



**ОЦЕНКА ГЕНОФОНДА ТЕМНОЙ ЛЕСНОЙ ПЧЕЛЫ *APIS MELLIFERA MELLIFERA*
В БИОСФЕРНОМ РЕЗЕРВАТЕ «БАШКИРСКИЙ УРАЛЬ»**

^{1,2}Ильясов Р.А. *, ¹Юмагузин Ф.Г., ²Даниленко В.Н., ³Галин Р.Р., ¹Кононенко Т.В.,
¹Ганиева И.Н., ⁴Квон Х.В., ⁵Саттаров В.Н., ¹Янбаев Ю.А.

¹Башкирский государственный аграрный университет, 450001, Уфа, ул. 50-летия Октября, д. 34.

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119333, Москва, ул. Губкина, д. 3.

³Государственный природный биосферный заповедник «Шульган-Таш», 453585, Республика Башкортостан,
Бурзянский р-н, д Ирگزлы, Заповедная ул., д.14.

⁴Инчхонский национальный университет, 22012, Инчхон, Ёнсу-гу, Академи-ро, 119, Республика Корея.

⁵Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, 450000, Республика Башкортостан, г.
Уфа, ул. Октябрьской революции, д. 3а.

* E-mail: apismell@hotmail.com

Резюме

Генофонд аборигенной популяции темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* постепенно утрачивается за счет спонтанной интрогрессивной гибридизации с пчелами южных подвидов, которые завозятся в лесную и лесостепную зоны для коммерческого пчеловодства. Целью исследования является оценка эффективности сохранения генофонда темной лесной пчелы *A. m. mellifera* в биосферном резервате «Башкирский Урал» с использованием генетических маркеров. Показано, что вариант *Q* локуса *COI-COII* мтДНК, характеризующий южные подвиды пчел, встречается с незначительной частотой в семьях пчел на территории биосферного резервата «Башкирский Урал». Вариант *PQQ* локуса *COI-COII* мтДНК встречается с высокой частотой у пчел в бортях и колодах. Доля митотипа *Q* значительно выше на пасеках, а также в бортях и колодах на участках резервата без строгого режима охраны. При использовании девяти микросателлитных локусов выявлена тенденция к увеличению аллельного разнообразия в локальных популяциях с более высокой встречаемостью митотипа *Q*. На основании выявленных закономерностей предлагаются стратегии совершенствования мероприятий по сохранению генофонда популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera*.

Ключевые слова: генофонд, медоносная пчела, *A. m. mellifera*, генетические маркеры, митохондриальная ДНК, биосферный резерват «Башкирский Урал».

Цитирование: Ильясов Р.А., Юмагузин Ф.Г., Даниленко В.Н., Галин Р.Р., Кононенко Т.В., Ганиева И.Н., Квон Х.В., Саттаров В.Н., Янбаев Ю.А. Оценка генофонда темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* в биосферном резервате «Башкирский Урал» // *Biomics*. 2022. Т.14(4). С.340-348. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-35

© Авторы

**EVALUATION OF THE GENE POOL OF THE DARK FOREST BEE
APIS MELLIFERA MELLIFERA IN THE BIOSPHERE RESERVE "BASHKIR URALS"**

^{1,2}Ilyasov R.A. *, ¹Yumaguzhin F.G., ²Danilenko V.N., ³Galim R.R., ¹Kononenko T.V.,
¹Ganieva I.N., ⁴Kwon H.W., ⁵Sattarov V.N., ¹Yanbaev Y.A.

¹Bashkir State Agrarian University, 450001, Russia, Ufa, 50-letiya Oktyabrya str. 34.

²Vavilov Institute of General Genetics RAS, 119333, Russia, Moscow, Gubkina str. 3.

³State Natural Biosphere Reserve «Shulgan-Tash»,

453585, Republic of Bashkortostan, Burzyansky district, Irgizly, Zapovednaya st., 14.

⁴Incheon National University, 22012, Incheon, Yeonsu-gu, Academy-ro, 119, Republic of Korea.

⁵Bashkir State Pedagogical University named after M. Akmulla, 450000, Russia, Ufa, st. October Revolution, 3a.

* E-mail: apismell@hotmail.com

Resume

The gene pool of the native population of the dark forest bee *Apis mellifera mellifera* is gradually being lost due to spontaneous introgressive hybridization with bees of the southern subspecies, which are imported into the forest and forest-steppe zones for commercial beekeeping. The aim of the study is to evaluate the effectiveness of preserving the gene pool of the dark forest bee *A. m. mellifera* in the biosphere reserve "Bashkir Urals" using genetic markers. It has been shown that the *Q* variant of the mtDNA of the *COI-COII* locus, which characterizes the southern subspecies of bees, occurs with an insignificant frequency in bee colonies on the territory of the Bashkir Urals Biosphere Reserve. The *PQQ* variant of the locus *COI-COII* mtDNA occurs with a high frequency in bees nesting in natural and artificial nest in tree trunks. The proportion of the *Q* mitotype is significantly higher in apiaries, as well as in natural and artificial nest in tree trunks in areas of the reserve without a strict protection regime. When using nine microsatellite loci, a tendency to an increase in allelic diversity in local populations with a higher occurrence of the *Q* mitotype was revealed. Based on the identified patterns, strategies are proposed to improve measures to preserve the gene pool of the population of the dark forest bee *A. m. mellifera*.

Keywords: gene pool, honey bee, *Apis m. mellifera*, genetic markers, mitochondrial DNA, the biosphere reserve "Bashkir Urals".

Citation: Ilyasov R.A., Yumaguzhin F.G., Danilenko V.N., Galin R.R., Kononenko T.V., Ganieva I.N., Kwon H.W., Sattarov V.N., Yanbaev Y.A. Evaluation of the gene pool of the dark forest bee *Apis mellifera mellifera* in the biosphere reserve "Bashkir Urals". *Biomics*. 2022. V.14(4). P. 340-348. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-35 (In Russian)

© Authors

Введение

Медоносная пчела *Apis mellifera* L. представляет собой вид, имеющий глобальное экономическое и экологическое значение. Подвид медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* имеет самый северный ареал, который охватывает страны северной и западной Европы, включая Россию. Наиболее известной популяцией темной лесной пчелы в России является бурзянская популяция пчел [Ильясов и др. (Ilyasov et al.), 2016], которая расположена в Республике Башкортостан на Южном Урале. Бортевые пчелы этой популяции обладают хорошей зимостойкостью [Nikolenko, Poskryakov, 2002] и уникально приспособлены к интенсивному сбору меда с цветов липы сердцевидной [Sultanova et al., 2019].

Сегодня только около 1% пчелиных семей Южного Урала разводятся в бортях и колодах [Гранкин и др. (Grankin et al.), 2004; Ilyasov, Kwon, 2020]. Для сохранения этого древнего башкирского бортевого пчеловодства в 2012 году на площади около 450 км² был создан биосферный резерват ЮНЕСКО «Башкирский Урал» (<https://whc.unesco.org/en/tentativelists/5666/>). В его состав входят Государственный природный биосферный заповедник «Шульган-Таш»,

национальный парк «Башкирия», энтомологические заказники «Алтын солок» и «Икский».

Глобальные климатические изменения, фрагментация среды обитания, сокращение природных ресурсов, химизация сельского хозяйства и рост заболеваний являются основными факторами снижения качества пчеловодства в России [Ilyasov et al., 2007]. Под воздействием негативных факторов количество пчелиных семей с 1965 г. сократилось почти вдвое и к 2015 г. снизилось до 3,5 млн семей [Ilyasov, Kwon, 2020]. Эти факторы в меньшей степени повлияли на бурзянскую популяцию пчел благодаря ее обитанию в отдаленных горных лесах с очень низкой плотностью населения [Бородачев, Савушкина (Borodachyev, Savushkina), 2012]. Однако неконтролируемая интрогрессивная гибридизация представляет большую опасность для генофонда этой популяции. Эта проблема возникла из-за широкого использования местными пчеловодами таких подвидов, как *A. m. caucasia*, *A. m. carpathica*, *A. m. carnica* [Jensen, Pedersen, 2005]. Процесс приводит к потере основных хозяйственно-полезных признаков бурзянской популяции пчел, таких как зимостойкость и устойчивость к болезням, в том числе к варроатозу [Ilyasov, Kwon, 2020].

Развитие молекулярной генетики открыло принципиально новые возможности в сохранении генофондов популяций пчел [Pinto et al., 2004; Muñoz et al., 2015]. В то же время, несмотря на появление новых поколений генетических маркеров, локус *COI-COII* мтДНК с материнским типом наследования до сих пор успешно используется для выявления интрогрессивной гибридизации генов у разных подвидов [Nikolenko, Poskryakov, 2002]. Вариант *PQQ* характерен для эволюционной ветви М, куда входит темная лесная пчела, тогда как альтернативный вариант *Q* характеризует южные подвиды пчел [Шуасов, Kwon, 2020]. Микросателлитные локусы являются еще одним популярным генетическим инструментом из-за их высокого полиморфизма [Estoup et al., 1995; Solignac et al., 2003; Henriques et al., 2018]. Кодоминантность микросателлитных маркеров позволяет выявить гетерозиготы, доля которых увеличивается при гибридизации [Шуасов and Kwon, 2020]. Целью исследования являлась оценка эффективности

мероприятий по сохранению генофонда темной лесной пчелы в биосферном резервате «Башкирский Урал» на основе полиморфизма локуса *COI-COII* мтДНК и девяти микросателлитных локусов.

Материалы и методы

Сбор образцов

Географическое расположение района исследований показано на карте (рис. 1). Ядро бурзянской популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera* расположено на западном макросклоне Южного Урала. В 2021 г. для молекулярно-генетического анализа отобрали по одной рабочей пчеле из 672 семей. Все генотипы, выявленные с помощью ядерных и митохондриальных генетических маркеров, были проанализированы в нескольких вариантах сочетаний образцов (табл. 1) в зависимости от типа разведения пчел в биосферном резервате ЮНЕСКО «Башкирский Урал».



Рисунок 1. Республика Башкортостан и биосферный резерват «Башкирский Урал» на карте России.
Figure 1. The Republic of Bashkortostan and the biosphere reserve "Bashkir Urals" on the map of Russia.

Четыре ландшафтные зоны, представленные образцами *ZONA1* - *ZONA4*, расположены на относительно больших высотах над уровнем моря (от 350 до 640 м) в междуречьях и водоразделах местных рек. В этих пересеченных районах пчелиные семьи содержались только в бортях и колодах. Их сравнивали со всеми остальными пчелами, выборка *OSTALNYE2*, обитающими в долинах рек в условиях, доступных для содержания пасек и летнего кочевого пчеловодства.

Группа I была сформирована путем разделения всех генотипов на семьи из бортей, колод (*BORTI*) и пасек (*PASEKI*). В ареале бурзянской популяции пчел местное население имеет ограничения для ведения пчеловодства, от полного запрета в «Шульган-Таш»,

умеренных ограничений в национальном парке «Башкирия» и заказнике «Алтын солок», до отсутствия ограничений в Бурзянском лесхозе. Группа II была сформирована из пчел на территориях четырех организаций, включающих выборки *ALTYN*, *BASHKIR*, *BURZYAN*, *SHULGAN*, соответственно. Группа III была сформирована путем разделения популяции заказника «Шульган-Таш» на Бельскую (*BELSK*) и Нугушскую охранные зоны (*NUGUSH*), различающиеся режимами деятельности и близостью к псекам, а также выборкой *OSTALNYE1*, включающей всех пчел, не входящих в выборки *BELSK* и *NUGUSH*. Группа IV была сформирована для сохранения генофонда в разных местах обитания (табл. 1).

Таблица 1.

Частоты альтернативных вариантов гена *COI-COII* мтДНК в группах образцов пчел
Table 1 - Frequencies of alternative variants of the *COI-COII* mtDNA gene in groups of bee samples

Группы пчел Bee groups	Число образцов Number of samples	Сокращения Abbreviations	Число / Number		Частоты Frequencies	
			<i>PQQ</i>	<i>Q</i>	<i>PQQ</i>	<i>Q</i>
I	1	<i>BORTI</i>	54	3	0,947	0,053
	2	<i>PASEKI</i>	64	27	0,703	0,297
II	3	<i>ALTYN</i>	21	0	1,0	0
	4	<i>BASHKIR</i>	15	17	0,469	0,531
	5	<i>BURZYAN</i>	7	0	1,0	0
	6	<i>SHULGAN</i>	76	12	0,864	0,136
III	7	<i>NUGUSH</i>	40	52	0,435	0,565
	8	<i>BELSK</i>	34	0	1,0	0
	9	<i>OSTALNYE1</i>	44	18	0,709	0,291
IV	10	<i>ZONA1</i>	10	0	1,0	0
	11	<i>ZONA2</i>	10	0	1,0	0
	12	<i>ZONA3</i>	10	0	1,0	0
	13	<i>ZONA4</i>	11	0	1,0	0
	14	<i>OSTALNYE2</i>	117	30	0,744	0,256

Полимеразная цепная реакция

Исследованный ранее полиморфизм в межгенном локусе *COI-COII* митохондриальной ДНК (мтДНК) и микросателлитных локусах [Nikolenko, Poskryakov, 2002; Пуясов, Kwon, 2020; Пуясов et al., 2020] использовали для оценки уровня интрогрессивной гибридизации южных подвидов с бурзянской популяцией темной лесной пчелы. В локусе *COI-COII* мтДНК определялись частоты варианта *PQQ* и его альтернативного варианта *Q*, которые характерны для темной лесной и южных подвидов пчел, соответственно [Nikolenko, Poskryakov, 2002]. Генетическую изменчивость в тех же группах пчел определяли также

по девяти микросателлитным локусам *ap243*, *4a110*, *A24*, *A8*, *A43*, *A113*, *A88*, *Ap049* и *A28* [Estoup et al., 1995; Solignac et al., 2003; Haberl, Tautz, 1999], вычисляя гетерозиготность и количество аллелей на локус.

ДНК выделяли из грудных мышц рабочих пчел с помощью набора «ДНК-ЭКСТРАН 2» (<http://www.syntol.ru>). Качество и количество выделенной ДНК анализировали на спектрофотометре NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, США). Микросателлитные локусы и локус *COI-COII* мтДНК амплифицировали в термоциклере Bio-Rad T100 (Bio-Rad, США) по протоколу SILEX (<http://www.sileks.com/ru>).

Разделение продуктов амплификации после полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили в 1,5% агарозном (локус *COI-COI* мтДНК) и 8% полиакриламидном гелях (микросателлитные локусы). После электрофореза гели окрашивали в растворе бромистого этидия, просматривали и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм с помощью систем Vilber Lourmat и DocPrint (Vilber Lourmat, Франция).

Гипотезы о равенстве пар выборок по частоте вариантов *PQQ* и *Q* гена *COI-COI* мтДНК были статистически проверены путем сравнения долей встречаемости генетических маркеров. Описательную статистику проводили с помощью инструментов программы STATISTICA 13.3. Наблюдаемая гетерозиготность и аллельное разнообразие в микросателлитных локусах рассчитывалась с помощью программы Arlequin v3.5.2.2. [Excoffier, Lischer, 2010].

Результаты

Полиморфизм межгенного локуса *COI-COI* мтДНК

В общей выборке из 672 пчелиных семей 513 (76,3%) были носителями варианта *PQQ* гена *COI-COI* мтДНК, характерного для *A. m. mellifera*. Доля альтернативного варианта *Q* (табл. 1), который представляет южные подвиды пчел, значительно варьировала в зависимости от различных методов управления пчеловодством и охраны. Фрагмент *PQQ* зафиксирован в семьях пчел ландшафтных зон *ZONA1* – *ZONA4* в условиях относительно больших высот над уровнем моря в междуречьях и водоразделах местных рек, пересеченной и труднодоступной местности, отсутствия пасек и летнего кочевого пчеловодства.

Митотип *Q*, характерный для южных подвидов пчел, встречается приблизительно в 5,5 раза чаще в пространственно удаленных и обособленных бортиях и колодах (*BORTI*), чем в плотных семьях в современных каркасных ульях (*PASEKI*). Все борти и колоды со следами этого варианта *Q* находятся в южной части резервата «Шульган-Таш», недалеко от пасек в селах. Пчелиные семьи, исследованные в заказнике «Алтын солок» (*ALTYN*) и Бурзянском лесхозе (*BURZYAN*), полностью свободны от признаков интрогрессивной гибридизации с южными подвидами пчел. Наоборот, лишь менее половины семей пасек национального парка «Башкирия» (*BASHKIR*) являлись носителями варианта *PQQ* гена *COI-COI* мтДНК темной лесной пчелы. Режим этого парка не запрещает местному населению заниматься хозяйственной деятельностью, а

коммерческая торговля пчелами с других территорий контролируется менее строго.

Доля митотипа *Q* уменьшается в заповеднике «Шульган-Таш» (*SHULGAN*) и встречается в основном на южной границе территории, прилегающей к национальному парку «Башкирия» (*BASHKIR*). Доля варианта гена относительно высока в Нугушском районе заповедной зоны (*NUGUSH*), также соседствующем с национальным парком «Башкирия». Этот генетический маркер, однако, не был обнаружен в северной части Бельской охранной зоны (*BELSK*). Различия в долях вариантов *PQQ* и *Q* в большинстве попарных сравнений были статистически значимы.

Генетическая вариация микросателлитных локусов

Средняя наблюдаемая гетерозиготность по 9 микросателлитным локусам составила $H_o = 0,329 \pm 0,049$ (изменение параметра в пределах $H_o = 0,149 - 0,595$, коэффициент вариации 22,9%). Различия по этому показателю в группах с I по IV были слабыми и статистически недостоверными (табл. 2). Выявлена тенденция, что распределение наблюдаемой гетерозиготности пчел ближе к биномиальной кривой в выборках с более высокой долей или доминированием варианта *PQQ* гена *COI-COI* мтДНК (*BORTI*, *SHULGAN*, *ALTYN*, *BELSK*). Напротив, распределение более асимметрично в выборках со сравнительно большим участием варианта *Q*.

Однако биномиальное распределение наблюдаемой гетерозиготности статистически подтверждается только в выборке *BORTI* (коэффициент асимметрии $As = 0,043$), где гетерозиготность и медиана ($H_o = 0,333$) практически совпали (табл. 2). В то же время медиана (0,222) была относительно ниже средней гетерозиготности в выборке *PASEKI* (различия статистически недостоверны, $P = 0,091$). Эти два значения различаются тем, что распределение особей по гетерозиготности в группе имеет правостороннюю асимметрию, с показателем $As = -0,221$. Различия между двумя распределениями статистически значимы ($P < 0,05$). Распределение параметра H_o по микросателлитным локусам в группах II–IV с преобладанием варианта *PQQ* (образцы *SHULGAN*, *ALTYN*, *BELSK*, *ZONA1*–*ZONA4*) ближе к биномиальному по сравнению с образцами с большей долей альтернативного варианта *Q* (*BASHKIR*, *NUGUSH*, *OSTALNYE1* и *OSTALNYE2*). Однако эти различия статистически незначимы и представляют собой лишь тенденции, возможно, из-за относительно небольших сравниваемых размеров выборки.

Таблица 2.

Наблюдаемая гетерозиготность в группа пчел по микросателлитным локусам.

Table 2 - Observed heterozygosity in a group of bees by microsatellite loci.

Группы пчел Bee groups	Число Number	Обозначения Descriptions	Число семей Number of families	Средняя гетерозиготность Average heterozygosity	Коэффициент вариации, % Coefficient of variation, %
I	1	<i>BORTI</i>	57	0,331 ± 0,020	46,3
	2	<i>PASEKI</i>	91	0,273 ± 0,015	53,6
II	3	<i>ALTYN</i>	21	0,323 ± 0,036	53,7
	4	<i>BASHKIR</i>	32	0,357 ± 0,029	38,6
	5	<i>BURZYAN</i>	7	0,333 ± 0,034	27,2
	6	<i>SHULGAN</i>	88	0,313 ± 0,016	48,3
III	7	<i>NUGUSH</i>	92	0,320 ± 0,026	48,1
	8	<i>BELSK</i>	34	0,327 ± 0,023	50,6
	9	<i>OSTALNYE1</i>	62	0,319 ± 0,019	46,7
IV	10	<i>ZONA1</i>	10	0,361 ± 0,014	40,4
	11	<i>ZONA2</i>	10	0,365 ± 0,013	40,3
	12	<i>ZONA3</i>	10	0,362 ± 0,015	40,5
	13	<i>ZONA4</i>	11	0,364 ± 0,012	40,1
	14	<i>OSTALNYE2</i>	147	0,313 ± 0,014	49,6

Выявлена закономерность стабильного увеличения среднего числа аллелей во всех локальных популяциях с более высокими частотами митотипа *Q* южных подвидов пчел (I группа 3,22 против 2,89; II группа 3,00 до 3,11 против 2,29 до 2,56; III группа 3,11 против 2,89 до 3,00 и группа IV, 3,33 против 2,89). Это не является результатом наличия частых аллелей у пчел с двумя разными митотипами. Анализ состава генотипов позволил установить, что они в основном формируются у большинства пчел по трем относительно частым аллелям в каждом из микросателлитных локусов. Из остальных пяти редких вариантов (с частотой менее 0,05) два встречаются по локусам *A113* и *A88* как в бортях и колодах, так и на пасеках (от 1,8 до 7,1% особей). Хотя пчелы из бортей и колод не имеют специфических редких аллелей, пасечные ульи с более высокой частотой митотипа *Q* имеют 3 уникальных варианта.

Обсуждение

В пчеловодстве активно обсуждаются вопросы о влиянии различных методов его ведения на динамику сохранения генетического разнообразия в генофонде местных популяций пчел [Charman et al., 2009; Dietemann et al., 2009; Vouga et al., 2011]. Результаты данного исследования подтверждают точку зрения о

том, что необходим внимательный подход к методам пчеловодства, которые влияют на поток генов в эндемичных популяциях [De la Rúa et al., 2012]. Выявлена достоверно более высокая встречаемость митотипа *Q* локуса *COI-COII* мтДНК, представляющего южные подвиды пчел, на участках биосферного резервата «Башкирский Урал» с менее строгими практиками охраны и умеренными ограничениями в ведении пчеловодства, что свидетельствует о низкой эффективности сохранения генофонда аборигенной бурзянской популяции темной лесной пчелы при отсутствии генетической изоляции.

Не было обнаружено ассоциаций между величиной интрогрессивной гибридизации темной лесной пчелы бурзянской популяции с южными подвидами по частотам митотипов локуса *COI-COII* мтДНК и увеличением уровней наблюдаемой гетерозиготности по микросателлитным локусам. Наблюдаемая гетерозиготность по микросателлитным маркерам была неожиданно выше в популяции темной лесной пчелы бурзянской популяции. Считающиеся частыми и редкими аллели микросателлитных локусов были представлены с одинаковой частотой как в популяциях с доминированием варианта *PQQ* локуса *COI-COII* мтДНК, характерного для *A. m. mellifera*, так и с наличием варианта *Q*, генетического маркера южных

подвидов медоносной пчелы [Nikolenko, Poskryakov, 2002]. Выявлена также тенденция увеличения аллельного разнообразия микросателлитных локусов на участках исследуемой территории с менее строгими режимами сохранения и большей встречаемостью митотипа *Q* южных подвидов. Выявленные ранее данные о том, что генетическое разнообразие возрастает в результате применения специальных методов управления пчеловодством [Harpur et al., 2012], таким образом, подтвердились в случае бурзянской популяции темной лесной пчелы.

Результаты исследования показывают строгое влияние практики сохранения генофонда и типа пчеловодства на состав и структуру генофонда популяции и согласуются с результатами других исследований [Kükreger et al., 2021]. Влияние антропогенных факторов на генетическое разнообразие в популяциях медоносных пчел исследовали в Турции на основе микросателлитных локусов. С использованием 30 микросателлитных локусов изучено влияние кочевого пчеловодства, торговли пчелами и охранных мероприятий на структуру генофонда аборигенных популяций пчел и выявлены существенные различия между стационарными и кочевыми популяциями, выявлен гомогенизирующий эффект кочевого пчеловодства, наблюдалась сильная интрогрессивная гибридизация с пчелами подвида *A. m. caucasia* [Kükreger et al., 2021]. Авторами предложено создание буферных зон на изолированных территориях, запрет на торговлю пчелами и подсадку неместных маток, а также необходимости проведения молекулярно-генетического мониторинга в целях сохранения генофонда [Kükreger et al., 2021]. Большинство рекомендаций более ранних работ этого и других исследований [Chapman et al., 2009; Dietemann et al., 2009; Vouga et al., 2011; De la Rúa et al., 2012] могут быть адаптированы для бурзянской популяции *A. m. mellifera* с учетом ее специфики и генетических данных, полученных в нашем исследовании. Два десятилетия назад в Республике Башкортостан соотношение местных и интродуцированных пчел было почти равным, а доля завезенных подвидов в Бурзянском районе была оценена по локусу *COI-COII* мтДНК всего в 2% [Nikolenko, Poskryakov, 2002]. Было обнаружено, что с тех пор эта доля южных генов стала почти в 9 раз выше на исследуемой территории. Такие изменения могут привести к потере ценных качеств и местных адаптаций.

Как показала генетическая оценка, локальные методы сохранения генофонда и методы пчеловодства не могут эффективно предотвратить интрогрессию

генов южных подвидов в бурзянскую популяцию *A. m. mellifera*. По этой причине требуются дополнительные меры для замедления дальнейшей деградации генофонда популяции и увеличения доли аборигенной темной лесной пчелы. Селекционные работы лучше проводить на основе семей от бортей и колод из отдаленных ландшафтно-охранных зон изучаемых резерватов, где еще нет следов интрогрессивной гибридизации и генов южных подвидов пчел.

Семьи бурзянской популяции темной лесной пчелы с выявленными следами интрогрессивной гибридизации с южными подвидами нуждаются в замене. Периодический и повсеместный мониторинг генотипического состава семей пчел, как в условиях бортевого пчеловодства, так и на пасеках Бурзянского района Республики Башкортостан может способствовать снижению процессов интрогрессивной гибридизации. Простота использования локуса *COI-COII* мтДНК для этих целей представляется более практичной в современных российских условиях. В то же время тестирование всех доступных микросателлитных локусов [Plyasov et al., 2017] на диких бурзянских пчелах может стать многообещающим решением для разработки более информативных популяционно-специфических генетических маркеров. Использование генетических маркеров нового поколения [Muñoz et al., 2015; Plyasov et al., 2017] может привести к появлению передовых инструментов генетического мониторинга генофонда бурзянской популяции темной лесной пчелы.

Наше исследование показывает, что принятые меры по сохранению и используемые методы пчеловодства в регионе распространения темной лесной пчелы *A. m. mellifera* башкирской популяции недостаточны для предотвращения потока генов в генофонд аборигенной пчелы из-за интрогрессивной гибридизации с южными подвидами в результате интродукции в Республику Башкортостан. Хотя результаты относятся в первую очередь к аборигенной башкирской популяции темной лесной пчелы, в более широком смысле результаты исследования могут помочь решить проблемы сохранения аборигенных популяций медоносной пчелы других регионов и способствовать сохранению их местных адаптаций и ценных характеристик.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) (Грант № 19-54-70002 e-Asia_t).

Литература

1. Бородачев А.В., Савушкина Л.Н. Сохранение и рациональное использование генофонда пород медоносной пчелы // Пчеловодство. 2012. №4. С.3–5. (Borodachev AV, Savushkina LN. Sokhraneniye i effektivnoye ispolzovaniye genofonda porod medonosnoy pchely. Pchelovodstvo 2012;4:3–5.).
2. Ильясов Р.А., Николенко А.Г., Сайфуллина Н.М. Темная лесная пчела *Apis mellifera mellifera* L. Республики Башкортостан. Москва, Россия: Товарищество научных изданий КМК, 2016. 320 с. (Ilyasov RA, Nikolenko AG, Sayfullina NM. Temnaya lesnaya pchela *Apis mellifera mellifera* L. Respubliki Bashkortostan. Moskva, Rossiya: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2016:320.).
3. Гранкин Н.Н., Сафиуллин Р.Р., Стехин С.З. Сохранить генофонд среднерусских пчел // Пчеловодство. 2004. №4. С.16–18. (Grankin NN, Safullin RR, Stekhin SZ. Sokhranit genofond srednerusskikh pchel. Pchelovodstvo 2004;4:16–18.).
4. Bouga M, Alaux C, Bienkowska M, et al. A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping // J Apic Res 2011. V.50. P.51–84.
5. Chapman NC, Lim J, Oldroyd BP. Population genetics of commercial and feral honey bees in Western Australia // J Econ Entomol. 2008. V.101. P.272–277.
6. De la Rúa P, Jaffé R, Dall'Olio R, Muñoz I, Serrano J. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees // Apidologie. 2009. V.40. P.263–284.
7. De la Rúa P, Jaffé R, Muñoz I, Serrano J, Moritz RFA, Kraus BF. Conserving genetic diversity in the honeybee: Comments on Harpur et al. (2012) // Mol Ecol. 2013. V.22. P.3208–3210.
8. Dietemann V, Pirk CWW, Crewe RM. Is there a need for conservation of honeybees in Africa? // Apidologie. 2009. V.40. P.285–295.
9. Estoup A, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: Hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models // Genetics. 1995. V.140. P.679–695.
10. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Mol Ecol Resour. 2010. V.10. P.564–567.
11. Haberl M, Tautz D. Tri- and tetranucleotide microsatellite loci in honey bees (*Apis mellifera*) – a step towards quantitative genotyping // Mol Ecol. 1999. V.8. P.1358–1360.
12. Harpur BA, Minaei S, Kent CF, Zayed A. Management increases genetic diversity of honey bees via admixture // Mol Ecol. 2012. V.21. P.4414–4421.
13. Henriques D, Parejo M, Vignal A, et al. Developing reduced SNP assays from whole-genome sequence data to estimate introgression in an organism with complex genetic patterns, the Iberian honeybee (*Apis mellifera iberiensis*) // Evol Appl. 2018. V.11. P.1270–1282.
14. Ilyasov RA, Kwon HW, eds. Phylogenetics of Bees. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2020.
15. Ilyasov RA, Lee ML, Yunusbaev U, Nikolenko A, Kwon HW. Estimation of C-derived introgression into *A. m. mellifera* colonies in the Russian Urals using microsatellite genotyping // Genes Genomics. 2020. V.42. P.987–996.
16. Ilyasov RA, Petukhov AV, Poskryakov AV, Nikolenko AG. Local honeybee (*Apis mellifera mellifera* L.) populations in the Urals // Russ J Genet. 2007. V.43. P.709–711.
17. Ilyasov RA, Poskryakov AV, Nikolenko AG. Modern methods of assessing the taxonomic affiliation of honeybee colonies // Ecol Genet. 2017. V.15. P.41–51.
18. Jensen AB, Pedersen BV. Honeybee conservation: A case story from Læsø Island, Denmark. In: Lodesani M, Costa C, eds. Beekeeping and Conserving Biodiversity of Honeybees. Sustainable Bee Breeding. Hebden Bridge: UK, Northern Bee Books. 2005. P.142–164.
19. Kükroer M, Kence M, Kence A. Honey bee diversity is swayed by migratory beekeeping and trade despite conservation practices: Genetic evidence for the impact of anthropogenic factors on population structure // Front Ecol Evol. 2021. V.9. doi: 10.3389/fevo.2021.556816
20. 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. V.10. e0124365. doi: 10.1371/journal.pone.0124365
21. Nikolenko AG, Poskryakov AV. Polymorphism of locus *COI-COII* мтДНК of mitochondrial DNA in the honeybee *Apis mellifera* L. from Southern Ural region // Russ J Genet. 2002. V.38. P.364–368.
22. Pinto MA, Henriques D, Chávez-Galarza J, et al. 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 Apic Sci. 2014. V.53. P.269–278.
23. Solignac M, Vautrin D, Loiseau A, et al. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome // Mol Ecol Notes. 2003. V.3. P.307–311.

24. Sultanova R, Gabitov I, Yanbaev Y, et al. Forest melliferous resources as a sustainable development factor of beekeeping // *Isr J Ecol Evol*. 2019. V.65. P.1–8.

References

1. Borodachev AV, Savushkina LN. Sokhraneniye i effektivnoye ispolzovaniye genofonda porod medonosnoy pchely. *Pchelovodstvo*. 2012. No.4. P.3–5. (In Russian).
2. Bouga M, Alaux C, Bienkowska M, et al. A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping. *J Apic Res*. 2011. V.50. P.51–84.
3. Chapman NC, Lim J, Oldroyd BP. Population genetics of commercial and feral honey bees in Western Australia. *J Econ Entomol*. 2008. V.101. P.272–277.
4. De la Rúa P, Jaffé R, Dall'Olio R, Muñoz I, Serrano J. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*. 2009. V.40. P.263–284.
5. De la Rúa P, Jaffé R, Muñoz I, Serrano J, Moritz RFA, Kraus BF. Conserving genetic diversity in the honeybee: Comments on Harpur et al. (2012). *Mol Ecol*. 2013. V.22. P.3208–3210.
6. Dietemann V, Pirk CWW, Crewe RM. Is there a need for conservation of honeybees in Africa? *Apidologie*. 2009. V.40. P.285–295.
7. Estoup A, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: Hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*. 1995. V.140. P.679–695.
8. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour*. 2010. V.10. P.564–567.
9. Grankin NN, Safiullin RR, Stekhin SZ. Sokhranit genofond srednerusskikh pchel. *Pchelovodstvo* 2004. No.4. P.16–18. (In Russian)
10. Haberl M, Tautz D. Tri- and tetranucleotide microsatellite loci in honey bees (*Apis mellifera*) – a step towards quantitative genotyping. *Mol Ecol*. 1999. V.8. P.1358–1360.
11. Harpur BA, Minaei S, Kent CF, Zayed A. Management increases genetic diversity of honey bees via admixture. *Mol Ecol*. 2012. V.21. P.4414–4421.
12. Henriques D, Parejo M, Vignal A, et al. Developing reduced SNP assays from whole-genome sequence data to estimate introgression in an organism with complex genetic patterns, the Iberian honeybee (*Apis mellifera iberiensis*). *Evol Appl*. 2018. V.11. P.1270–1282.
13. Ilyasov RA, Kwon HW, eds. Phylogenetics of Bees. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2020.
14. Ilyasov RA, Lee ML, Yunusbaev U, Nikolenko A, Kwon HW. Estimation of C-derived introgression into *A. m. mellifera* colonies in the Russian Urals using microsatellite genotyping. *Genes Genomics*. 2020. V.42. P.987–996.
15. Ilyasov RA, Nikolenko AG, Sayfullina NM. Temnaya lesnaya pchela *Apis mellifera mellifera* L. Respubliki Bashkortostan. Moskva, Rossiya: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK. 2016. 320 p. (n Russian).
16. Ilyasov RA, Petukhov AV, Poskryakov AV, Nikolenko AG. Local honeybee (*Apis mellifera mellifera* L.) populations in the Urals. *Russ J Genet*. 2007. V.43. P.709–711.
17. Ilyasov RA, Poskryakov AV, Nikolenko AG. Modern methods of assessing the taxonomic affiliation of honeybee colonies. *Ecol Genet*. 2017. V.15. P.41–51.
18. Jensen AB, Pedersen BV. Honeybee conservation: A case story from Læsø Island, Denmark. In: Lodesani M, Costa C, eds. Beekeeping and Conserving Biodiversity of Honeybees. Sustainable Bee Breeding. Hebden Bridge: UK, Northern Bee Books. 2005. P.142–164.
19. Kükrer M, Kence M, Kence A. Honey bee diversity is swayed by migratory beekeeping and trade despite conservation practices: Genetic evidence for the impact of anthropogenic factors on population structure. *Front Ecol Evol*. 2021. V.9. doi: 10.3389/fevo.2021.556816
20. 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. V.10. e0124365. doi: 10.1371/journal.pone.0124365
21. Nikolenko AG, Poskryakov AV. Polymorphism of locus *COI-COII* мтДНК of mitochondrial DNA in the honeybee *Apis mellifera* L. from Southern Ural region. *Russ J Genet*. 2002. V.38. P.364–368.
22. Pinto MA, Henriques D, Chávez-Galarza J, et al. 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 Apic Sci*. 2014. V.53. P.269–278.
23. Solignac M, Vautrin D, Loiseau A, et al. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome. *Mol Ecol Notes*. 2003. V.3. P.307–311.
24. Sultanova R, Gabitov I, Yanbaev Y, et al. Forest melliferous resources as a sustainable development factor of beekeeping. *Isr J Ecol Evol*. 2019. V.65. P.1–8.