семей среднерусской породы). Среди пчелиных семей смешанного породного состава (выявлено 27 семей) наиболее часто регистрировались семьи с вариантами PQQ и Q (85,2% семей от общего числа смешанных семей), реже – с вариантами PQQQ и Q (11,1%), а в одной семье (3,7%) в с. Курлек Томского района были выявлены пчелы со всеми зарегистрированными вариантами локуса *COI-COII* – PQQ, PQQQ и Q.

В различных районах Томской области пчелиные семьи отличались между собой по частоте регистрации вариантов локуса *COI-COII* мтДНК. На северных территориях области (Парабельский, Колпашевский, Чаинский, Бакчарский, Молчановский, Кривошеинский и Тегульдетский районы) выявлено 95,9% пчелиных семей (всего исследовано 194 пчелосемьи), однородных по варианту локуса мтДНК: 67,0% семей имели происхождение от среднерусской породы (зарегистрировано два варианта локуса мтДНК – PQQ и PQQQ); 28,9% семей происходили от пород южного происхождения. Остальные пчелосемьи (4,1%) имели смешанное происхождение (выявлены разные аллели локуса *COI-COII* в одной семье – PQQ и Q). Так, в Парабельском и Кривошеинском районах выявлены пчелиные семьи только с вариантом PQQ, в Тегульдетском – только с вариантом PQQQ. На пасеках Колпашевского, Чаинского, Молчановского и Бакчарского районов выявлены семьи разного происхождения (зарегистрированы варианты PQQ и Q). При этом на пасеках Чаинского и Молчановского районов преобладали пчелиные семьи, имеющие происхождение от среднерусской породы (86 и 95% соответственно), тогда как на пасеках Колпашевского и Бакчарского райо-

нов, наоборот, преобладали семьи южного происхождения (93 и 65% соответственно). В Бакcharском и Чаинском районах также выявлено несколько смешанных пчелиных семей, особи которых имели варианты PQQ и Q (рис. 2).



**Рис. 2.** Распространенность вариантов локуса *COI-COI* мтДНК (PQQ, PQQQ и Q) у медоносных пчел на территории Томской области  
 [Fig. 2. Distribution of the *COI-COI* mtDNA locus variants (PQQ, PQQQ, and Q) in honeybees in Tomsk region]

В южных районах области (Асиновском, Первомайском, Зырянском, Томском, Шегарском и Кожевниковском) однородные по вариантам локуса *COI-COI* мтДНК пчелиные семьи (всего изучено 143 семьи) составили 80,4%, тогда как смешанные семьи – 19,6%. Среди смешанных семей выявлено 6,3% семей, имеющих происхождение от среднерусской породы (у особей зарегистрированы варианты PQQ или PQQQ), и 13,3% семей разного породного происхождения (у особей зарегистрированы варианты PQQ/PQQQ или Q). Всего в южных районах выявлено 57,3% пчелиных семей, имеющих происхождение от среднерусской породы (зарегистрированы варианты PQQ или PQQQ), 29,4% – семьи южного происхождения, 13,3% – смешанные семьи, пчелы которых имели разное породное происхождение.

Пчелиные семьи, имеющие происхождение от среднерусской породы, были зарегистрированы на пасеках всех южных районов области. При этом

преобладали пчелы с вариантом PQQ (65,9% от общего числа семей среднерусской породы), реже встречались семьи с пчелами, имеющими вариант PQQQ (23,1%), и смешанные семьи с пчелами, имеющими варианты PQQ или PQQQ (11,0%). Например, в Кожевниковском районе во всех исследованных семьях у пчел выявлен только вариант PQQ; в Первомайском районе половина исследованных семей имела происхождение от среднерусской породы (зарегистрирован вариант PQQ) и половина семей – южного происхождения (выявлен вариант Q); в остальных районах – у пчел выявлены все варианты локуса *COI-COII* (PQQ, PQQQ и Q). Семьи смешанного состава были выявлены на пасеках Шегарского и Томского районов, причем зарегистрированы сочетания вариантов локуса мтДНК – PQQ и Q (67%), PQQQ и Q (33%).

Таким образом, на основе анализа полиморфизма локуса *COI-COII* мтДНК установлено различное происхождение медоносных пчел на пасеках Томской области, хотя и преобладали пчелиные семьи, имеющие происхождение от среднерусской породы. Тот факт, что на одной и той же территории обитают пчелы разных пород, позволяет предположить высокий уровень гибридизации. Поскольку анализ мтДНК позволяет установить происхождение медоносной пчелы (семьи) только по линии матки без оценки вклада «отцовских» генов, пчелы с пасек Томской области были изучены с использованием морфометрического анализа.

#### *Характеристика морфометрической изменчивости медоносных пчел*

Изучена изменчивость трех пороодоопределяющих морфометрических показателей (кубитального и гантельного индексов, дискоидального смещения) у медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области (табл. 1). Для всех изученных морфометрических показателей выявлен значительный уровень вариабельности. Так, для пчел, обитающих на пасеках Томской области, значения кубитального и гантельного индексов зарегистрированы в пределах 1,00–5,56 и 0,643–1,250 отн. ед. соответственно (среднее значение кубитального индекса изменялось в пределах – 1,45–3,41 отн. ед.; среднее значение гантельного индекса – 0,789–1,125 отн. ед.). Что касается качественного показателя «дискоидальное смещение», то у изученных пчел отмечены все три варианта признака (отрицательное, нейтральное и положительное).

При сравнении полученных данных значений экстерьерных признаков со стандартными показателями, принятыми для рабочих особей разных пород медоносной пчелы [10, 27, 28], установлено, что среди всех исследованных пчелиных семей 13,5% семей демонстрировали полное соответствие крыловых параметров стандарту среднерусской породы, 5,3% – стандарту карпатской породы, 2,2% – серой горной кавказской породы. Например, по всем исследованным крыловым показателям стандарту среднерусской породы соответствовали пчелиные семьи с пасек с. Чалково (Чаинский район) и с. Тегульдэт (Тегульдетский район), а также семья № 2 с пасеки с. Могочино

(Молчановский район) и семья № 2 с пасеки с. Дубровка (Зырянский район); стандарту карпатской породы – пчелиная семья с пасеки в д. Цветковка (Асиновский район) и семья № 1 с пасеки в окр. г. Томска (см. табл. 1).

Около 56% исследованных семей соответствовали стандарту среднерусских пчел по большинству морфометрических показателей, но по отдельным признакам (преимущественно показателю «дискоидальное смещение») регистрировалось отклонение от принятых для этой породы значений. Так, отклонение только одного показателя «дискоидальное смещение» от стандарта среднерусской породы показано для семьи № 1 с пасеки с. Дубровка (Зырянский район), для двух семей с пасеки с. Заречный (Томский район), для семьи с пасеки с. Еловка (Кожевниковский район), что может указывать на следы гибридизации с породами южного происхождения. Отклонение нескольких морфометрических показателей у особой пчелосемьи от стандарта среднерусской породы, например кубитального индекса и дискоидального смещения, позволяет нам рассматривать эти семьи как гибриды на основе среднерусской породы (например, пчелосемьи с пасек с. Гореловка и д. Стрельниково Чаинского района, семья с пасеки с. Рыбалово Томского района и др.).

Наблюдалась также противоположная картина, когда пчелиные семьи по исследованным параметрам крыла более соответствовали стандартам пород южного происхождения, но также имели отдельные признаки, характерные для среднерусской породы (гибриды на основе «южных» пород пчел). Так, выявлено 23,6% семей (от общего числа исследованных), пчелы которых имели большинство морфометрических показателей, характерных для карпатской породы, например, семьи № 1 и № 3 с пасеки с. Подгорное (Чаинский район), семья с пасеки п. Синий Утес (Томский район).

Наконец, при использовании сравнительного анализа изменчивости морфометрических признаков и вариабельности локуса *COI-COII* мтДНК были идентифицированы пчелиные семьи (так называемые «семьи-перевертыши»), которые по морфометрическим показателям соответствовали среднерусской породе, тогда как мтДНК (выявлен вариант Q) указывала на происхождение семьи по материнской линии от породы южного происхождения (например, семья № 2 с пасеки п. Курлек Томского района) или, наоборот, по морфометрическим показателям семья более соответствовала «южной» породе, тогда как по мтДНК (вариант PQQQ) – среднерусской (например, семья № 1 с пасеки п. Курлек).

Таким образом, исследование породного состава медоносных пчел Томской области с использованием морфометрического и мтДНК-анализа показало, что большинство пчелиных семей представлено гибридами между местным подвидом (среднерусской пчелой *A. m. mellifera*) и завезенными коммерческими линиями южного происхождения (преимущественно карпатской пчелой *A. m. carpatica*), что характерно для многих регионов России и Европы. Так, в Европе выявлен высокий уровень интрогрессии между

Таблица 1 [Table 1]

**Значения морфометрических показателей у рабочих особей некоторых пчелиных семей с насек Томской области**  
 [Values of morphometric indicators in workers of some bee colonies from apiaries of Tomsk region]

Географическая локализация: район, населенный пункт [Geographical locality: district, place]	Географические координаты точек сбора материала [Geo-coordinates of the sampling sites]		№ семьи [Colony, №]	N	Вариант локуса COI-COI мтДНК [Variant of the COI-COI mtDNA locus]	Кубитальный индекс, относительные единицы [Cubital Index, relative units]		Гангельный индекс, относительные единицы [Hantel Index, relative units]		Дискоидальное смещение [Discoidal shift], %		
	Широта, с.ш. [Latitude, N]	Долгота, в.д. [Longitude, E]				Lim: min-max	M±m	Lim: min-max	M±m			
<b>СЕВЕРНЫЕ РАЙОНЫ [Northern districts]</b>												
<b>Парабельский [Parabelsky]</b>												
с. Парабель [v. Parabel]	58°41'52"	81°29'57"	1	38	PQQ	1,31–2,31	1,83±0,05	0,714–1,00	0,870±0,020	77,78	19,44	2,78
<b>Чайковский [Chainsky]</b>												
с. Подгорное [v. Podgorное]		82°39'00"	1	35	Q	1,68–3,21	2,56±0,07	0,879–1,122	0,998±0,010	17,14	51,43	31,42
			2	35	Q	1,35–2,87	2,19±0,10	0,797–1,100	0,910±0,010	34,30	45,70	20,00
			3	35	Q	1,72–3,01	2,53±0,06	0,852–1,178	0,977±0,011	51,40	14,30	34,30
			4	30	PQQ	1,50–2,00	1,75±0,05	0,700–1,000	0,858±0,013	Нет данных [No data]		
с. Чалково [v. Chal'kovo]		83°21'73"	1	30	PQQ	1,30–2,00	1,75±0,04	0,720–0,871	0,811±0,010	100,00	0,00	0,00
			2	30	PQQ	1,32–2,00	1,57±0,04	0,712–0,851	0,789±0,010	100,00	0,00	0,00
			3	30	PQQ	1,17–1,81	1,51±0,03	0,693–0,923	0,808±0,010	100,00	0,00	0,00
			4	30	PQQ	1,32–1,82	1,53±0,03	0,722–0,903	0,802±0,010	97,00	3,00	0,00
с. Леботер [v. Leboter]		83°11'50"	Σ	50	PQQ/Q	1,14–2,89	1,91±0,05	0,643–1,030	0,864±0,012	64,52	19,36	16,13
			1	30	PQQ	1,60–2,36	2,00±0,06	0,686–0,938	0,883±0,013	56,00	44,00	0,00
д. Стрельниково [v. Strel'nikovo]	57°52'50"	82°26'48"	1	30	PQQ	1,33–2,65	1,98±0,06	0,708–0,969	0,40±0,012	66,7	33,3	0,00
с. Гореловка [v. Gorelovka]	57°42'45"	82°12'00"	1	30	PQQ	1,26–2,56	1,92±0,05	0,806–1,000	0,879±0,010	70,00	30,0	0,00
с. Могочино [v. Mogochino]	57°42'42"	83°34'30"	2	43	PQQ	1,36–2,00	1,73±0,02	0,693–0,923	0,821±0,006	100,0	0,00	0,00
			3	30	PQQ	1,57–2,82	1,88±0,04	0,770–1,000	0,855±0,015	92,00	8,00	0,00
			Σ	55	PQQ	1,00–2,67	1,79±0,07	0,707–1,000	0,884±0,018	27,27	18,18	54,55
с. Кривошеино [v. Krivosheino]	57°20'63"	83°55'80"	Σ	55	PQQ	1,00–2,67	1,79±0,07	0,707–1,000	0,884±0,018	27,27	18,18	54,55
<b>Тегульдетский [Teguldetsky]</b>												
с. Тегульдэт [v. Teguldet]	57°18'00"	88°10'00"	1	30	POQQ	1,44–2,10	1,75±0,03	0,692–1,000	0,854±0,011	100,0	0,00	0,00
			2	30	POQQ	1,28–1,90	1,50±0,05	0,707–0,923	0,823±0,012	93,30	6,70	0,00
			3	30	POQQ	1,26–2,22	1,74±0,04	0,701–0,914	0,825±0,010	100,0	0,00	0,00

Продолжение табл. 1 [Table 1 (cont.)]

Географическая локализация: район, населенный пункт [Geographical locality: district, place]	Географические координаты точек сбора материала [Geo-coordinates of the sampling sites]		№ семьи [Colony №]	N	Вариант локуса COI-COI мтДНК [Variant of the COI-COI mtDNA locus]	Кубитальный индекс, относительные единицы [Cubital index, relative units]		Гангелный индекс, относительные единицы [Hantel index, relative units]		Дискоидальное смещение, % [Discoidal shift, %]		
	широта [Latitude, N]	долгота, в.д. [Longitude, E]				Lim: min-max	M±m	Lim: min-max	M±m			
<b>ЮЖНЫЕ РАЙОНЫ [Southern districts]</b>												
<b>Асиновский [Asinovskiy]</b>												
д. Цветковка [v. Tsvetkovka]	56°48'21"	85°50'10"	1	30	Q	1,68–3,64	2,51±0,06	0,867–1,210	1,050±0,010	4,00	20,00	76,00
д. Тихомировка [v. Tikhomirovka]	56°55'50"	86°04'35"	1	30	PQQ/Q	1,41–2,82	1,90±0,06	0,656–1,176	0,880±0,018	54,60	35,50	9,90
ур. Кузеребак [v. Kuzerebak]	57°00'00"	86°09'00"	Σ	50	PQQ/PQQQ	1,45–2,91	2,20±0,05	0,733–1,000	0,858±0,012	66,00	32,00	2,00
<b>Первомайский [Pervomayskiy]</b>												
д. Крутоложное [v. Krutozhnoe]	57°04'38"	86°14'20"	1	30	PQQ	1,50–2,72	1,78±0,04	0,800–1,053	0,911±0,031	16,70	76,70	6,60
<b>Зырянский [Zyryanskiy]</b>												
с. Зырянское [v. Zyryanskoe]	56°49'50"	86°37'38"	1	30	PQQ	1,28–2,80	1,73±0,06	0,707–1,000	0,834±0,016	66,7	33,3	0,00
			2	30	PQQ/Q	1,43–2,35	1,86±0,04	0,733–1,057	0,885±0,011	10,00	46,70	43,30
с. Дубровка [v. Dubrovka]	56°43'45"	86°26'33"	1	30	PQQ	1,43–2,47	1,69±0,05	0,672–0,933	0,849±0,011	73,33	26,67	0,00
			2	30	PQQQ	1,36–2,22	1,68±0,05	0,733–1,000	0,842±0,010	93,30	6,70	0,00
<b>Томский [Tomskiy]</b>												
п. Заречный [v. Zarechnyy]	56°39'03"	85°18'57"	1	30	PQQQ	1,39–2,33	1,65±0,04	0,712–0,932	0,825±0,009	73,50	26,50	0,00
			2	30	PQQQ	1,19–2,05	1,64±0,06	0,679–1,000	0,865±0,012	73,10	26,90	0,00
с. Семилужки [v. Semiluzhki]	56°37'05"	85°21'20"	1	26	PQQ	1,35–2,06	1,64±0,05	0,696–1,000	0,817±0,017	90,00	10,00	0,00
			1	28	PQQQ	1,74–3,29	2,14±0,07	0,857–1,053	0,937±0,100	32,14	57,14	10,72
п. Курлек [v. Kurlek]	56°13'02"	84°51'43"	2	29	Q	1,30–2,29	1,66±0,04	0,735–0,965	0,878±0,011	72,40	27,60	0,00
			1	30	PQQ	1,25–2,11	1,70±0,03	0,667–0,917	0,804±0,011	79,40	20,60	0,00
с. Коларово [v. Kolarovo]	56°20'11"	84°56'35"	2	30	PQQ	1,45–2,80	1,78±0,06	0,754–1,000	0,846±0,013	58,30	33,30	8,40
			1	30	Q	1,83–2,87	2,37±0,06	0,815–1,053	0,931±0,012	6,70	76,70	16,60
п. Синий Утес [v. Sinii Utes]	56°20'07"	84°55'11"	1	30	PQQ	1,13–3,00	1,89±0,05	0,667–1,074	0,864±0,012	63,04	21,74	15,22
			1	30	PQQ	1,40–2,50	1,79±0,05	0,691–0,905	0,790±0,009	94,30	5,70	0,00
с. Рыбалово [v. Rybalovo]	56°30'14"	85°14'70"	1	30	PQQ	1,15–2,53	1,77±0,07	0,714–0,917	0,819±0,012	29,17	20,83	50,00
			1	24	PQQ	1,15–2,53	1,77±0,07	0,714–0,917	0,819±0,012	29,17	20,83	50,00

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

Географическая локализация: район, населенный пункт [Geographical locality: district, place]	Географические координаты точек сбора материала [Geo-coordinates of the sampling sites]		№ семьи [Colony, №]	Вариант локуса <i>COL-COI</i> мтДНК [Variant of the <i>COL-COI</i> mtDNA locus]	Кубитальный индекс, относительные единицы [Cubital index, relative units]		Гангельный индекс, относительные единицы [Hantel index, relative units]		Дискоидальное смещение, % [Discoidal shift, %]		
	Широта, с. ш. [Latitude, N]	Долгота, в. д. [Longitude, E]			Lim: min-max	M±m	Lim: min-max	M±m	–	0	+
с. Яр [v. Yar]	56°15'56"	84°93'82"	1	Q	1,76–4,09	2,58±0,28	0,800–1,000	0,924±0,025	30,00	10,00	60,00
окр. г. Томска [vicinity of Tomsk]	56°29'51"	84°58'27"	1	Q	1,95–3,73	2,53±0,07	0,964–1,250	1,069±0,021	6,67	10,00	83,33
			2	Q	1,64–2,69	2,12±0,05	0,722–0,946	0,895±0,011	90,00	6,70	3,30
д. Кудринский участок [v. Kudrinsky uchastok]	56°32'80"	84°40'16"	1	PQQ/ PQQQ	1,13–2,06	1,71±0,05	0,630–0,945	0,801±0,013	76,00	24,00	0,00
			1	Q	1,33–3,25	1,98±0,07	0,750–1,100	0,911±0,120	26,67	50,00	23,33
д. Еловка [v. Elovka]	55°57'00"	83°43'60"	1	PQQ	1,36–2,67	1,67±0,05	0,714–0,964	0,845±0,090	63,30	36,60	0,00
<b>Кожвинниковский [Kozhevnikovskiy]</b>											
<b>СТАНДАРТЫ ПОРОД [Breed standards]</b>											
<i>Apis mellifera mellifera</i> *				PQQ/PQQQ	1,30–2,10	1,70	0,600–0,923	–	–	–	–
<i>Apis mellifera mellifera</i> **				PQQ/PQQQ	1,30–1,90	1,5–1,7	0,600–0,923	–	91– 95,100	5–10	0,00
<i>Apis mellifera scarpatica</i> *			Q		2,30–3,00	2,65	–	≥ 0,925	0–5	0–20	80– 100
<i>Apis mellifera caucasica</i> *			Q		1,70–2,30	2,00	–	He установлен [Not installed]	60–70	20– 30	3–5

Примечание. N – число исследованных образцов; Lim – пределы значения признака; M±m – среднее значение признака (±стандартная ошибка); Σ – суммарная проба с пасеки (минимум 10 пчелиных семей). \* – Европейский стандарт подвидов пчел, основанный на значениях кубитального и гангельного индексов [28]; \*\* – стандарты пород пчел, принятые в России.

[Note. N - Number of samples examined; Lim - Limits of the value of the sign; M±m - Mean value of the sign ± the standard error of the mean; Σ - Total sample from the apiary (minimum 10 bee colonies). \* - European breed standard based on values of cubital and hantel indexes [28]; \*\* - Russian breed standard].

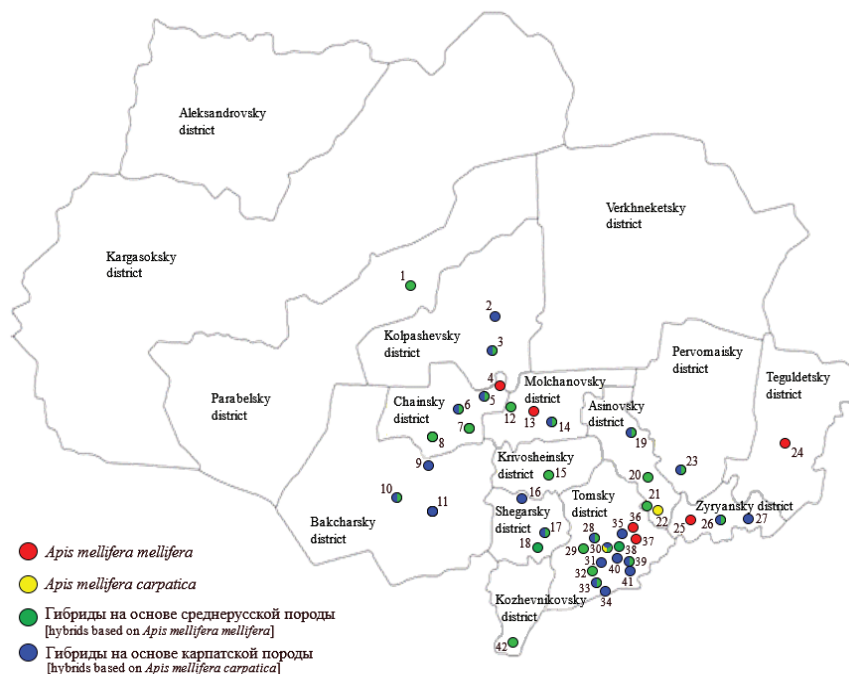
подвидами разных эволюционных линий – М (*A. m. mellifera* и *A. m. iberica*) и С (*A. m. ligustica* и *A. m. carnica*) и произошла замена аборигенных подвидов медоносной пчелы завезенными [3, 10–12]. На территории России процессы интродукции подвидов из южных областей страны в более северные и восточные регионы (Урал, Сибирь, Алтай), где традиционно разводилась среднерусская пчела, также приобрели массовый характер в последние десятилетия [29, 40, 43].

Существование на одной территории (часто на одной пасеке) разных пород медоносной пчелы повышает уровень гибридизации медоносных пчел и создает неблагоприятный фон для сохранения генофонда среднерусской пчелы *A. m. mellifera*, первоначально культивируемой на территории Томской области. В отличие от многих стран Европы, где темная лесная пчела признана исчезающим подвидом и популяции *A. m. mellifera* являются уникальными [3, 10–14], на территории Томской области сохранились локальные популяции (пасеки) пчел, близких по комплексу признаков к среднерусской породе (рис. 3). Так, пчелиные семьи среднерусской породы выявлены на пасеках с. Могочино (Молчановский район), с. Чалково (Чаинский район), с. Тегульдет (Тегульдетский район), д. Дубровка (Зырянский район), с. Семилужки и п. Заречный (Томский район). Исследованные пасеки в с. Могочино, с. Тегульдет и с. Чалково расположены на относительно изолированных территориях северных районов области (Молчановский, Тегульдетский и Чаинский районы соответственно) и рассматриваются как потенциально «чистые», хотя отмечен единичный завоз пчел южного происхождения в эти районы. Пасеки в д. Дубровка, с. Семилужки и п. Заречный расположены в южных районах области (Зырянский и Томский), характеризующихся хорошо развитым пчеловодством и близким расположением пасек друг к другу. Вместе с тем пасека в п. Заречный (Томский район) существует более 50 лет и специализируется на разведении среднерусских пчел (по словам пчеловода, на пасеку в течение длительного времени не завозились новые семьи и постоянно проводится контроль породности семей).

В условиях повсеместной гибридизации пчел необходимо совершенствовать генетические методы контроля чистоты пчелосемей. Эти исследования требуют молекулярных подходов как наиболее информативных и надежных. Так, исследования, контролирующие интрогрессию между эндемической *A. m. mellifera* и интродуцированными подвидами С-линии на территории Европы и России, проводились с использованием локусов мтДНК и микросателлитных локусов, ПЦР-ПДРФ и SNP маркеров [10–13, 32, 34, 35, 40, 44]. На основании широкомасштабных исследований, выполненных на территории Европы (поиск информативных маркеров был проведен из числа более 1 000 SNP с применением 5 различных аналитических методов), было разработано 5 панелей, состоящих из 48, 96, 144, 192 и 284 маркеров, информативных для определения предкового происхождения особей, которые авторы предлагают использовать для выявления и оценки примеси С-линий

(в частности, *A. m. ligustica* и *A. m. carnica*, а также сочетание этих подвидов) в М-линию *A. m. mellifera* [13, 32]. Однако, для оценки примеси других подвидов линии С и/или их сочетаний (а также более сложных комбинаций) в М-линию требуется тестирование разработанных панелей. Наконец, уменьшенные варианты панелей (48 или 96 маркеров) не подходят для стандартного генетического анализа популяций, в том числе для определения аллельного разнообразия или для оценки изоляции расстоянием, генетического дрейфа или эффекта «горлышка бутылки» [13].

В настоящем исследовании для оценки характеристики генетического разнообразия медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области, а также оценки процесса гибридизации пчел проведен анализ варибельности микросателлитных локусов у медоносных пчел.



**Рис. 3.** Распределение пород и гибридов медоносной пчелы на пасеках Томской области согласно результатам анализа мтДНК и морфометрических показателей  
 [Fig. 3. Distribution of honeybee subspecies and hybrids at apiaries of Tomsk region according to the analysis of mtDNA and morphometric parameters]

### **Разнообразие медоносных пчел Томской области по микросателлитным локусам**

Для характеристики генетического разнообразия медоносных пчел, обитающих на территории Томской области, и выявления высокополиморфных

ДНК-маркеров была изучена изменчивость 9 микросателлитных локусов (*A008*, *AC117*, *A043*, *A113*, *A024*, *Ap243*, *Ap049*, *H110*, *SV185*) (табл. 2). Были сформированы четыре выборки, включающие образцы чистопородных и гибридных пчел:

1) среднерусские пчелы, полученные от семей *A. m. mellifera* и имеющие варианты PQQ или PQQQ локуса *COI-COII* мтДНК (М-линия); регистрировалось соответствие стандарту породы по морфометрическим признакам;

2) карпатские пчелы, полученные от семей *A. m. carpathica*, завезенных на территорию области из пчелопитомника, и имеющие вариант Q локуса *COI-COII* мтДНК (С-линия); регистрировалось соответствие стандарту породы по морфометрическим признакам;

3) пчелы, полученные от гибридных семей на основе среднерусской породы (выявлены варианты PQQ или PQQQ локуса *COI-COII* мтДНК, однако наблюдается несоответствие морфометрических показателей стандарту среднерусской породы);

4) пчелы, полученные от гибридных семей на основе карпатской породы (выявлен вариант Q локуса *COI-COII* мтДНК, однако наблюдается несоответствие морфометрических показателей стандарту карпатской породы).

Все исследованные локусы были полиморфными: минимальное число аллелей зарегистрировано для локуса *AC117* (4 аллеля); максимальное – для локуса *A113* (15 аллелей); среднее число аллелей на локус – 8. Для пчел среднерусской породы минимальное число аллелей выявлено для локуса *H110* (3 аллеля), максимальное – для локуса *A113* (11 аллелей); для пчел карпатской породы минимальное число аллелей выявлено для локуса *Ap243* (1 аллель); максимальное – для локуса *A008* (9 аллелей); среднее число аллелей на локус для обеих пород составило 5. Кроме того, изученные локусы отличались по вариабельности спектра аллелей у пчел двух выборок (среднерусская и карпатская породы). Например, по локусу *Ap243* у пчел карпатской породы зарегистрирован только один аллель «255» (все исследованные особи были гомозиготными), тогда как у пчел среднерусской породы выявлено 8 аллелей.

В результате сравнительного анализа вариабельности изученных микросателлитных локусов у чистопородных пчел (среднерусских и карпатских пчел) для большинства локусов выявлены различия по спектру и/или частоте регистрации аллелей между подвидами. Кроме того, для некоторых локусов (*A008*, *A043*, *A113*, *A024* и *Ap049*) зарегистрированы преобладающие аллели (встречались с частотой более 0,40), спектр которых отличался у пчел разных эволюционных линий (М и С) (см. табл. 2). Так, для локуса *A008* преобладающим аллелем у *A. m. mellifera* (линия М) был аллель «162» (частота регистрации 0,87), тогда как у *A. m. carpathica* (линия С) – аллель «174» (частота регистрации 0,46); для локуса *A113* преобладающий аллель у *A. m. carpathica* – «212» (частота регистрации 0,91), у *A. m. mellifera* – аллель «218» (частота регистрации 0,57).

Таблица 2 [Table 2]

Частота регистрации ( $\pm$ ошибка) преобладающих аллелей  
 9 микросателлитных локусов у пород медоносной пчелы (*Apis mellifera mellifera* и *Apis mellifera carpathica*) и гибридов разного происхождения  
 [The frequency of registration ( $\pm$  error) of the predominant alleles  
 of 9 microsatellite loci in honeybee breeds (*Apis mellifera mellifera*  
 and *Apis mellifera carpathica*) and hybrids of different origin]

Размер аллеля, пн [Allele size, bp]	<i>Apis mellifera mellifera</i> [PQQ/PQQQ of the <i>COI-COII</i> locus, M-lineage]	<i>Apis mellifera carpathica</i> [Q of the <i>COI-COII</i> locus, C-lineage]	Гибриды на основе [Hybrids based on]	
			<i>Apis mellifera mellifera</i> [PQQ/PQQQ of the <i>COI-COII</i> locus]	<i>Apis mellifera carpathica</i> [Q of the <i>COI-COII</i> locus]
Локус <i>A008</i> [Locus <i>A008</i> ]				
162	<b>0,868<math>\pm</math>0,014</b>	0,026 $\pm$ 0,013	<b>0,721<math>\pm</math>0,018</b>	<b>0,687<math>\pm</math>0,021</b>
174	0,023 $\pm$ 0,006	<b>0,455<math>\pm</math>0,040</b>	0,083 $\pm$ 0,011	0,124 $\pm$ 0,015
Ho	0,226 $\pm$ 0,024	0,500 $\pm$ 0,057***	0,409 $\pm$ 0,028	0,463 $\pm$ 0,032
He	0,243 $\pm$ 0,023	0,729 $\pm$ 0,028	0,459 $\pm$ 0,023	0,505 $\pm$ 0,026
N	306	78	316	246
Локус <i>AC117</i> [Locus <i>AC117</i> ]				
181	0,292 $\pm$ 0,019	0,031 $\pm$ 0,017	<b>0,443<math>\pm</math>0,024</b>	0,278 $\pm$ 0,020
185	<b>0,517<math>\pm</math>0,020</b>	<b>0,959<math>\pm</math>0,020</b>	0,343 $\pm$ 0,023	<b>0,534<math>\pm</math>0,022</b>
Ho	0,389 $\pm$ 0,028***	0,082 $\pm$ 0,039	0,446 $\pm$ 0,034***	0,391 $\pm$ 0,031***
He	0,629 $\pm$ 0,014	0,079 $\pm$ 0,037	0,662 $\pm$ 0,012	0,609 $\pm$ 0,015
N	301	49	220	248
Локус <i>A043</i> [Locus <i>A043</i> ]				
128	<b>0,831<math>\pm</math>0,015</b>	0,076 $\pm$ 0,023	<b>0,844<math>\pm</math>0,017</b>	<b>0,637<math>\pm</math>0,024</b>
140	0,156 $\pm$ 0,015	<b>0,629<math>\pm</math>0,042</b>	0,138 $\pm$ 0,016	0,292 $\pm$ 0,023
Ho	0,279 $\pm$ 0,026	0,242 $\pm$ 0,053***	0,249 $\pm$ 0,029	0,451 $\pm$ 0,035
He	0,285 $\pm$ 0,021	0,553 $\pm$ 0,042	0,269 $\pm$ 0,025	0,507 $\pm$ 0,020
N	305	66	221	204
Локус <i>A113</i> [Locus <i>A113</i> ]				
212	0,107 $\pm$ 0,013	<b>0,906<math>\pm</math>0,023</b>	0,171 $\pm$ 0,018	0,203 $\pm$ 0,019
218	<b>0,571<math>\pm</math>0,021</b>	0,013 $\pm$ 0,009	<b>0,571<math>\pm</math>0,024</b>	<b>0,545<math>\pm</math>0,023</b>
Ho	0,521 $\pm$ 0,029*	0,075 $\pm$ 0,029*	0,567 $\pm$ 0,034	0,572 $\pm$ 0,032
He	0,596 $\pm$ 0,017	0,177 $\pm$ 0,041	0,626 $\pm$ 0,023	0,645 $\pm$ 0,020
N	290	80	211	236
Локус <i>A024</i> [Locus <i>A024</i> ]				
92	<b>0,660<math>\pm</math>0,019</b>	0,066 $\pm$ 0,021	<b>0,500<math>\pm</math>0,025</b>	<b>0,472<math>\pm</math>0,024</b>
100	0,186 $\pm$ 0,016	<b>0,427<math>\pm</math>0,042</b>	0,194 $\pm$ 0,020	<b>0,421<math>\pm</math>0,024</b>
102	0,007 $\pm$ 0,003	<b>0,463<math>\pm</math>0,043</b>	0,043 $\pm$ 0,010	0,082 $\pm$ 0,013
Ho	0,505 $\pm$ 0,029	0,529 $\pm$ 0,061	0,480 $\pm$ 0,036***	0,636 $\pm$ 0,033
He	0,513 $\pm$ 0,020	0,598 $\pm$ 0,022	0,687 $\pm$ 0,019	0,593 $\pm$ 0,012
N	307	68	196	214
Локус <i>Ap243</i> [Locus <i>Ap243</i> ]				
252	0,014 $\pm$ 0,006	0	0,184 $\pm$ 0,023	0,395 $\pm$ 0,027
255	0,427 $\pm$ 0,024	<b>1,000<math>\pm</math>0,000</b>	0,367 $\pm$ 0,029	0,214 $\pm$ 0,023
263	0,330 $\pm$ 0,023	0	0,306 $\pm$ 0,028	0,157 $\pm$ 0,020
Ho	0,439 $\pm$ 0,034***	0,000 $\pm$ 0,000	0,252 $\pm$ 0,037***	0,331 $\pm$ 0,037***
He	0,694 $\pm$ 0,014	–	0,722 $\pm$ 0,012	0,738 $\pm$ 0,013
N	212	60	139	166
Локус <i>Ap049</i> [Locus <i>Ap049</i> ]				
127	<b>0,673<math>\pm</math>0,019</b>	0,208 $\pm$ 0,039	<b>0,645<math>\pm</math>0,023</b>	<b>0,609<math>\pm</math>0,023</b>
130	0,175 $\pm$ 0,015	<b>0,679<math>\pm</math>0,002</b>	0,240 $\pm$ 0,020	0,144 $\pm$ 0,017
Ho	0,447 $\pm$ 0,028	0,585 $\pm$ 0,068	0,353 $\pm$ 0,032***	0,418 $\pm$ 0,033***
He	0,501 $\pm$ 0,020	0,490 $\pm$ 0,048	0,518 $\pm$ 0,021	0,556 $\pm$ 0,020
N	309	53	221	225

Окончание табл. 2 [Table 2 (end)]

Размер аллеля, пн [Allele size, bp]	<i>Apis mellifera mellifera</i> [PQQ/PQQQ of the <i>COI-COII</i> locus, M-lineage]	<i>Apis mellifera carpathica</i> [Q of the <i>COI-COII</i> locus, C-lineage]	Гибриды на основе [Hybrids based on]	
			<i>Apis mellifera mellifera</i> [PQQ/PQQQ of the <i>COI-COII</i> locus]	<i>Apis mellifera carpathica</i> [Q of the <i>COI-COII</i> locus]
Локус <i>H110</i> [Locus <i>H110</i> ]				
162	0,789±0,017	0,806±0,038	0,625±0,024	0,806±0,019
Ho	0,333±0,028	0,389±0,066	0,559±0,035	0,349±0,032
He	0,343±0,022	0,320±0,049	0,531±0,021	0,325±0,025
N	282	54	204	229
Локус <i>SV185</i> [Locus <i>SV185</i> ]				
263	0,288±0,021	0,094±0,026	0,310±0,024	0,222±0,020
266	0,117±0,015	0,266±0,039	0,216±0,021	0,290±0,022
269	<b>0,578±0,022</b>	0,359±0,042	0,367±0,025	0,205±0,020
Ho	0,527±0,032	0,594±0,061	0,662±0,034	0,676±0,033**
He	0,569±0,017	0,712±0,014	0,718±0,010	0,781±0,006
N	243	64	192	207

*Примечание.* N – число исследованных образцов; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность. Значения частот преобладающих аллелей (частота регистрации >0,40) у разных подвидов выделены жирным шрифтом. \* – отмечены статистически значимые отличия наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой (\* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001).

[Note. N - Number of samples examined; Ho - Observed heterozygosity; He - Expected heterozygosity. Frequencies of the prevailing alleles (registration frequency >0.40) in different subspecies are in bold. Statistically significant differences in the observed heterozygosity from the expected heterozygosity are marked with \*p<0.05, \*\* p<0.01 and \*\*\* p<0.001].

Оценка генетического разнообразия по показателям гетерозиготности большинства изученных локусов выявила сходные результаты для двух подвидов пчел, а именно более низкие значения наблюдаемой гетерозиготности по сравнению с ожидаемой гетерозиготностью (см. табл. 2). Только для локусов *AC117* и *Ap049* у пчел карпатской породы, *A024* у гибридов на основе карпатской породы и *H110* у пчел карпатской породы и всех гибридов значение наблюдаемой гетерозиготности превышало значение ожидаемой гетерозиготности. В то же время статистически значимый уровень различий между наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготностью показан только для следующих локусов: у пчел среднерусской породы – для локусов *A113* (t=2,23, p<0,05), *AC117* (t=5,93, p<0,001) и *Ap243* (t=6,94, p<0,001); у пчел карпатской породы – для локусов *A008* (t=3,61, p<0,001), *A043* (t=4,60, p<0,001) и *A113* (t=2,03, p<0,05); у гибридов на основе среднерусской породы – для локусов *AC117* (t=5,99, p<0,001), *Ap243* (t=12,08, p<0,001), *A024* (t=5,09, p<0,001), *Ap049* (t=4,31, p<0,001); у гибридов на основе карпатской породы – для локусов *AC117* (t=6,33, p<0,001), *Ap243* (t=10,38, p<0,001), *Ap049* (t=3,58, p<0,001) и *SV185* (t=3,13, p<0,01).

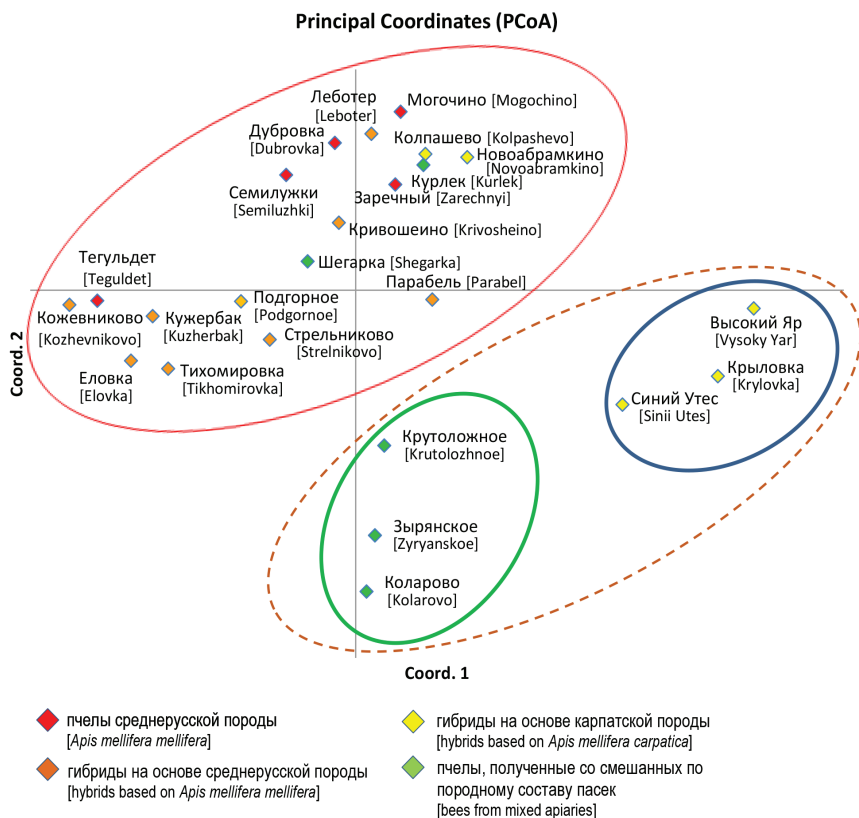
Выявленные различия между медоносными пчелами среднерусской и карпатской пород по вариабельности изученных локусов были использованы для оценки генетического разнообразия гибридных пчел, полученных с пасек Томской области. На основе анализа вариабельности 9 микросател-

литных локусов было установлено, что как у гибридов на основе среднерусской породы (варианты PQQ и PQQQ локуса *COI-COII* мтДНК), так и у гибридов на основе пород южного происхождения (вариант Q локуса *COI-COII*) ядерный геном более близок по спектру и частоте аллелей изученных ДНК-маркеров геному среднерусской породы. Например, по локусу *A043* аллель «128» является специфичным для среднерусской породы (частота регистрации 0,83), тогда как у карпатской породы этот аллель встречается с частотой 0,08; наоборот, для карпатской породы характерным является аллель «140» (частота встречаемости 0,63), тогда как у среднерусских пчел этот аллель регистрируется с частотой 0,16 (см. табл. 2). В то же время у гибридов как на основе среднерусской, так и на основе карпатской породы преобладающим является «среднерусский» аллель «128» (частота регистрации 0,84 и 0,64 соответственно), тогда как частота «карпатского» аллеля «140» у гибридов на основе карпатской породы снижается в два раза (0,29). Аналогичная картина наблюдается для большинства изученных локусов (*A008*, *A113*, *A024*, *Ap049*, *Ap243*). Следовательно, у гибридов на основе карпатской породы происходит интрогрессия генетических вариантов линии М (среднерусская порода).

***Факторы, определяющие генетическое разнообразие медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области***

Для выявления факторов, определяющих генетическое разнообразие медоносных пчел, полученных с пасек Томской области, был использован метод главных координат (Principal Coordinate Analysis – PCoA). Первоначально были проанализированы 24 выборки пчел, полученные из 24 населенных пунктов Томской области, с использованием метода PCoA по данным о вариабельности 9 микросателлитных локусов для визуализации дистанционности между собой выборок различного породного происхождения (рис. 4).

Согласно проведенным расчетам генетических дистанций, которые оценивались на основании анализа изменчивости 9 микросателлитных локусов, первая главная координата объясняет 29,5% суммарной изменчивости, вторая – 19,1%. Сравнимые выборки пчел отчетливо кластеризуются в зависимости от породной принадлежности (Coordinate 1): четко дифференцируются выборки пчел, имеющие происхождение от среднерусских пчел (кластер «среднерусские пчелы»), от выборок пчел на основе карпатской породы. Так, выборки пчел среднерусской породы (пчелы с пасек с. Могочино, д. Дубровка, с. Семилужки, п. Заречный, с. Тегульдет) и выборки гибридов на основе среднерусской породы (выборки пчел с пасек с. Леботер, с. Кривошеино, с. Парабель, с. Подгорное, д. Стрельниково, урочище Кужербак, д. Тихомировка, с. Кожевниково и д. Еловка), расположенные в одном большом кластере, дистанционны от группы пчел, представленной гибридами на основе карпатской породы (пчелы с пасек п. Синий Утес, с. Высокий Яр и д. Крыловка).



**Рис. 4.** Расположение в пространстве главных координат (PCoA) выборок медоносных пчел различного происхождения с пасек Томской области по данным об изменчивости 9 микросателлитных локусов. Coord. 1 – первая главная координата, Coord. 2 – вторая главная координата  
**[Fig. 4.** Projection of *Apis mellifera* individuals (comparison between bee groups of different origin) on the two-coordinate system according to the PCoA-analysis of the Nei genetic distances matrix. Coord. 1 - Coordinate 1; Coord. 2 - Coordinate 2]

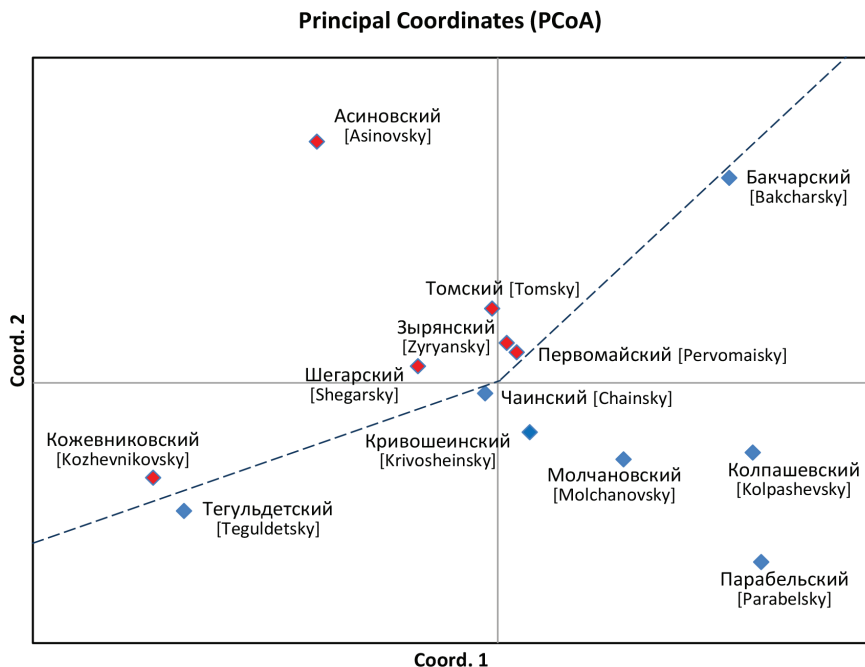
В то же время близкими к кластеру «среднерусские пчелы» оказались две выборки гибридных пчел на основе карпатской породы (пчелы с пасек в окр. г. Колпашево и д. Новоабрамкино), а также выборки пчел с пасек со смешанным породным составом (пчелы с пасек д. Шегарка и с. Курлек, а также д. Крутоложное, с. Зырянское, с. Коларово). Вместе с тем выборки гибридных пчел, прежде всего гибриды на основе карпатской породы и гибридные пчелы с пасек со смешанным породным составом, несколько дистанцированы друг от друга (Coordinate 2). Следовательно, кроме породной принадлежности на определение генетического разнообразия медоносных пчел, возможно, оказывают влияние и другие факторы, такие как уровень гибридизации (интрогрессия генов между линиями М и С), географическая

локализация пасек и др. Так, пчелы (семьи) с пасек со смешанным породным составом характеризуются разным уровнем гибридизации. Особенностью выборок с пасек д. Шегарка и с. Курлек является преобладание пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы по материнской линии (около 70% особей выборки имели варианты PQQ или PQQQ локуса *COI-COII* мтДНК, характерные для среднерусской породы). В отличие от выборок с пасек д. Шегарка и с. Курлек, три выборки пчел, полученные с пасек д. Крутоложное, с. Зырянское и с. Коларово, образуют обособленную периферийную группу, что может быть связано с тем, что в данных выборках преобладают гибридные пчелы на основе «южных» пород.

Что касается выборок гибридных пчел на основе карпатской породы, то на генетическое разнообразие данных выборок пчел кроме показателя интрогрессии генов может оказывать влияние изолированность пасек. Так, гибридизация со среднерусской породой и, возможно, большее замещение «карпатских» генов «среднерусскими» генами отмечено для пчел выборок с пасек в окр. г. Колпашево, д. Новоабрамкино по сравнению с выборками пчел с пасек с. Высокий Яр, д. Крыловка и п. Синий Утес. Это, возможно, объясняет интеграцию выборок с пасек в окр. г. Колпашево и д. Новоабрамкино в основную группу пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы. Кроме того, выборки пчел с пасек в окр. г. Колпашево и д. Новоабрамкино были сформированы на основе семей, длительно и изолированно обитающих на пасеках северного района (Колпашевский район – один из наиболее удаленных районов Томской области), в отличие от выборок, образующих отдельный кластер (с. Высокий Яр, д. Крыловка (Бакчарский район, северный район) и п. Синий Утес (Томский район, южный район)).

Таким образом, с одной стороны, генетическое разнообразие медоносных пчел определяется их породной принадлежностью (разные эволюционные линии М и С). С другой стороны, выборки пчел могут группироваться в зависимости от степени гибридизации пчел и от соотношения пчел разного происхождения (для смешанных выборок). Следует отметить, что представленность разных вариантов мтДНК в смешанных пчелиных семьях оказалась неодинаковой. Например, при объединении двух семей разного происхождения у пчел обычно регистрируется равное соотношение разных вариантов локуса *COI-COII* мтДНК, тогда как в случаях, когда происходит «миграционный» обмен между семьями, например вследствие блуждания и «впрашивания» рабочих пчел, в семьях регистрируется выраженная диспропорция по представленности разных вариантов мтДНК. Наконец, на представленное распределение выборок может оказывать влияние географический фактор.

Для оценки роли географического фактора в генетической гетерогенности выборок пчел были проанализированы выборки пчел с пасек 13 районов Томской области с использованием метода главных координат (РСоА) на основании данных частот аллелей 9 микросателлитных локусов (рис. 5).



**Рис. 5.** Расположение в пространстве главных координат (PCoA) выборок медоносных пчел с пасек 13 районов Томской области по данным об изменчивости 9 микросателлитных локусов. Coord. 1 – первая главная координата, Coord. 2 – вторая главная координата. Красным цветом отмечены выборки пчел с пасек южных районов; синим – выборки пчел с пасек северных районов

[Fig. 5. Projection of *Apis mellifera* individuals (comparison between bee groups from the apiaries of 13 districts of Tomsk region) on the two-coordinate system according to the PCoA-analysis of the Nei genetic distances matrix. Coord. 1 - coordinate 1; Coord. 2 - coordinate 2. Bee samples from apiaries in the southern regions are marked in red; bee samples from apiaries of the northern regions are in blue]

Суммарно первая и вторая главные координаты объясняют менее 50% изменчивости (25,6 и 20,3% соответственно для первой и второй координат), что свидетельствует о том, что географическая локализация, вероятно, вносит вклад в определение генетического разнообразия медоносных пчел, но является не единственным фактором. Согласно полученным результатам, по проанализированным генетическим маркерам исследуемые выборки пчел разделяются в зависимости от географической принадлежности (северные и южные районы) (Coordinate 1), но не образуют четких кластеров (наблюдается значительный разброс выборок пчел, особенно северных районов, что может быть связано с удаленностью и изолированностью пасек этих районов). Наиболее близкими между собой по генетическим особенностям были выборки пчел с пасек южных районов (Томского, Зырянского и Шегарского), характеризующихся высоким уровнем пчеловодства, активным завозом пчелиных семей карпатской породы и большим количеством ги-

бридных пасек. Вероятно, что в данном случае факторами, определяющими их генетическое разнообразие, являются не столько географическая локализация, сколько породная принадлежность пчел и уровень интрогрессии генов (выборки представлены преимущественно пчелами гибридных семей). Следовательно, среди факторов, определяющих генетическое разнообразие медоносных пчел на пасеках Томской области, можно выделить следующие: породная принадлежность пчелиных семей, уровень интрогрессии генов в процессе гибридизации, географическая локализация пасек, а также изолированность пасек. Каждый из предполагаемых факторов не является определяющим, но, вероятно, имеет место их комплексное воздействие на формирование генетического разнообразия пчел, причем значительное влияние на проявление этих факторов оказывает деятельность человека (выбор породы пчел, контроль чистопородности пчелиных семей и др.).

### Заключение

В результате комплексного исследования медоносных пчел с использованием классического морфометрического и молекулярно-генетического методов представлено распространение пород медоносной пчелы на территории Томской области, установлены пасеки, где сохранилась среднерусская порода *A. m. mellifera*, определены зоны гибридизации пчел и др. Большинство пчелиных семей на пасеках Томской области представлено гибридами между среднерусской и карпатской породами. На основе анализа изменчивости 9 микросателлитных локусов установлено, что ядерный геном гибридных пчел, имеющих происхождение как от среднерусской, так и карпатской пород, более близок по спектру и частоте изученных маркеров геному среднерусской породы. Генетическое разнообразие медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области, вероятно, определяется не отдельно взятым показателем (географическая локализация и изолированность пасек, породная принадлежность пчел (происхождение), уровень интрогрессии генов в процессе гибридизации), а комплексным воздействием вышеназванных факторов, значимость которых в определенной степени зависит от деятельности человека.

### Литература

1. Meixner M.D., Costa C., Kryger P., Hatjina F., Bouga M., Ivanova E., Büchler R. Conserving diversity and vitality for honey bee breeding // Journal of Apicultural Research. 2010. Vol. 49, № 1. PP. 85–92. doi: 10.3896/IBRA.1.49.1.12
2. Büchler R., Costa C., Hatjina F., Andonov S., Meixner M.D., Le Conte Y., Uzunov A., Berg S., Bienkowska M., Bouga M., Drazic M., Dyrba W., Kryger P., Panasiuk B., Pechhacker H., Petrov P., Kezić N., Korpela S., Wilde J. The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe // Journal of Apicultural Research. 2014. Vol. 53. PP. 205–214. doi: 10.3896/IBRA.1.53.2.03

3. Pinto M.A., Henriques D., Chávez-Galarza J., Kryger P., Garnery L., van der Zee R., Dahle B., Soland-Reckeweg G., De la Rúa P., Dall'Olio R., Carreck N.L., Johnston J.S. Genetic integrity of the dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) from protected populations: a genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data // Journal of Apicultural Research. 2014. Vol. 53. PP. 269–278. doi: 10.3896/IBRA.1.53.2.08
4. Porrini C., Mutinelli F., Bortolotti L., Granato A., Laurenson L., Roberts K., Gallina A., Silvester N., Medrzycki P., Renzi T., Sgolastra F., Lodesani M. The status of honey bee health in Italy: results from the nationwide Bee Monitoring Network // PLoS One. 2016. Vol. 11, № 5. e0155411. doi: 10.1371/journal.pone.0155411
5. Martinello M., Baratto C., Manzinello C., Piva E., Borin A., Toson M., Granato A., Boniotti M.B., Gallina A., Mutinelli F. Spring mortality in honey bees in northeastern Italy: detection of pesticides and viruses in dead honey bees and other matrices // Journal of Apicultural Research. 2017. Vol. 56, № 3. PP. 239–254. doi: 10.1080/00218839.2017.1304878
6. Brodschneider R., Gray A., Adjlane N., Ballis A., Brusbardis V., Charrière J.-D., Chlebo R., Coffey M.F., Dahle B., de Graaf D., Dražić M.M., Evans G., Fedoriak M., Forsythe I., Gregorc A., Grzęda U., Hetzroni A., Kauko L., Kristiansen P., Martikkala M., Martín-Hernández R., Medina-Flores C.A., Mutinelli F., Raudmets A., Ryzhikov V.A., Simon-Delso N., Stevanovic J., Uzunov A., Vejsnæs F., Wöhl S., Zammit-Mangion M., Danihlík J. Multi-country loss rates of honey bee colonies during winter 2016/2017 from the COLOSS survey // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 3. PP. 452–457. doi: 10.1080/00218839.2018.1460911
7. Brown P., Newstrom-Lloyd L.E., Foster B.J., Badger P.H., McLeane J.A. Winter 2016 honey bee colony losses in New Zealand // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 2. PP. 278–291. doi: 10.1080/00218839.2018.1430980
8. Requier F., Antúnez K., Morales C.L., Sánchez P.A., Castilhos D., Garrido P.M., Giacobino A., Reynaldi F.J., Londoño J.M.R., Santos E., Garibaldi L.A. Trends in beekeeping and honey bee colony losses in Latin America // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 3. PP. 657–662. doi: 10.1080/00218839.2018.1494919
9. Gray A., Brodschneider R., Adjlane N., Ballis A., Brusbardis V., Charrière J.-D., Chlebo R., Coffey M.F., Cornelissen B., Amaro da Costa C., Csáki T., Dahle B., Danihlík J., Dražić M.M., Evans G., Fedoriak M., Forsythe I., de Graaf D., Gregorc A., Johannesen J., Kauko L., Kristiansen P., Martikkala M., Martín-Hernández R., Medina-Flores C.A., Mutinelli F., Patalano S., Petrov P., Raudmets A., Ryzhikov V.A., Simon-Delso N., Stevanovic J., Topolska G., Uzunov A., Vejsnæs F., Williams A., Zammit-Mangion M., Soroker V. Loss rates of honey bee colonies during winter 2017/18 in 36 countries participating in the COLOSS survey, including effects of forage sources // Journal of Apicultural Research. 2019. Vol. 58, № 4. PP. 479–485. doi: 10.1080/00218839.2019.1615661
10. Jensen A.B., Pedersen B.V. Honeybee conservation: a case story from Læsø island, Denmark // Beekeeping and conserving biodiversity of honeybee. Sustainable bee breeding. Hebden Bridge : Northern Bee Books, 2005. PP. 142–164.
11. De la Rúa P., Jaffé R., Dall'Olio R., Serrano J., Muñoz I. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees // Apidologie. 2009. Vol. 40, № 3. PP. 263–284. doi: 10.1051/apido/2009027
12. Soland-Reckeweg G., Heckel G., Neumann P., Fluri P., Excoffier L. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera* // Journal of Insect Conservation. 2009. Vol. 13. PP. 317–328. doi: 10.1007/s10841-008-9175-0
13. Muñoz I., Henriques D., Johnston J.S., Chávez-Galarza J., Kryger P., Pinto M.A. Reduced SNP panels for genetic identification and introgression analysis in the dark honey bee (*Apis mellifera mellifera*) // PLoS One. 2015. Vol. 10. e0124365. doi: 10.1371/journal.pone.0124365

14. Hassett J., Browne K.A., McCormack G.P., Moore E., Native Irish Honey Bee Society, Soland G., Geary M. A significant pure population of the dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) remains in Ireland // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 3. PP. 337–350. doi: 10.1080/00218839.2018.1433949
15. Budge G.E., Pietravalle S., Brown M., Laurenson L., Jones B., Tomkies V., Delaplane K.S. Pathogens as predictors of honey bee colony strength in England and Wales // PLoS One. 2015. Vol. 10, № 7. e0133228. doi: 10.1371/journal.pone.0133228
16. Chauzat M.-P., Jacques A., Laurent M., Bougeard S., Hendrikk P., Ribière-Chabert M. Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: one year of surveillance // Apidologie. 2016. Vol. 47, № 3. PP. 348–378. doi: 10.1007/s13592-016-0440-z
17. Simone-Finstrom M., Li-Byarlay H., Huang M.H., Strand M.K., Rueppell O., Tarry D.R. Migratory management and environmental conditions affect lifespan and oxidative stress in honey bees // Scientific Reports. 2016. Vol. 6. 32023. doi: 10.1038/srep32023
18. Wilfert L., Long G., Leggett H.C., Schmid-Hempel P., Butlin R., Martin S.J.M., Boots M. Honeybee disease: Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites // Science. 2016. Vol. 351. PP. 594–597. doi: 10.1126/science.aac9976
19. Molineri A., Giacobino A., Pacini A., Bulacio Cagnolo N., Merke J., Orellano E., Bertozzi E., Zago L., Aignasse A., Pietronave H., Rodríguez G., Crisanti P., Palacio M.A., Signorini M. Environment and *Varroa* destructor management as determinant of colony losses in apiaries under temperate and subtropical climate // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 4. PP. 551–564. doi: 10.1080/00218839.2018.1475697
20. Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Островерхова Н.В., Нечипуренко А.О., Воротов А.А., Климова Е.А., Прокопьев А.С. Медоносная пчела и пчеловодство в Томской области: прошлое, настоящее и будущее // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2009. № 4 (8). С. 15–28.
21. Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Николенко А.Г. Семь причин смертности семей пчелы *Apis mellifera mellifera* в России // Пчеловодство. 2017. № 9. С. 10–14.
22. van Engelsdorp D., Traynor K.S., Andree M., Lichtenberg E.M., Chen Y., Saegerman C., Cox-Foster D.L. Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology // PLoS One. 2017. Vol. 12, № 7. e0179535. doi: 10.1371/journal.pone.0179535
23. Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Островерхова Н.В., Россейкина С.А., Нечипуренко А.О., Воротов А.А., Климова Е.А., Прокопьев А.С. 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.
24. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Климова Е.А., Воротов А.А. Характеристика митохондриального генома медоносной пчелы *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) в популяциях Томской области // II Симпозиум стран СНГ по перепончатокрылым насекомым и 8-й Коллоквиум Российской секции Международного союза исследователей общественных насекомых (IUSSI): Программа и тезисы докладов. СПб., 2010. С. 110.
25. Конусова О.Л., Островерхова Н.В., Кучер А.Н., Курбатский Д.В., Киреева Т.Н. Характеристика морфометрической изменчивости медоносных пчел *Apis mellifera* L., отличающихся вариантами локуса *COI-COI* мтДНК // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2016. № 1 (33). С. 62–81. doi: 10.17223/19988591/33/5
26. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н., Погорелов Ю.Л., Белых Е.А., Воротов А.А. Популяционно-генетическая структура медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) в районе д. Леботёр Чаинского района Томской области // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 1 (21). С. 161–172.

27. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н., Киреева Т.Н., Воротов А.А., Белых Е.А. Генетическое разнообразие локуса COI-COI мтДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в Томской области // Генетика. 2015. Т. 51, № 1. С. 89–100. doi: 10.7868/S0016675815010105
28. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н., Киреева Т.Н., Багиров Р.Т.-о. Характеристика генетического разнообразия медоносных пчел (*Apis mellifera* L.) томской популяции по комплексу ДНК-маркеров // Чтения памяти А. И. Куренцова. 2015. Вып. XXVI. С. 227–240.
29. Ostroverkhova N.V., Kucher A.N., Konusova O.L., Kireeva T.N., Sharakhov I.V. Genetic diversity of honeybees in different geographical regions of Siberia // International Journal of Environmental Studies. 2017. Vol. 74, № 5. PP. 771–781. doi: 10.1080/00207233.2017.1283945
30. Ostroverkhova N.V., Konusova O.L., Kucher A.N., Sharakhov I.V. A comprehensive characterization of the honeybees in Siberia (Russia) // E. Dechechi Chambo (Ed.) Beekeeping and Bee Conservation – Advances in Research. Grotia : InTech, 2016. PP. 1–37. doi: 10.5772/62395
31. Meixner M.D., Pinto M.A., Bouga M., Kryger P., Ivanova E., Fuchs S. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera* // COLOSS BEEBOOK / Eds. V. Dietemann, J.D. Ellis, P. Neumann. Vol. I : standard methods for *Apis mellifera* research // Journal of Apicultural Research. 2013. Vol. 52, № 4. PP. 1–27. doi: 10.3896/IBRA.1.52.4.05
32. Muñoz I., Henriques D., Jara L., Johnston J.S., Chávez-Galarza J., De La Rúa P., Pinto M.A. SNPs selected by information content outperform randomly selected microsatellite loci for delineating genetic identification and introgression in the endangered dark European honeybee (*Apis mellifera mellifera*) // Molecular Ecology Resources. 2017. Vol. 17, № 4. PP. 783–795. doi: 10.1111/1755-0998.12637
33. Nawrocka A., Kandemir İ., Fuchs S., Tofilski A. Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages // Apidologie. 2018. Vol. 49. PP. 172–184. doi: 10.1007/s13592-017-0538-y
34. Parejo M., Henriques D., Pinto M.A., Soland-Reckeweg G., Neuditschko M. Empirical comparison of microsatellite and SNP markers to estimate introgression in *Apis mellifera mellifera* // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 4. PP. 551–564. doi: 10.1080/00218839.2018.1494894
35. Henriques D., Chávez Galarza J.C., Quaresma A., Pinto M.A. From the popular tRNA<sup>leu</sup>-COX2 intergenic region to the mitogenome: insights from diverse honey bee populations of Europe and North Africa // Apidologie. 2019. Vol. 50, № 2. PP. 111–120. doi: 10.1007/s13592-019-00632-9
36. Ruttner F. Biogeography and taxonomy of honey bees. Berlin : Springer-Verlag, 1988. 284 p.
37. Авдеев Н.В., Макарова Н.Е., Петухов А.В. Выявление уровня «генетического загрязнения» по характеристикам жилкования крыла // Пчеловодство. 2009. № 7. С. 21–24.
38. Алпатов В.В. Породы медоносной пчелы. М. : Изд-во Моск. общества испытателей природы, 1948. 183 с.
39. Căuia E., Usurelu D., Magdalena L.M., Cimponeriu D., Apostol P., Siceanu A., Holban A., Gavrila L. Preliminary researches regarding the genetic and morphometric characterization of honeybee (*A. mellifera* L.) from Romania // Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies. 2008. Vol. 41, № 2. PP. 278–286.
40. Никонов Ю.М., Беньковская Г.В., Поскряков А.В., Николенко А.Г., Вахитов В.А. Использование метода ПЦР для контроля чистопородности пчелосемей *Apis mellifera mellifera* L. в условиях Южного Урала // Генетика. 1998. Т. 34, № 11. С. 1574–1577.

41. Solignac M., Vautrin D., Loiseau A., Mougel F., Baudry E. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) genome // Molecular Ecology Notes. 2003. Vol. 3. PP. 307–311. doi: 10.1046/j.1471–8286.2003.00436.x
42. Животовский Л.А. Статистические методы анализа частот генов в природных популяциях // Итоги науки и техники. Общая генетика. М. : ВИНТИ, 1983. Т. 8. С. 76–104.
43. Peakall R., Smouse P.E. GenAIEХ 6: genetic analysis in Excel. Population Genetic Software for teaching and research // Molecular Ecology Notes. 2006. Vol. 6. PP. 288–295.
44. Ильясов Р.А., Поскрязов А.В., Петухов А.В., Николенко А.Г. Молекулярно-генетический анализ пяти сохранившихся резерватов темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* Урала и Поволжья // Генетика. 2016. Т. 52, № 8. С. 931–942. doi: 10.7868/S0016675816060059
45. Селекционный центр (ассоциация) по среднерусской породе пчел медоносных. URL: <http://apis-mellifera-mellifera-l.ru/novosti/v-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferenciya.html> (дата обращения: 25.08.2019).
46. Bourgeois L., Beaman L. Tracking the genetic stability of a honey bee (Hymenoptera: Apidae) breeding program with genetic markers // Journal of Economic Entomology. 2017. Vol. 110, № 4. PP. 1419–1423. doi: 10.1093/jee/tox175

Поступила в редакцию 27.03.2019 г.; повторно 02.07.2019 г.;  
принята 15.08.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.

**Авторский коллектив:**

**Острроверхова Надежда Васильевна** – доцент, канд. биол. наук, доцент кафедры зоологии беспозвоночных, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9837-4905>

E-mail: [nvostrov@mail.ru](mailto:nvostrov@mail.ru)

**Россейкина Светлана Александровна** – м.н.с. НПЦ «Апис», кафедра зоологии беспозвоночных, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: [rosseykina75@mail.ru](mailto:rosseykina75@mail.ru)

**Конусова Ольга Леонидовна** – ст. преп. кафедры зоологии беспозвоночных, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: [olga.konusova@mail.ru](mailto:olga.konusova@mail.ru)

**Кучер Аксана Николаевна** – профессор, д-р биол. наук, проф. кафедры цитологии и генетики, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3824-3641>

E-mail: [aksana.kucher@medgenetics.ru](mailto:aksana.kucher@medgenetics.ru)

**Киреева Татьяна Николаевна** – лаборант-исследователь лаборатории физиологии растений и биотехнологии, Сибирский ботанический сад, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: [emilia30@mail.ru](mailto:emilia30@mail.ru)

**For citation:** Ostroverkhova NV, Rosseykina SA, Konusova OL, Kucher AN, Kireeva TN. Diversity of the honeybee *Apis mellifera* L. in Tomsk region according to morphometric and molecular genetic markers. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:142-173. doi: 10.17223/19988591/47/8 In Russian, English Summary

Nadezhda V. Ostroverkhova, Svetlana A. Rosseykina,  
Olga L. Konusova, Aksana N. Kucher, Tatyana N. Kireeva

Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

### Diversity of the honeybee *Apis mellifera* L. in Tomsk region according to morphometric and molecular genetic markers

In Siberia, the honeybee was introduced about 230 years ago. It was the dark-colored forest bee *Apis mellifera mellifera* L., that was cultivated in Siberia as the most adapted to the harsh climatic conditions of the region. At the end of the last century, bees of the southern breeds, mainly *Apis mellifera carpathica* subspecies (a derivative of *A. m. carnica* subspecies), were actively imported to Siberia. Introgressive bee hybridization leads to the reduction of the range of native subspecies and the formation of hybrids, modifies the genetic pool of local honeybee populations leading to the loss of their genetic identity. Russia, including Siberia, still has unique abilities to preserve the aboriginal populations of the honeybee. For Siberia, such a unique subspecies is the dark-colored forest bee *A. m. mellifera*, which is considered endangered in Europe. At present, the knowledge of honeybee subspecies living in Siberia, including Tomsk region, is insufficient; data on the genetic diversity of honeybees are fragmentary. In this regard, the aim of this work was to identify the biological diversity of the *A. mellifera* honeybee living in Tomsk region using morphometric and molecular genetic markers.

A total of 337 bee colonies obtained from 65 apiaries of Tomsk region were investigated using mtDNA analysis (variability of the *COI-COII* locus) and morphometric method (analysis of wing parameters: cubital and hantel indexes, discoidal shift) (See Fig. 1). The genetic diversity of honeybees was studied using 9 microsatellite loci (*A008, AC117, A043, A113, A024, Ap243, Ap049, H110, SV185*); a total of 106 bee colonies and 893 individuals were investigated.

According to the analysis of variability of the *COI-COII* mtDNA locus, 62.9% of bee colonies were of *A. m. mellifera* origin on maternal line, 29.1% of bee colonies were of the origin from the southern subspecies and 8.0% were from mixed colonies. Three variants of the mtDNA *COI-COII* locus were registered: PQQ, PQQQ (characteristic of *A. m. mellifera*) and Q (characteristic of subspecies of the southern origin) (See Fig. 2). According to a morphometric study, about 56% of the studied bee colonies conformed to the *A. m. mellifera* standard according to the majority of morphometric parameters, but for some individual characteristics (mainly the indicator “discoidal shift”), a deviation from the values adopted for this subspecies was recorded. About 24% of the studied bee colonies are more consistent with the *A. m. carpathica* standard, but also have some signs characteristic of *A. m. mellifera* (hybrids based on the *A. m. carpathica* subspecies). Finally, a comparative analysis of the variability of morphometric parameters and variability of the *COI-COII* mtDNA locus allowed us to identify bee colonies (the so-called “inverted colonies”), which corresponded to the *A. m. mellifera* standard according to morphometric parameters, but had the Q variant of mtDNA (colony origin from the southern bee subspecies on the maternal line) or, on the contrary, the colonies were the *A. m. carpathica* subspecies according to morphometric parameters, while mtDNA was specific for *A. m. mellifera* (See Table 1). Consequently, the study of honeybees in Tomsk region using a comprehensive approach, including morphometric and mtDNA analysis, showed that most bee colonies are represented by hybrid forms both on the basis of *A. m. mellifera* subspecies and on the basis of *A. m. carpathica*; hybrids based on *A. m. mellifera* prevail (See Fig. 3). No large areas were found with a genetically homogeneous array of bees, originating from *A. m.*

*mellifera* subspecies. At the same time, the apiaries, where *A. m. mellifera* bees are preserved and bred, were identified in some districts of Tomsk region (Molchanovsky, Chainsky, Zyryansky, Teguldetsky, Tomsky) (See Fig. 3). In order to characterize the genetic diversity of honeybees in Tomsk region, as well as to assess the process of bee hybridization, we analyzed the variability of nine microsatellite loci in honeybees (See Table 2). A comparative analysis of the variability of the studied microsatellite loci in purebred bees (*A. m. mellifera* and *A. m. carpathica*) showed differences in the spectrum and/or frequency of alleles between subspecies for most loci. In addition, for some loci (*A008*, *A043*, *A113*, *A024*, and *Ap049*), the predominant alleles were recorded (the frequency of their registration was more than 0.40), and the spectrum of these alleles differed in bees of different evolutionary lineages (M and C) (See Table 2). Evaluation of genetic diversity on heterozygosity of most of the studied loci revealed similar results for two bee subspecies, namely lower values of the observed heterozygosity compared with the expected heterozygosity (See Table 2). The revealed differences between honeybees of *A. m. mellifera* and *A. m. carpathica* subspecies on the variability of the studied loci were used to assess the genetic diversity of hybrid bees obtained from apiaries of Tomsk region. We have established that both in hybrids based on *A. m. mellifera* subspecies (variants PQQ and PQQQ of the *COI-COII* mtDNA locus) and in hybrids based on subspecies of the southern origin (variant Q of the *COI-COII* locus) the nuclear genome is more consistent with the *A. m. mellifera* genome in the spectrum and/or frequency of alleles of the studied DNA markers. Using the Principal Coordinate Analysis (PCoA) method (See Fig. 4 and 5), we showed that the genetic diversity of honeybees living in apiaries of Tomsk region is not determined by a single indicator (geographical localization and isolation of apiaries, the bee breed (origin), the level of gene introgression), but by the complex effect of the above factors, whose importance to a certain extent depends on human activity.

Thus, the study of genetic diversity, which is determined by numerous factors, as well as evaluation of the level of introgression between aboriginal and adventive subspecies of honey bees are important to establish the effects of hybridization and to preserve the gene pool of local bee subspecies. To preserve and restore the unique gene pool of *A. m. mellifera*, a Coordinating Council on the problems of selection, rational use and protection of *A. m. mellifera* gene pool was created in 2019 in Russia. Two researchers from “Apis” Scientific and Production Center, Tomsk State University are its members. The success of measures to preserve aboriginal bee ecotypes will primarily depend on detecting and restoring the unique surviving populations, creating bee nurseries and reserves, as well as on studying the current state of various honeybee populations to understand genetic processes going on in them.

*The paper contains 5 Figures, 2 Tables and 46 References.*

**Key words:** *Apis mellifera* L.; genetic diversity; morphometric method; *COI-COII* locus mtDNA; microsatellite loci.

*The authors declare no conflict of interest.*

### References

1. Meixner MD, Costa C, Kryger P, Hatjina F, Bouga M, Ivanova E, Büchler R. Conserving diversity and vitality for honey bee breeding. *J Apicultural Research*. 2010;49(1):85-92. doi: [10.3896/IBRA.1.49.1.12](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.12)
2. Büchler R, Costa C, Hatjina F, Andonov S, Meixner MD, Le Conte Y, Uzunov A, Berg S, Bienkowska M, Bouga M, Drazic M, Dyrba W, Kryger P, Panasiuk B, Pechhacker H, Petrov P, Kezić N, Korpela S, Wilde J. The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe. *J Apicultural Research*. 2014;53:205-214. doi: [10.3896/IBRA.1.53.2.03](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.03)

3. Pinto MA, Henriques D, Chávez-Galarza J, Kryger P, Garnery L, van der Zee R, Dahle B, Soland-Reckeweg G, De la Rúa P, Dall'Olio R, Carreck NL, Johnston JS. Genetic integrity of the dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) from protected populations: a genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data. *J Apicultural Research*. 2014;53:269-278. doi: [10.3896/IBRA.1.53.2.08](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.08)
4. Porrini C, Mutinelli F, Bortolotti L, Granato A, Laurenson L, Roberts K, Gallina A, Silvester N, Medrzycki P, Renzi T, Sgolastra F, Lodesani M. The status of honey bee health in Italy: Results from the nationwide Bee Monitoring Network. *PLoS One*. 2016;11(5):e0155411. doi: [10.1371/journal.pone.0155411](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155411)
5. Martinello M, Baratto C, Manzinello C, Piva E, Borin A, Toson M, Granato A, Boniotti MB, Gallina A, Mutinelli F. Spring mortality in honey bees in northeastern Italy: detection of pesticides and viruses in dead honey bees and other matrices. *J Apicultural Research*. 2017;56(3):239-254. doi: [10.1080/00218839.2017.1304878](https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1304878)
6. Brodschneider R, Gray A, Adjlane N, Ballis A, Brusbardis V, Charrière J-D, Chlebo R, Coffey MF, Dahle B, de Graaf D, Dražić MM, Evans G, Fedoriak M, Forsythe I, Gregorc A, Grzęda U, Hetzroni A, Kauko L, Kristiansen P, Martikkala M, Martín-Hernández R, Medina-Flores CA, Mutinelli F, Raudmets A, Ryzhikov VA, Simon-Delso N, Stevanovic J, Uzunov A, Vejsnaes F, Wöhl S, Zammit-Mangion M, Danihlik J. Multi-country loss rates of honey bee colonies during winter 2016/2017 from the COLOSS survey. *J Apicultural Research*. 2018;57(3):452-457. doi: [10.1080/00218839.2018.1460911](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1460911)
7. Browna P, Newstrom-Lloyd LE, Foster BJ, Badger PH, McLeane JA. Winter 2016 honey bee colony losses in New Zealand. *J Apicultural Research*. 2018;57(2):278-291. doi: [10.1080/00218839.2018.1430980](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1430980)
8. Requier F, Antúnez K, Morales CL, Sánchez PA, Castilhos D, Garrido PM, Giacobino A, Reynaldi FJ, Londoño JMR, Santos E, Garibaldi LA. Trends in beekeeping and honey bee colony losses in Latin America. *J Apicultural Research*. 2018;57(3):657-662. doi: [10.1080/00218839.2018.1494919](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494919)
9. Gray A, Brodschneider R, Adjlane N, Ballis A, Brusbardis V, Charrière J-D, Chlebo R, Coffey MF, Cornelissen B, Amaro da Costa C, Csáki T, Dahle B, Danihlik J, Dražić MM, Evans G, Fedoriak M, Forsythe I, de Graaf D, Gregorc A, Johannesen J, Kauko L, Kristiansen P, Martikkala M, Martín-Hernández R, Medina-Flores CA, Mutinelli F, Patalano S, Petrov P, Raudmets A, Ryzhikov VA, Simon-Delso N, Stevanovic J, Topolska G, Uzunov A, Vejsnaes F, Williams A, Zammit-Mangion M, Soroker V. Loss rates of honey bee colonies during winter 2017/18 in 36 countries participating in the COLOSS survey, including effects of forage sources. *J Apicultural Research*. 2019;58(4):479-485. doi: [10.1080/00218839.2019.1615661](https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1615661)
10. Jensen AB, Pedersen BV. Honeybee conservation: A case story from Læsø island, Denmark. In: *Beekeeping and conserving biodiversity of honeybee. Sustainable bee breeding*. Lodesani M and Costa C, editors. Mytholmroyd, Hebden Bridge UK: Northern Bee Books, 2005. pp. 142-164.
11. De la Rúa P, Jaffé R, Dall'Olio R, Serrano J, Muñoz I. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*. 2009;40(3):263-284. doi: [10.1051/apido/2009027](https://doi.org/10.1051/apido/2009027)
12. Soland-Reckeweg G, Heckel G, Neumann P, Fluri P, Excoffier L. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera*. *J Insect Conservation*. 2009;13:317-328. doi: [10.1007/s10841-008-9175-0](https://doi.org/10.1007/s10841-008-9175-0)
13. Muñoz I, Henriques D, Johnston JS, Chávez-Galarza J, Kryger P, Pinto MA. Reduced SNP panels for genetic identification and introgression analysis in the dark honey bee (*Apis mellifera mellifera*). *PLoS One*. 2015;10:e0124365. doi: [10.1371/journal.pone.0124365](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124365)
14. Hassett J, Browne KA, McCormack GP, Moore E, Native Irish Honey Bee Society, Soland G, Geary M. A significant pure population of the dark European honey bee (*Apis*

- mellifera mellifera*) remains in Ireland. *J Apicultural Research*. 2018;57(3):337-350. doi: [10.1080/00218839.2018.1433949](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1433949)
15. Budge GE, Pietravalle S, Brown M, Laurenson L, Jones B, Tomkies V, Delaplane KS. Pathogens as predictors of honey bee colony strength in England and Wales. *PLoS One*. 2015;10(7):e0133228. doi: [10.1371/journal.pone.0133228](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133228)
  16. Chauzat M-P, Jacques A, Laurent M, Bougeard S, Hendrikx P, Ribière-Chabert M. Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: One year of surveillance. *Apidologie*. 2016;47(3):348-378. doi: [10.1007/s13592-016-0440-z](https://doi.org/10.1007/s13592-016-0440-z)
  17. Simone-Finstrom M, Li-Byarlay H, Huang MH, Strand MK, Rueppell O, Tarpy DR. Migratory management and environmental conditions affect lifespan and oxidative stress in honey bees. *Scientific Reports*. 2016;6:e32023. doi: [10.1038/srep32023](https://doi.org/10.1038/srep32023)
  18. Wilfert L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, Boots M. Honeybee disease: Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. *Science*. 2016;351:594-597. doi: [10.1126/science.aac9976](https://doi.org/10.1126/science.aac9976)
  19. Molineri A, Giacobino A, Pacini A, Bulacio Cagnolo N, Merke J, Orellano E, Bertozzi E, Zago L, Aignasse A, Pietronave H, Rodríguez G, Crisanti P, Palacio MA, Signorini M. Environment and *Varroa* destructor management as determinant of colony losses in apiaries under temperate and subtropical climate. *J Apicultural Research*. 2018;57(4):551-564. doi: [10.1080/00218839.2018.1475697](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1475697)
  20. Konusova OL, Pogorelov YuL, Ostroverkhova NV, Nechipurenko AO, Vorotov AA, Klimova EA, Prokopiev AS. Honey bee and bee-farming in the Tomsk region: Past, present and future. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2009;4(8):15-28. In Russian
  21. Ilyasov RA, Poskryakov AV, Nikolenko AG. Seven causes of mortality of the dark forest honeybee *Apis mellifera mellifera* colonies in Russia. *Pchelovodstvo = Beekeeping*. 2017;9:10-14. In Russian
  22. vanEngelsdorp D, Traynor KS, Andree M, Lichtenberg EM, Chen Y, Saegerman C, Cox-Foster DL. Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology. *PLoS One*. 2017;12(7):e0179535. doi: [10.1371/journal.pone.0179535](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179535)
  23. Konusova OL, Pogorelov YuL, Ostroverkhova NV, Rosseykina SA, Nechipurenko AO, Vorotov AA, Klimova EA, Prokop'ev AS. Colonies Biological and business assessment of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) in some areas of the Tomsk Region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2010;1(9):29-41. In Russian
  24. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Pogorelov YuL, Klimova EA, Vorotov AA. Charakteristika mitochondrial'nogo genoma medonosnoy pchely *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) v populyatsiyach Tomskoy oblasti [Characteristics of the mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) in the populations of Tomsk region]. In: *II Simpozium stran SNG po pereponchatokrylym nasekomym i 8 Kollokvium Rossiyskoy sekcii Mezhdunarodnogo soyuza issledovateley obshchestvennykh nasekomykh (IUSSI): Programma i tezisy dokladov* [II Symposium of the CIS countries on Hymenoptera and the 8th Colloquium of the Russian Section of the International Union for the Study of Social Insects, IUSSI (St. Petersburg, Russia, 13-20 September, 2010)]. St. Petersburg. 2010. pp. 110. In Russian
  25. Konusova OL, Ostroverkhova NV, Kucher AN, Kurbatskij DV, Kireeva TN. Morphometric variability of honeybees *Apis mellifera* L., differing in variants of the *COI-COII* mtDNA locus. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2016;1(33):62-81. doi: [10.17223/19988591/33/5](https://doi.org/10.17223/19988591/33/5). In Russian, English Summary
  26. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Kucher AN, Pogorelov YuL, Belich EA, Vorotov AA. Population genetic structure of honey bee (*Apis mellifera* L.) in the village of Leboter in

- Chainskiy district of Tomsk region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2013;1(21):161-172. In Russian
27. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Kucher AN, Kireeva TN, Vorotov AA, Belich EA. Genetic diversity of the locus *COI-COII* of mitochondrial DNA in honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from the Tomsk Region. *Russian Journal of Genetics*. 2015;51(1):80-90. doi: [10.1134/s102279541501010x](https://doi.org/10.1134/s102279541501010x)
  28. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Kucher AN, Kireeva TN, Bagirov RT-o. Characterization of the genetic diversity of honey bees (*Apis mellifera* L.) in Tomsk population using mtDNA and microsatellite markers. *Chteniya pamyati A.I. Kurentsova = A.I. Kurentsov's Annual Memorial Meetings*. 2015;XXVI:227-240. In Russian, English Summary
  29. Ostroverkhova NV, Kucher AN, Konusova OL, Kireeva TN, Sharakhov IV. Genetic diversity of honeybees in different geographical regions of Siberia. *International J Environmental Studies*. 2017;74(5):771-781. doi: [10.1080/00207233.2017.1283945](https://doi.org/10.1080/00207233.2017.1283945)
  30. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Kucher AN, Sharakhov IV. A comprehensive characterization of the honeybees in Siberia (Russia). In: *Beekeeping and Bee Conservation – Advances in Research*. Chambo ED, editor. Grotia: InTech; 2016. pp. 1-37. doi: [10.5772/62395](https://doi.org/10.5772/62395)
  31. Meixner MD, Pinto MA, Bouga M, Kryger P, Ivanova E, Fuchs S. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. In: The COLOSS BEEBOOK, Vol. I: Standard methods for *Apis mellifera* research. Dietemann V, Ellis JD and Neumann P, editors. *J Apicultural Research*. 2013;52(4):1-27. doi: [10.3896/IBRA.1.52.4.05](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.05)
  32. Muñoz I, Henriques D, Jara L, Johnston JS, Chávez-Galarza J, De La Rúa P, Pinto MA. SNPs selected by information content outperform randomly selected microsatellite loci for delineating genetic identification and introgression in the endangered dark European honeybee (*Apis mellifera mellifera*). *Molecular Ecology Resources*. 2017;17(4):783-795. doi: [10.1111/1755-0998.12637](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12637)
  33. Nawrocka A, Kandemir İ, Fuchs S, Tofilski A. Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages. *Apidologie*. 2018;49:172-184. doi: [10.1007/s13592-017-0538-y](https://doi.org/10.1007/s13592-017-0538-y)
  34. Parejo M, Henriques D, Pinto MA, Soland-Reckeweg G, Neuditschko M. Empirical comparison of microsatellite and SNP markers to estimate introgression in *Apis mellifera mellifera*. *J Apicultural Research*. 2018;57(4):551-564. doi: [10.1080/00218839.2018.1494894](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494894)
  35. Henriques D, Chávez Galarza JC, Quaresma A, Pinto MA. From the popular tRNA<sup>leu</sup>-COX2 intergenic region to the mitogenome: insights from diverse honey bee populations of Europe and North Africa. *Apidologie*. 2019;50(2):111-120. doi: [10.1007/s13592-019-00632-9](https://doi.org/10.1007/s13592-019-00632-9)
  36. Ruttner F. Biogeography and taxonomy of honey bees. Berlin: Springer-Verlag; 1988. 284 p.
  37. Avdeev NV, Makarova NE, Petukhov AV. Vyyavlenie urovnya “geneticheskogo zagryazneniya” po kharakteristikam zhilkovaniya kryla [Identifying the level of “genetic pollution” by wing venation characteristics]. *Pchelovodstvo = Beekeeping*. 2009;7:21-24. In Russian
  38. Alpatov VV. Porody medonosnoy pchely [Honey bee breeds]. Moscow: Izdatel'stvo Moskovskogo obshchestva ispytateley prirody Publ.; 1948. 183 p. In Russian
  39. Cauia E, Usurelu D, Magdalena LM, Cimponeriu D, Apostol P, Siceanu A, Holban A. Preliminary researches regarding the genetic and morphometric characterization of honeybee (*A. mellifera* L.) from Romania. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2008;41(2):278-286.
  40. Nikonorov YuM, Ben'kovskaya GV, Poskryakov AV, Nikolenko AG, Vakhitov VA. The use of the PCR technique for control of the pure-breeding of honeybee (*Apis mellifera mellifera* L.) colonies from the Southern Urals. *Russian J Genetics*. 1998;34(11):1344-1347.

41. Solignac M, Vautrin D, Loiseau A, Mougel F, Baudry E. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) genome. *Molecular Ecology Notes*. 2003;3:307-311. doi: [10.1046/j.1471-8286.2003.00436.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00436.x)
42. Zhivotovsky LA. Statisticheskie metody analiza chastot genov v prirodnykh populyatsiyakh [Statistical methods for analyzing gene frequencies in natural populations]. In: *Itogi nauki i tekhniki. Obshchaya genetika* [Results of science and technology. General genetics]. Moscow: VINITI Publ.; 1983;8:76-104. In Russian
43. Peakall R, Smouse P.E. GenALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population Genetic Software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 2006;6:288-295.
44. Ilyasov RA, Poskryakov AV, Petukhov AV, Nikolenko AG. Molecular genetic analysis of five extant reserves of black honeybee *Apis mellifera mellifera* in the Urals and the Volga region. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(8):828-839. doi: [10.1134/S1022795416060053](https://doi.org/10.1134/S1022795416060053)
45. Russian Association for Conservation *Apis mellifera mellifera* L. (RACAMM). [Electronic resource]. Available at: <http://apis-mellifera-mellifera-l.ru/novosti/v-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferenciya.html> (accessed 25.08.2019). In Russian
46. Bourgeois L, Beaman L. Tracking the genetic stability of a honey bee (Hymenoptera: Apidae) breeding program with genetic markers. *J Economic Entomology*. 2017;110(4):1419-1423. doi: [10.1093/jee/tox175](https://doi.org/10.1093/jee/tox175)

Received 27 March 2019; Revised 2 July 2019;

Accepted 15 August 2019; Published 27 September 2019

**Author info:**

**Ostroverkhova Nadezhda V**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of Invertebrate Zoology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9837-4905>

E-mail: [nvostrov@mail.ru](mailto:nvostrov@mail.ru)

**Rosseykina Svetlana A**, Junior Researcher of “Apis” Center, Department of Invertebrate Zoology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: [rosseykina75@mail.ru](mailto:rosseykina75@mail.ru)

**Konusova Olga L**, Senior Lecturer, Department of Invertebrate Zoology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: [olga.konusova@mail.ru](mailto:olga.konusova@mail.ru)

**Kucher Aksana N**, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Cytology and Genetics, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3824-3641>

E-mail: [aksana.kucher@medgenetics.ru](mailto:aksana.kucher@medgenetics.ru)

**Kireeva Tatyana N**, Research Assistant, Laboratory of Plant Physiology and Biotechnology, Siberian Botanical Garden, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: [emilia30@mail.ru](mailto:emilia30@mail.ru)