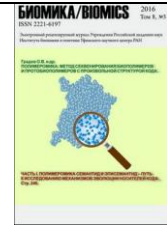




БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



НОВЫЙ ПОДХОД К СЕЛЕКЦИИ СЕМЕЙ ТЕМНОЙ ЛЕСНОЙ ПЧЕЛЫ *A. M. MELLIFERA* ПО ГЕНЕТИЧЕСКИМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ

Р.А. Ильясов, А.В. Поскряков, А.Г. Николенко

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук,
450054, г. Уфа, пр. Октября, 71. E-mail: apismell@hotmail.com

АННОТАЦИЯ

В статье нами представлен молекулярно-генетический анализ популяций и семей темной лесной пчелы *A. m. mellifera* Урала и Поволжья в сравнении с популяциями пчел «южных» подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpatica* Кавказа и Карпат на основе полиморфизма 9 микросателлитных локусов яДНК. Нами получены генетические характеристики для популяции ($H_o=0,24$, $H_s=0,23$, $H_t=0,28$, $F_{is}=0,06$, $F_{it}=0,14$, $F_{st}=0,17$) и семьи ($H_o=0,20$, $H_s=0,16$, $H_t=0,15$, $F_{is}=0,23$, $F_{it}=0,35$, $F_{st}=0,11$) темной лесной пчелы *A. m. mellifera* и предложена методика селекции семей темной лесной пчелы с интрогрессией «южных» генов не более 5%, и генетическими показателями, характерными для чистопородных семей *A. m. mellifera* ($H_o \leq 0,30$, $H_s \leq 0,30$, $H_t \leq 0,30$, $F_{is} \leq |0,45|$, $F_{it} \leq |0,55|$, $F_{st} \geq |0,11|$).

Ключевые слова: темная лесная пчела, сохранение аборигенного генофонда, *Apis mellifera mellifera*, микросателлитные локусы, сохранившиеся популяции, генетический стандарт, гетерозиготность, генетические характеристики, коэффициенты инбридинга.

ВВЕДЕНИЕ

Медоносная пчела играет важнейшую роль в поддержании биологического и таксономического разнообразия природных и антропогенных экосистем и обеспечении человека пищей и биологически активными и лекарственными веществами [Pinto et al., 2012]. Экосистемы северных регионов России, а также Урала и Поволжья особенно сильно зависят от опылительной деятельности пчел. Пчела подвида *A. m. mellifera*, называемая темной лесной пчелой, является аборигенной для этого региона, максимально приспособленной к местным факторам окружающей среды и экономически выгодной для разведения в этих условиях. Угроза потери генофонда *A. m. mellifera*, в первую очередь, обусловлена гибридизацией с подвидами из южных регионов России в результате их массовой интродукции. Сохранение генофонда местных пчел становится возможным только при наличии методов, дифференцирующих подвиды [Nedic et al., 2014]. Отсюда идентификация сохранившихся популяций и селекция семей темной лесной пчелы в условиях массовой гибридизации и повышенной смертности становятся актуальными [Ильясов и др., 2015а].

Деятельность человека оказывает

существенное влияние на распространение медоносной пчелы *Apis mellifera*. Из 30 известных подвидов пчел, распространенных на всей территории Старого Света, 24 аллопатрических подвида населяют Европу [Ruttner 1988; Hepburn, Radloff, 1998; Engel, 1999; Sheppard, Meixner, 2003; Meixner et al., 2011; Ильясов и др., 2015б]. Из всех европейских пчел только темная лесная пчела *Apis mellifera mellifera* приспособлена к обитанию в условиях резкоконтинентального климата Северной Европы с длительными морозными зимами. Межрегиональные транспортировки пчел привели к фрагментации, сокращению численности аборигенных популяций пчел и смешению подвидов [Ruttner 1988; Garnery et al., 1998; Franck et al., 2001; De la Rua et al., 2002; Schneider et al., 2004; Jensen et al., 2005].

За последние 100 лет, в результате массовых транспортировок подвидов пчел, таких как *A.m.ligustica*, *A.m.carnica*, *A.m.carpatica*, *A.m.caucasica*, *A.m.cecropia*, относящихся к эволюционной ветви С, из Восточной и Южной Европы в Северную и Западную, аборигенный генофонд популяции темной лесной пчелы был значительно поврежден [Bouga et al., 2005; Uzunov et

al., 2009; Stevanovic et al., 2010; Uzunov et al., 2014].

Темная лесная пчела *A.m.mellifera*, представитель эволюционной ветви М [Jensen et al., 2005; Whitfield et al., 2006; Soland-Reckeweg et al., 2009; Oleksa et al., 2011; Pinto et al., 2014; Wallberg et al., 2014], на сегодняшний день признана подвидом, находящимся под угрозой вымирания в результате массовой интрогрессии генофонда подвидов пчел эволюционной ветви С [Jensen et al., 2005; Muñoz et al., 2009; Soland-Reckeweg et al., 2009; Oleksa et al., 2011; Nedić et al., 2014; Pinto et al., 2014; Uzunov et al., 2014].

Исследования последних лет показали, что в Европе сохранились небольшие изоляты темной лесной пчелы с той или иной степенью интрогрессии южных генов. А. Oleksa et al. [2011] на основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов A7, A24, A28, A88, A113, Ap43, Ap55, Ap66, Ap81 показали до 30% интрогрессии аллелей южных подвидов в популяциях темной лесной пчелы *A.m.mellifera* в Восточной Польше. А.В. Jensen et al. [2005] на основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов A7, A8, A24, A28, A43, A88, A113, Ap36, Ap43, B124, A79 обнаружили в популяциях северного экотипа «Brown» темной лесной пчелы в Скандинавских странах до 10% интрогрессии аллелей южных подвидов. G. Soland-Reckeweg et al. [2009] на основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов A007, A28, A43, Ac306, Ap33, Ap273, Ap226, Ap289, B24, A29, A76, Ap1 показали до 70% интрогрессии аллелей южных подвидов в популяциях альпийского экотипа «Nigra» темной лесной пчелы. J.P. Strange et al. [2008] на основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов A7, A24, A28, A88, A113, B124, Ap43, Ap55, Ap66, Ap81 показали до 20% интрогрессии аллелей южных подвидов в популяциях экотипа «Landes» темной лесной пчелы во Франции. А.Г. Николенко, А.В. Поскряков [2002] и Р.А. Ильясов с соавт. [2007] на основе анализа полиморфизма локуса COI-COII мтДНК показали до 2% интрогрессии в популяции «Бурзянского» экотипа темной лесной пчелы в Республике Башкортостан. Оценка уровня интрогрессии южных генов в популяции «Бурзянского» экотипа темной лесной пчелы по ядерному геному ранее не проводилась. Таким образом, все сохранившиеся изоляты темной лесной пчелы в Европе содержат следы интрогрессии южных подвидов эволюционной ветви С.

Риск загрязнения аборигенного генофонда темной лесной пчелы постоянно растет как в России, так и в Европе по причине интенсификации сельского хозяйства и отсутствия эффективного законодательного регулирования пчеловодства. В

результате бесконтрольных перемещений пчел из южных регионов на северные территории аборигенного обитания темной лесной пчелы происходит интрогрессия генов завезенных пчел в аборигенный генофонд темной лесной пчелы в результате миграции трутней. В итоге аборигенная популяция темной лесной пчелы постепенно теряет адаптированность к местным условиям среды, коорая была сформирована в течение длительной эволюции [Jensen et al., 2005; Soland-Reckeweg et al., 2009; Rortais et al., 2011; De la Rua et al., 2013; Ильясов и др., 2015в]. Риску генетического загрязнения подвержена и популяция «Бурзянского» экотипа темной лесной пчелы, генетическая изоляция и эффективная численность которой поддерживается небольшим количеством людей в условиях дефицита финансового обеспечения [Николенко, Поскряков, 2002; Ильясов и др., 2007; Ильясов и др., 2015а].

Для успешного сохранения популяции темной лесной пчелы необходимо проводить генетическую стандартизацию с целью идентификации пчелиных семей с минимальным уровнем интрогрессии генов южных подвидов и оптимальным генетическим разнообразием. Генетическое разнообразие в популяции пчел является материалом для естественного отбора и генетического дрейфа и служит основой для протекания микроэволюционных процессов [Jensen et al., 2005; Soland-Reckeweg et al., 2009; Oleksa et al., 2011; Muñoz et al., 2012]. Генетическое разнообразие пчелиных семей является основой экологической пластичности, которая характеризует приспособленность популяции пчел к изменяющимся условиям окружающей среды [De la Rúa et al., 2009; Dietemann et al., 2009; Meixner et al., 2010; Ильясов и др., 2015б]. Поддержание генетического разнообразия является основой сохранения генофонда темной лесной пчелы [Pinto et al., 2014]. Таксономическое разнообразие пчел в Европе является важнейшим компонентом общего генетического разнообразия вида *Apis mellifera*. Генетическое разнообразие медоносной пчелы также является материалом для естественного и искусственного отбора и показателем сохранения генетической стабильной и высокой продуктивности.

В популяционно-генетических исследованиях медоносной пчелы микросателлитные локусы приобретают все большую популярность во всем мире. В России на основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов были получены генетические характеристики для популяций пчел Республики Башкортостан и Пермского края [Ильясов и др., 2015б; Каскинова и др., 2016], Республики Татарстан, Республики

Адыгея, Красноярского края, Архангельской области и Новосибирской области [Зиновьева и др., 2011; Форнара, 2012], Республики Адыгея, Татарстан и Краснодарского края [Калашников и др., 2011; Калашников, 2013], Томской области [Островерхова и др., 2015].

Оценка генетического разнообразия имеет важное значение при разработке стратегий сохранения и рационального использования генофонда медоносной пчелы [van Engelsdorp, Meixner, 2010; Harpur et al., 2012; De la Rúa et al., 2013; Harpur et al., 2013; Pinto et al., 2014]. В 1995 году в Европе был запущен международный проект по оценке и поддержанию генетического разнообразия домашних животных MoDAD [The Maintenance of Domestic Animal Genetic Diversity]. Проект предусматривал количественную оценку генетического разнообразия популяций домашних животных на основе микросателлитных локусов [Weigend et al., 2002]. В 2014 году в Европе был запущен международный проект SmartBees по оценке и сохранению генетического разнообразия в популяциях темной лесной пчелы *A.m.mellifera* в Европе.

Большой интерес для пчеловодства представляет темная лесная пчела *A. m. mellifera* на территории Урала и Поволжья, которая только частично изучена морфометрическими молекулярно-генетическими методами. Морфометрические методы исследования предполагают сохранение популяций темной лесной пчелы в этом регионе. Для точной оценки современного состояния темной лесной пчелы Урала и Поволжья необходимо провести молекулярно-генетические исследования с использованием микросателлитных маркеров ядерной ДНК. Микросателлитные локусы являются современными уникальными информативными ядерными маркерами, позволяющими выявлять популяционно-генетическую структуру, генетическое разнообразие и уровень интрогрессии подвидов пчел в популяции [Clarke et al., 2002]. Российские популяции темной лесной пчелы не входили в европейские и российские проекты по изучению и сохранению биоразнообразия, поэтому стратегия сохранения генетического разнообразия этой популяции еще не разработана.

В России еще не приняты генетические стандарты для популяции и отдельной семьи пчел *A. m. mellifera*. В статье представлены генетические характеристики популяции и семьи пчел темной лесной пчелы, полученные на основе анализа полиморфизма 9 микросателлитных локусов, которые можно принять за генетический стандарт *A. m. mellifera*.

Цель наших исследований – генетическая

стандартизация пчелиных семей темной лесной пчелы и идентификация пчелиных семей с лучшим генетическим потенциалом на основе полиморфизма 9 микросателлитных локусов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были изучены рабочие особи из 3059 семей пчел Урала и Поволжья (темная лесная пчела *A. m. mellifera*) и из 64 семей Кавказа и Карпат, использованных для сравнения в качестве маркера генофонда популяций южных пчел (*A. m. caucasica*, *A. m. carpatica*, *A. m. carnica*). В Республике Башкортостан были изучены пчелы из 2309 семей, в Пермском крае – из 362 семей, в Республике Удмуртия – из 200 семей, в Республике Татарстан – из 52 семей, в Кировской области – из 64 семей, в Свердловской области – из 58 семей, в Республике Чувашия – из 14 семей, в Краснодарском крае – из 32 семей, в Республике Адыгея – из 15 семей, в Закарпатской области Украины – из 17 семей.

Для оценки генетических характеристик семей темной лесной пчелы были использованы по 4 рабочие особи из 13 семей Бурзянского района Республики Башкортостан.

Рабочих особей пчел фиксировали в 96% этаноле и хранили при температуре -20°C до выделения ДНК. Выделение ДНК из мышц торакса рабочих особей пчел проводили набором ДНК-ЭКСТРАН-2 по протоколу СИНТОЛ (Москва) (www.syntol.ru).

Качество и количество выделенной тотальной ДНК (около 500 нг) анализировали на спектрофотометре NanoDrop 1000 (Thermo, США). Полимеразная цепная реакция выполнялась в термоциклере BIO-RAD T100 (США) в 15 мкл общего объема смеси по протоколу СИЛЕКС (Москва) (www.sileks.com/ru) с 10 нг тотальной ДНК при оптимальной температуре отжига для каждого набора праймеров.

В исследованиях проводился анализ полиморфизма микросателлитных локусов *AP243*, *4A110*, *A24*, *A8*, *A43*, *A113*, *A88*, *AP049*, *A28* яДНК. Продукты амплификации при силе тока 40мА разделяли по размерам в 8% ПААГ, окрашивали бромистым этидием и визуализировали в геле-документирующей системе DocPrint Vilber Lourmat (Франция). Фрагментарный анализ и определение нуклеотидной последовательности продуктов ПЦР выполняли на автоматическом секвенаторе Applied Biosystem Genetic Analyser (США) по протоколу СИНТОЛ (Москва).

Все генетические характеристики для популяций и семей темной лесной пчелы были получены только на основе анализа популяций и семей, содержащих минимальный (<5%) уровень

интрогрессии генов южных подвидов. Уровень интрогрессии генов южных подвидов пчел эволюционной ветви С (*A.m.caucasica*) в популяциях и семьях темной лесной пчелы были рассчитаны на основе полиморфизма 9 микросателлитных локусов с использованием программы STRUCTURE 2.3.4.

Статистический анализ полученных результатов полиморфизма ДНК проводился с использованием программ FSTAT 2.9.3.2, GENEPOP 4.2.2, POPULATIONS 1.2.28, STATISTICA 8.0, STATGRAFICS Plus 3.0, MICROSOFT EXCEL 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основе анализа полиморфизма 9 микросателлитных локусов были рассчитаны генетические характеристики для популяции и семьи темной лесной пчелы *A. m. mellifera*. Под генетическими характеристиками принимаются такие показатели, как гетерозиготность (наблюдаемая - H_o , ожидаемая - H_s (также обозначается как H_e), общая ожидаемая - H_t), коэффициенты инбридинга (субпопуляционный - F_{is} , общий - F_{it}) и коэффициент генетической подразделенности F_{st} . Гетерозиготность показывает долю особей в популяции, гетерозиготных по изучаемым локусам. Для популяции каждого вида существует оптимальный уровень гетерозиготности. Коэффициенты инбридинга - показывают вероятность того, что аллели изучаемых локусов идентичны по происхождению. Положительные значения коэффициента инбридинга характеризуют преобладание близкородственного скрещивания в популяции, а отрицательные значения - отдаленного. Коэффициент генетической подразделенности показывает наличие подразделенности на группы. Значение 0 коэффициента генетической подразделенности показывает отсутствие генетических структур в популяции, а значение 1 - показывает наличие структур, не имеющих между собой родства.

На основе анализа полиморфизма 9 микросателлитных локусов яДНК были рассчитаны следующие генетические характеристики для популяции ($H_o=0,24$, $H_s=0,23$, $H_t=0,28$, $F_{is}=0,06$, $F_{it}=0,14$, $F_{st}=0,17$) и семьи ($H_o=0,20$, $H_s=0,16$, $H_t=0,15$, $F_{is}=0,23$, $F_{it}=0,35$, $F_{st}=0,11$) темной лесной пчелы *A. m. mellifera*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Значения гетерозиготности в популяциях местных пчел Урала и Поволжья были сходны с европейскими популяциями пчел подвида *A. m. mellifera* эволюционной ветви М [Soland-Reckeweg et al., 2009], и выше, по сравнению с локальными популяциями пчел южных подвидов с Кавказа и

Карпат. Гетерозиготность в популяциях чистопородной темной лесной пчелы оказалась ниже ($H_o=0,24$, $H_s=0,23$, $H_t=0,28$), чем в популяциях гибридного происхождения ($H_o=0,35$, $H_s=0,36$, $H_t=0,40$). Такие же низкие значения гетерозиготности характерны для чистопородных популяций пчел южных подвидов с Кавказа и Карпат ($H_o=0,21$, $H_s=0,21$, $H_t=0,26$). Следовательно, значения гетерозиготности менее 0,3 характерны, в основном, для интактных чистопородных популяций пчел, тогда как процесс гибридизации в результате интродукции пчел из других популяций приводит к росту значения. Коэффициенты инбридинга в локальных популяциях местных пчел Урала и Поволжья сходны с европейскими популяциями пчел подвида *A. m. mellifera* эволюционной ветви М [Franck et al., 1998; Soland-Reckeweg et al., 2009], и ниже, по сравнению с локальными популяциями пчел южных подвидов с Кавказа и Карпат. Значения коэффициентов инбридинга в популяции темной лесной пчелы были ниже ($F_{is}=0,06$, $F_{it}=0,14$), чем в популяциях гибридного происхождения ($F_{is}=0,08$, $F_{it}=0,15$). Значение коэффициента подразделенности в популяции темной лесной пчелы ($F_{st}=0,17$) было выше, чем в популяциях гибридного происхождения ($F_{st}=0,11$). Более высокие значения коэффициентов инбридинга ($F_{is}=0,13$, $F_{it}=0,29$), а также коэффициента подразделенности ($F_{st}=0,23$) отмечаются для чистопородных популяций пчел южных подвидов. Таким образом, чистопородные популяции темной лесной пчелы характеризуются незначительным отклонением распределения генотипов от равновесного распределения по Харди-Вайнбергу, высокими уровнями генетической подразделенности.

Сходство генетических характеристик популяций пчел Урала и Поволжья с европейскими популяциями *A. m. mellifera* эволюционной ветви М свидетельствует об одинаковости протекающих в них микроэволюционных процессов и подтверждает гипотезу о единстве их происхождения. Небольшие различия генетических показателей между разными локальными популяциями вызваны микроклиматическими факторами и особенностями разведения пчел. Сильные отклонения генетических показателей от стандартных значений, вероятно, вызваны процессами гибридизации с южными подвидами пчел эволюционной ветви С.

Уровень гетерозиготности семей темной лесной пчелы бурзянской популяции ($H_o=0,20$, $H_s=0,16$, $H_t=0,15$) оказался ниже, чем в популяциях пчел других регионов. При сравнении наблюдаемой гетерозиготности H_o со значениями ожидаемой гетерозиготности H_s в большинстве семей отмечается небольшой избыток гетерозигот.

Избыток гетерозигот также находит отражение в отрицательных значениях коэффициентов инбридинга F_{is} и F_{it} . Возможно, что в условиях длительной изоляции в горно-лесной зоне Бурзянского района эволюция семей темной лесной пчелы привела к установлению оптимального уровня генетического разнообразия, обеспечивающего максимальную приспособленность к условиям среды обитания. Более высокие значения гетерозиготности наблюдались в семьях с интрогрессией «южных» генов ($H_o=0,30$, $H_s=0,21$, $H_t=0,20$). Следовательно, более высокий уровень гетерозиготности в семьях темной лесной пчелы, возможно, является результатом интрогрессии «южных» генов. Значения коэффициентов инбридинга и подразделенности в семьях темной лесной пчелы бурзянской популяции ($F_{is} = |-0,23|$, $F_{it} = |-0,35|$, $F_{st} = |-0,11|$) оказались ниже, чем в семьях, содержащих интрогрессию «южных» генов ($F_{is} = |-0,45|$, $F_{it} = |-0,56|$, $F_{st} = |-0,07|$). Отрицательный знак коэффициентов инбридинга указывает на избыток гетерозигот, тогда как само значение характеризует величину отклонения от равновесного распределения. Подобные значения коэффициентов инбридинга и подразделенности в семьях темной лесной пчелы бурзянской популяции, возможно, являются результатом адаптивной эволюции, которая привела к формированию оптимальных уровней генетических характеристик. Возможно, что интрогрессия «южных» генов приводит к значительному отклонению генотипов от равновесного распределения и снижает генетическую подразделенность.

Вероятно, что для селекции необходимо отбирать семьи темной лесной пчелы с интрогрессией «южных» генов не более 5%, гетерозиготностью и коэффициентами инбридинга меньшими, чем у семей пчел с интрогрессией $H_o \leq 0,30$, $H_s \leq 0,30$, $H_t \leq 0,30$, $F_{is} \leq |0,45|$, $F_{it} \leq |0,55|$, коэффициентом подразделенности большим, чем у семей пчел с интрогрессией $F_{st} \geq |0,11|$. Качество селекционируемого материала будет определяться числом показателей, которым соответствует анализируемая семья пчел. Такая селекция позволит поддерживать генетическое и генотипическое разнообразие в рамках генетического стандарта подвида *A. m. mellifera*.

Данный подход селективного предпочтения заключается в отборе максимально чистопородных семей темной лесной пчелы с оптимальным уровнем гетерозиготности, минимальным уровнем отклонения распределения генотипов от равновесного значения по Харди-Вайнбергу и максимальным уровнем генетической подразделенности. Такие семьи будут формировать

популяции пчел с высоким адаптивным потенциалом и стабильностью генофонда во времени.

Генетические стандарты популяции и семьи темной лесной пчелы будут полезны для последующих популяционных исследований медоносной пчелы в качестве материала для сравнения, а методика селекции семей темной лесной пчелы позволит подойти к пчеловодству и контролю генофонда на молекулярно-генетическом уровне. Такой подход позволит повысить рентабельность отрасли за счет повышения продуктивности и снижения смертности в популяции благодаря селекции семей с оптимальными генетическими характеристиками.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 13-04-01802 и 14-04-97084 р_поволжье_a на оборудовании ЦКП «Биомика» отделения биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зиновьева Н. А., Кривцов Н. И., Форнара М. С. Микросателлиты как инструмент для оценки динамики аллелофонда при создании приокского типа среднерусской породы медоносной пчелы *Apis mellifera* L. // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 6. С. 75-79.
2. Ильясов Р. А., Косарев М. Н., Юмагузин Ф.Г. Бурзянская бортевая пчела и бортевое пчеловодство на Южном Урале // Пчеловодство. 2015а. № 7. С. 12-15.
3. Ильясов Р. А., Петухов А. В., Поскряков А.В., Николенко А.Г. Локальные популяции *Apis mellifera mellifera* L. на Урале // Генетика. 2007. Т. 43. № 6. С. 855-858.
4. Ильясов Р. А., Поскряков А. В., Николенко А.Г. Новые SNP маркеры в гене вителлогенина *Vg* медоносной пчелы для идентификации *Apis mellifera mellifera* L. // Генетика. 2015в, Т. 51. № 2. С. 194-199.
5. Ильясов Р. А., Поскряков А. В., Петухов А. В., Николенко А. Г. Генетическая дифференциация локальных популяций темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. на Урале // Генетика. 2015б. Т. 51. № 7. С. 792-798.
6. Калашников А. Е. Изучение дифференциации отечественных популяций медоносной пчелы *Apis mellifera* и их инфицированности РНК-содержащими вирусами с помощью молекулярно-генетических методов // Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. Дубровицы. 2013. С. 21.
7. Калашников А. Е., Кривцов Н. И., Бородачев А. В. Дифференциация отечественных пород пчел по микросателлитным локусам // Наука Кубани. 2011. Т. 4. С. 10-14.

8. Каскинова М. Д., Ильясов Р. А., Поскрязков А. В., Косарев М. Н., Шарипов А. Я., Николенко А. Г. Генетические показатели бурзянской популяции *Apis mellifera mellifera* L. // Биомика. 2016. Т. 8. № 2. С. 117-124.
9. Николенко А. Г., Поскрязков А.В. Полиморфизм локуса COI-COII митохондриальной ДНК *Apis mellifera* L. на Южном Урале // Генетика. 2002. Т. 38. № 4. С. 458-462.
10. Островерхова Н. В., Конусова О. Л., Кучер А. Н., Киреева Т. Н., Багиров Р. Т. Характеристика генетического разнообразия медоносных пчел (*Apis mellifera* L.) Томской популяции по комплексу ДНК-маркеров // Чтения памяти Алексея Ивановича Куренцова. Владивосток. 2015. Т. XXVI. С. 227-240.
11. Форнара М. С. Характеристика аллелофонда и дифференциация пород и популяций медоносной пчелы с использованием микросателлитов // Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. Дубровицы. 2012. С. 19.
12. Vouga M., Harizanis P.C., Kiliass G., Alahiotis S. Genetic divergence and phylogenetic relationships of honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) populations from Greece and Cyprus using PCR - RFLP analysis of three mtDNA segments // Apidologie. 2005. V. 36. P. 335-344.
13. Clarke K. E., Rinderer T. E., Franck P., Quezada-Euan J. J. G., Oldroyd B. P. The Africanization of honey bees (*Apis mellifera* L.) of the Yucatan: a study of a massive hybridization event across time // Evolution. V. 56. No. 7. 2002. P. 1462-1474.
14. De La Rúa P., Jaffé R., Dall'olio R. Biodiversity, conservation and current threats to European honey bees // Apidologie. 2009. V. 40. P. 263-284.
15. De la Rúa P., Jaffé R., Muñoz I. Conserving genetic diversity in the honey bee. Comments on Harpur (2012) // Mol. Ecol. 2013. V. 22. P. 3208-3210.
16. De la Rúa P., Serrano J., Galián J. Biodiversity of *Apis mellifera* populations from Tenerife (Canary Islands) and hybridisation with East European races // Biodivers. Conserv. 2002. V. 11. P. 59-67.
17. Dietemann V., Pirk C.W.W., Crewe R. Is there a need for conservation of honey bees in Africa? // Apidologie. 2009. V. 40. P. 285-295.
18. Engel M. S. The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*) // J. Hym. Res. 1999. V. 8. P. 165-196.
19. Franck P., Garnery L., Loiseau B. P. Genetic diversity of the Honey bee in Africa: microsatellite and mitochondrial data // Heredity. 2001. V. 86. P. 420-430.
20. Franck P., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.-M. The origin of west European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): New insights from microsatellite and mitochondrial data // Evolution. 1998. V. 52. P. 1119-1134.
21. Garnery L., Franck P., Baudry E. Genetic biodiversity of the West European honeybee (*Apis mellifera mellifera* and *A.m.iberica*). I. Mitochondrial DNA // Genet. Sel. Evol. 1998. V. 30. P. 31-47.
22. Harpur B. A., Minaei S., Kent C. F., Zayed A. Admixture increases diversity in managed honey bees: reply to De la Rúa et al., 2013 // Mol Ecol. 2013. V. 22. P. 3211-3215.
23. Harpur B. A., Minaei S., Kent C. F., Zayed A. Management increases genetic diversity of honey bees via admixture // Mol Ecol. 2012. V. 18. P. 4414-4421.
24. Hepburn H. R., Radloff S. E. Honeybees of Africa. Berlin: Springer, 1998. 130 p.
25. Jensen A. B., Palmer K. A., Boomsma J. J., Pedersen B. V. Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe // Mol. Ecol. 2005. V. 14. P. 93-106.
26. Meixner M. D., Costa C., Kryger P. Conserving diversity and vitality for honey bee breeding // J. Apic. Res. 2010. V. 49. P. 85-92.
27. Meixner M. D., Leta M. A., Koeniger N., Fuchs S. The honey bees of Ethiopia represent a new subspecies of *Apis mellifera* - *Apis mellifera simensis* n. ssp. // Apidologie. 2011. V. 42. P. 425-437.
28. Muñoz I., Dall'olio R., Lodesani M., De la Rúa P. Population genetic structure of coastal Croatian honeybees (*Apis mellifera carnica*) // Apidologie. 2009. V. 40. P. 617-626.
29. Muñoz I., Stevanovic J., Stanimirovic Z., De La Rúa P. Genetic variation of *Apis mellifera* from Serbia inferred from mitochondrial analysis // J. of Apic. Sci. 2012. V. 56. P. 59-69.
30. Nedić N., Francis R.M., Stanisavljević L. Detecting population admixture in the honey bees of Serbia. J. Apic. Res. 2014. V. 53. P. 303-313.
31. Oleksa A., Chybicki I., Tofilski A., Burczyk J. Nuclear and mitochondrial patterns of introgression into native dark bees (*Apis mellifera mellifera*) in Poland // J. Apic. Res. 2011. V. 50. P. 116-129.
32. Pinto M. A., Munoz I., Chavez-Galarza J., De la Rúa P. The Atlantic side of the Iberian peninsula: a hot-spot of novel African honey bee maternal diversity // Apidologie, V. 43, 2012. P. 663-673.
33. Pinto M. A., Henriques D., Chavez-Galarza J. 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. Res. 2014. V. 53. №2. P. 269-278.
34. Rortais A., Arnold G., Alburaki M. Review of the DraI COI-COII test for the conservation of the black honeybee (*Apis mellifera mellifera*) // Conserv. Genet. Resour. 2011. V. 3. P. 383-391.

35. Ruttner F. Biogeography and Taxonomy of Honey bees. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. 288 p.
36. Schneider S. S., DeGrandi-Hoffman G., Smith D. R. The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion // *Annu. Rev. Entomol.* 2004. V. 49. P. 351-376.
37. Sheppard W. S., Meixner M. D. *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia // *Apidologie.* 2003. V. 34. P. 367-375.
38. Soland-Reckeweg G., Heckel G., Neumann P. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera* // *J. Insect Conserv.* 2009. V. 13. P. 317-328.
39. Stevanovic J., Stanimirovic Z., Radakovic M., Kovacevic S. R. Biogeographic study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) from Serbia, Bosnia and Herzegovina and Republic of Macedonia based on mitochondrial DNA analyses // *Rus. J. Genetics.* 2010. V. 46. P. 603-609.
40. Strange J. P., Garnery L., Sheppard W. Morphological and molecular characterization of the Landes honey bee (*Apis mellifera* L.) ecotype for genetic conservation // *J. Insect Conserv.* 2008. V. 12. P. 527-537.
41. Uzunov A., Kiprijanovska H., Andonov S. Morphological diversity and racial determination of the honey bee (*Apis mellifera* L.) population in the Republic of Macedonia // *J. Apic. Res.* 2009. V. 48. P. 196-203.
42. Uzunov A., Meixner M. D., Kiprijanovska H. Genetic structure of *Apis mellifera macedonica* population based on microsatellite DNA polymorphism // *J. Apic. Res.* 2014. V. 53. P. 288-295.
43. van Engelsdorp D., Meixner M. D. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them // *J. Invertebr. Pathol.* 2010. V. 103. P. 80-95.
44. Wallberg A., Han F., Wellhagen G. A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera* // *Nat. Genet.* 2014. V. 46. P. 1081-1088.
45. Weigend S., Romanov M. N. The World Watch List for Domestic Animal Diversity in the context of conservation and utilisation of poultry biodiversity // *World's Poultry Sci. J.* 2002. V. 58. P. 411-430.
46. Whitfield C. W., Behura S. K., Berlocher S. H. Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera* // *Science.* 2006. V. 314. P. 642-645.

NEW APPROACH TO THE SELECTION OF THE DARK FOREST BEE COLONIES *A. M. MELLIFERA* ON GENETIC CHARACTERISTICS

R.A. Ilyasov, A.V. Poskryakov, A.G. Nikolenko

Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.
450054, Ufa, Prospekt Oktyabrya, 71. E-mail: apismell@hotmail.com

Abstract

In this article we have carried out a molecular genetic analysis of the populations and colonies of the dark forest bee *A. m. mellifera* from the Urals and the Volga region in comparison with populations of the bees of "southern" subspecies *A. m. caucasica* and *A. m. carpatica* from the Caucasus and the Carpathians based on the polymorphism 9 microsatellite loci of the nuclear DNA. We proposed in this article the genetic characteristics of the population ($H_o=0,24$, $H_s=0,23$, $H_t=0,28$, $F_{is}=0,06$, $F_{it}=0,14$, $F_{st}=0,17$) and the colony ($H_o=0,20$, $H_s=0,16$, $H_t=0,15$, $F_{is}=0,23$, $F_{it}=0,35$, $F_{st}=0,11$) of the dark forest bee *A. m. mellifera* were calculated and the method of selection of the dark forest bee colonies with introgression of "southern" less than 5% and genetic characteristic of thoroughbred colonies *A. m. mellifera* ($H_o \leq 0,30$, $H_s \leq 0,30$, $H_t \leq 0,30$, $F_{is} \leq 0,45$, $F_{it} \leq 0,55$, $F_{st} \geq 0,11$).

Keywords: dark European bees, preserving of the aboriginal gene pool, *Apis mellifera mellifera*, microsatellite loci, remaining populations, introgression, genetic standard, heterozygosity, genetic characteristics, inbreeding coefficients.