

**Министерство сельского хозяйства Российской Федерации**  
**Департамент животноводства и племенного дела**  
**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение**  
**«Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»**  
**ФГБНУ ВНИИплем**

## **МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

### **СТАНДАРТНЫЕ МЕТОДЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ, ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДОСТОВЕРНОСТИ ПРОИСХОЖДЕНИЯ И БОНИТИРОВКИ ПЧЕЛИНЫХ СЕМЕЙ**

Дунин И.М., Новиков А.А., Калашникова Л.А., Калашников А.Е., Гладырь Е.А., Бурмистрова Л.А., Бородачев А.В., Николенко А.Г., Ильясов Р.А., Туктаров В.Р., Удина И.Г. Методические рекомендации: Стандартные методы генетической идентификации, определения достоверности происхождения и бонитировки пчелиных семей. Лесные Поляны, Московская область: ВНИИплем. 2019. 77 с. ISBN 978-5-87958-383-0.

Dunin I.M., Novikov A.A., Kalashnikova L.A., Kalashnikov A.E., Gladyr E.A., Burmistrov L.A., Borodachev A.V., Nikolenko A.G., Ilyasov R.A., Tuktarov V.R., Udina I.G.

Guidelines: The standard methods of genetic identification, determining the validity of origin and appraisal of honey bee colonies (translation). Lesnye Polyany, The Moscow

**Лесные Поляны, Московская область**

**2019**

УДК 636.082.2

ББК 45.3

П 68

#### РЕЦЕНЗЕНТЫ НАСТОЯЩИХ ПРАВИЛ И РЕКОМЕНДАЦИЙ:

Хаердинов Р.А., профессор, заведующий кафедрой биологии, генетики и разведения животных ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», Гришина С.Л., главный научный сотрудник отдела животноводства и иммунологической экспертизы, доктор сельскохозяйственных наук, ФГБНУ «Уральский НИИСХ», Гончаренко Г.М., доктор биологических наук, главный научный сотрудник Лаборатории биотехнологий «СибНИПТИЖ» Сибирского федерального научного центра агробiotехнологий.

#### МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ РАЗРАБОТАЛИ:

д-р с.-х. наук акад. РАН И.М. Дунин, д-р биол. наук А.А. Новиков, д-р биол. наук, проф. Л.А. Калашникова, к. биол. наук А.Е. Калашников, к. биол. наук Е.А. Гладырь, к. биол. наук, Л.А. Бурмистрова, д-р с.-х. наук, проф. А.В. Бородачев, д-р биол. наук, проф. А.Г. Николенко, д-р биол. наук Р.А. Ильясов, д-р биол. наук, проф. В.Р. Туктаров, д-р биол. наук, доц. И.Г. Удина с использованием материалов, предоставленных ВНИИплем, ВИЖ им. Л.К. Эрнста, ИОГЕН РАН, ИБГ УНЦ РАН, ФГБНУ ВНИИ пчеловодства, БашГАУ.

*Методические рекомендации рассчитаны на специалистов лабораторий ветеринарии, молекулярной генетики, иммунологии, генетики и разведения в пчеловодстве и работников племобъединений Российской Федерации.*

Рассмотрены и одобрены на учёном совете ВНИИплем (протокол №3 от 29 июня 2018 г.).

ISBN-978-5-87958-383-0

© ФГБНУ ВНИИплем, 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ОПРЕДЕЛЕНИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ ОБЪЕКТА ПАСПОРТИЗАЦИИ.....	6
ГЛАВА 1. ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПЧЁЛ ИЛИ ПОРОДНОЙ (ПОДВИДОВОЙ) ПРИНАДЛЕЖНОСТИ.....	8
РАЗДЕЛ 1.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ПЧЁЛ С ПОМОЩЬЮ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА.....	10
РАЗДЕЛ 1.1.1. ПРАВИЛА ОТБОРА И ХРАНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ ПЧЁЛ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА.....	10
РАЗДЕЛ 1.1.2. ОБЗОР ОСНОВНЫХ ПОРОД (ПОДВИДОВ) ПЧЁЛ В РОССИИ.....	11
РАЗДЕЛ 1.1.3. МЕТОДОЛОГИЯ ОЦЕНКИ ЭКСТЕРЬЕРНЫХ ПРИЗНАКОВ ПЧЁЛ ПО МОРФОМЕТРИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ.....	14
РАЗДЕЛ 1.1.4. СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ДЛЯ ЭКСТЕРЬЕРНОЙ ОЦЕНКИ ПЧЁЛ.....	16
РАЗДЕЛ 1.2. ОЦЕНКА ХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ПЧЕЛИНЫХ СЕМЕЙ.....	16
РАЗДЕЛ 1.2.1. ОЦЕНКА ЗИМОСТОЙКОСТИ ПЧЁЛ.....	22
РАЗДЕЛ 1.2.2. ПЛОДОВИТОСТЬ МАТКИ И СИЛА ПЧЕЛИНОЙ СЕМЬИ.....	23
РАЗДЕЛ 1.2.3. ОЦЕНКА ПРОДУКТИВНОСТИ ПЧЕЛИНЫХ СЕМЕЙ.....	24
РАЗДЕЛ 1.2.4. ГЕНОТИП ПЧЕЛИНЫХ СЕМЕЙ.....	25
РАЗДЕЛ 1.2.5. ОБРАБОТКА И ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫХ ПРИЗНАКОВ ПЧЕЛИНЫХ СЕМЕЙ.....	25
РАЗДЕЛ 2.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОДНОЙ (ПОДВИДОВОЙ) ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ПЧЁЛ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК.....	26
РАЗДЕЛ 2.1.1 ПРАВИЛА ОТБОРА И ХРАНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ ПЧЁЛ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА.....	26
РАЗДЕЛ 2.1.2 МЕТОДОЛОГИЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА МТДНК ПЧЁЛ.....	27
РАЗДЕЛ 2.1.3. ОБРАБОТКА И ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИТОТИПОВ ПЧЁЛ.....	32
РАЗДЕЛ 2.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОДНОЙ (ПОДВИДОВОЙ) ПРИНАДЛЕЖНОСТИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОСТОВЕРНОСТИ ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПЧЁЛ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ.....	34
РАЗДЕЛ 2.2.1. МЕТОДОЛОГИЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ.....	35
РАЗДЕЛ 2.2.2. СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ПЧЁЛ.....	41
РАЗДЕЛ 2.2.3 МАТЕМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	43
РАЗДЕЛ 2.2.4. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ.....	46
ГЛАВА 3. ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ПЧЁЛ ПО ОДНОНУКЛЕОТИДНЫМ МУТАЦИЯМ (SNP).....	46
РАЗДЕЛ 3.1. ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ.....	47
РАЗДЕЛ 3.2. НАДЁЖНОСТЬ ГЕНОМНОЙ ОЦЕНКИ.....	53
РАЗДЕЛ 3.3 СОЗДАНИЕ БАЗЫ ДАННЫХ ГЕНОТИПОВ И ИНСТРУМЕНТЫ ДЛЯ РЕАЛИЗАЦИИ ГЕНОМНОЙ ОЦЕНКИ ПЧЁЛ.....	55
РАЗДЕЛ 3.4 МЕТОДОЛОГИЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА SNP НА ЧИПАХ ILLUMINA.....	56
ГЛАВА 4. РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ.....	64

РАЗДЕЛ 4.1 МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ОТБОРА И ХРАНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ ПЧЁЛ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА.....	64
РАЗДЕЛ 4.2 НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА МТДНК И МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ЯДНК ПЧЁЛ.....	64
РАЗДЕЛ 4.3 РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ИЗ ПЛАСТИКА.....	66
РАЗДЕЛ 4.4 РЕАКТИВЫ.....	66
РАЗДЕЛ 4.5 БУФЕРЫ И РАСТВОРЫ.....	69
РАЗДЕЛ 4.6. БУФЕРЫ, РАСТВОРЫ, СТАНДАРТЫ ДЛИН, РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА.....	73
РАЗДЕЛ 4.7. МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ SNP-ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ПЧЁЛ.....	74
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	75

## **ВВЕДЕНИЕ**

Согласно «Доктрине продовольственной безопасности» (распоряжение Правительства Российской Федерации от 17.03.2010 №376-р) появление рисков в агропромышленном комплексе может существенно ослабить продовольственную безопасность России. В соответствии с целями и задачами государственной политики в сфере инноваций (постановление Правительства Российской Федерации от 15.04.2014 №301), а также политики импортозамещения необходимо сосредоточить усилия научного комплекса в обеспечении секторов экономики, которые создают гарантированный внутренний спрос на научные исследования и разработки в агрокомплексе. В 2006 году Минсельхозом Российской Федерации разработаны и утверждены «Правила определения видов организаций по племенному животноводству».

Основной задачей современной биотехнологии является усовершенствование племенной работы в пчеловодстве путём использования молекулярно-генетических методов для паспортизации чистопородных семей (с отсутствием гибридизации) и линий пчёл.

Предложенный методический подход комплексного тестирования пчелиных семей по происхождению, т.е. по принадлежности к той или иной породе (подвиду), по хозяйственно-полезным признакам продуктивности, послужит основой для создания единой информационной системы генетической паспортизации в пчеловодстве и единой базы данных по генотипированию во ВНИИплем МСХ РФ. Единая информационная система в пчеловодстве необходима не только для получения высокопродуктивных здоровых семей пчёл, но и сохранения аборигенных подвидов и популяций пчёл.

В случае учёта пчелиных семей на пасеках пчеловодам необходимо проводить оценку достоверности происхождения и характеристик

хозяйственных признаков пчёл. Только в случае тщательного первичного учёта этих показателей возможно эффективное применение молекулярно-генетических методов и определение племенной ценности пчелиных семей и линий пчёл по методу *BLUP* (лучшему нелинейному *неискаженному* прогнозу). Для определения степени гибридизации и чистоты пород (подвидов) применяют анализ митохондриальной ДНК (МТДНК), в случае исследования генетической структуры популяций пчёл, определения достоверности происхождения и определения чистоты пород (подвидов) применяют анализ микросателлитов и SNP (однонуклеотидных полиморфизмов).

Генетическая паспортизация пчёл экономически целесообразна для повышения эффективности селекции отечественного пчеловодства. Производство здоровых чистопородных пчелиных семей, соблюдение плана районирования пород (подвидов) для избежания гибридизации и подбор медоносных культур для нектар-цветочного конвейера позволит увеличить продуктивность пчелиных семей, а также повысить за счёт опыления урожайность энтомофильных сельскохозяйственных культур, обеспечить возможность экспорта продукции и получить максимальный экономический эффект при реализации продукции.

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ ОБЪЕКТА ПАСПОРТИЗАЦИИ**

Изначально для объекта исследования определены домен эукариоты, царство животные, тип членистоногие, класс насекомые, отряд перепончатокрылые, семейство пчелы настоящие, род медоносные пчелы, вид медоносная пчела, а также ряд подвидов в соответствии с классификацией на основе общих генетических признаков. Медоносные пчелы делятся на несколько видов. В Европе, Америке и Австралии термин «медоносная пчела» означает вид *Apis mellifera*. Все эти пчелы происходят от прародителей, рождённых в Европе и Африке. В других

частях мира существует несколько признанных видов медоносных пчёл, прежде всего *A. cerana*, *A. dorsata* и *A. florea*.

Термин «раса» в настоящее время используется все более неточно и неправильно идеологически для упоминания подвидов и гибридов пчёл, а также подвидовой дифференциации. Под расами понимают то же понятие, которое используется для понимания прародителей у животных. Существуют также определённые линии медоносных пчёл, чей ранг ниже таковых у подвидов (особенно в пределах номинантного подвида *A. mellifera mellifera*, являясь одомашненными штаммами, которые не могут быть отнесены к определенным видам дифференциации. Такие линии называются породами. Породы часто не признаются энтомологами в современной зоологической номенклатуре, т.к. ранги подвидов выше и имеют формальные научные названия в зоологии. В настоящей инструкции внесены необходимые коррекции и под *породной принадлежностью* принимается *подвидовая принадлежность*.

На основе морфологического сходства и разделения по географическим регионам с последнего ледникового периода представлены пять *линий* пчёл:

1. *A* (Африканская);
2. *C* (*Carnica*, подвид к востоку и югу от Альп, в т.ч. вдоль Северного Средиземноморья);
3. *M* (*Mellifera*, подвид Западной Европы);
4. *O* (Восточная пчела);
5. *Y* (*Yemenitica*, Эфиопия).

Родословные пчёл гибридного происхождения, африканизированных пчёл, Бакфаст и др. гибридов не имеют официальных названий.

В линии *M* представлены три *расы*:

1. *Mellifera* (коричневая, тёмная лесная пчела);
2. *Lehzeni* (вересковая пчела);

Дунин И.М., Новиков А.А., Калашникова Л.А., Калашников А.Е., Гладырь Е.А., Бурмистрова Л.А., Бородачев А.В., Николенко А.Г., Ильясов Р.А., Туктаров В.Р., Удина И.Г. Методические рекомендации: Стандартные методы генетической идентификации, определения достоверности происхождения и бонитировки пчелиных семей. Лесные Поляны, Московская область: ВНИИплем. 2019. 77 с. ISBN 978-5-87958-383-0.

Dunin I.M., Novikov A.A., Kalashnikova L.A., Kalashnikov A.E., Gladyr E.A., Burmistrov L.A., Borodachev A.V., Nikolenko A.G., Ilyasov R.A., Tuktarov V.R., Udina I.G. Guidelines: The standard methods of genetic identification, determining the validity of origin and appraisal of honey bee colonies (translation). Lesnye Polyany, The Moscow

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алпатов В.В. Породы медоносной пчелы. *Изд.:МООИП М.: Колос.* 1948. С.73-261.
2. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. Москва. *Изд-во ИКЦ «Академкнига».* 2003. 431 с.
3. Бородачев А.В., Бурмистров А.Н., Касьянов А.И., Кривцова Л.С., Кривцов Н.И., Лебедев В.И., Мартынов А.Г., Соловьева Л.Ф., Харитонов Н.Н. Методы проведения научно-исследовательских работ в пчеловодстве. *Рыбное, НИИП.* 2002. С.1-154.
4. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А. Генетическая экспертиза сельскохозяйственных животных: применение тест-систем на основе микросателлитов. *Достижения науки и техники АПК.* 2011. №9. С.19-20.
5. Ильясов Р.А., Петухов А.В., Поскряков А.В., Николаенко А.Г. Локальные популяции медоносной пчелы (*Apis mellifera mellifera* L.) на Урале. *Генетика.* 2007. Т.43. №6. Р.855-858.
6. Калашников А.Е., Кривцов Н.И., Бородачев А.В., Малькова С.А., Удина И.Г. Дифференциация отечественных пород пчел по микросателлитным локусам. *Наука Кубани.* 2011 Т.4. С.10-15.
7. Непейвода С.Н., Колбина Л.М., Воробьева С.Л., Санникова Н.А., Масленников И.В., Ильясов Р.А., Николенко А.Г. Анализ генетической дифференциации популяций *Apis mellifera* в Удмуртии. *Пчеловодство.* 2011. №10. С.12-13.
8. Николенко А.Г., Поскряков А.В. Полиморфизм локуса COI-COII митохондриальной ДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* L. на Южном Урале. *Генетика.* 2002. Т.38. №4. С.458-462.
9. Ayman A. Owayss C., Zayed A. *PNAS.* 2014. V.111. N.7. P2614–2619.
10. Chapis M.-P., Estoup A. (2007) Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution.* 2007. V. 24. N.3. P.621-631.
11. Chávez-Galarza J, Henriques D., Johnston J.S., Azevedo J.C., Patton J.C., Muñoz I., De la Rúa P., Pinto M.A. Signatures of selection in the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) revealed by a genome scan analysis of single nucleotide polymorphisms. *Molecular Ecology.* 2013. V.22. N.23. P.5890–5907.
12. Croizer R.H., Croizer Y.C. The mitochondrial genome of honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. *Genetics.* 1993. V.133. P.97-117.
13. De la Rúa P., Jaffé R., Dall’Olio R., Muñoz I., Serrano J. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Journal of Apicultural Research.* 2013. V.52. N.4. P.1-53.
14. De la Rúa, P., Hernández-García R., Pedersen B.V., Galián J., Serrano J. Molecular diversity of honeybee *Apis mellifera iberica* L. (*Hymenoptera apidae*) from western asie and USA. *Arch. Zootectik.* 2004. V.53. P.195-203.
15. Earl D.A., von Holdt B.M. Structure harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources.* 2012. V.4. P.359–361.
16. Elsik C.G., Tayal A., Diesh C.M., Unni D.R., Emery M.L., Nguyen H.N., Hagen D.E. Hymenoptera Genome Database: integrating genome annotations in *Hymenoptera* Mine. *Nucleic Acids Research.* 2016. V.4. N.44(D1). P.793-800.
17. Estoup A., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.M. Micro-satellite 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.

18. Estoup A., Jarne P., Cornuet J.M. Homoplasmy and mutation model at micro-satellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology*. 2002. V.11. P.1591–1604.
19. Estoup A., Solignac M., Cornuet J. Precise assessment of the number of patriline and of genetic relatedness in honeybee colonies. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 1994. V.258. P.1–7.
20. Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecology*. 2005. V.14(8). P.2611-20.
21. Garnery L, Cornuet JM, Solignac M. Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mol Ecology*. 1992. V.1(3). P/145-54.
22. Hall H.G., Smith D.R. Distinguishing African and European honeybee matriline using amplified mitochondrial DNA. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1991. V.88. P.4548-4552.
23. Harpur B.A, Kent C.F., Molodtsova D., Lebon J.M., Alqarni A.S., Owayss A.A., Zayed A. Population genomics of the honey bee reveals strong signatures of positive selection on worker traits. *PNAS*. 2014. V.111. N.7. P.2614-2619.
24. Jombart T. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*. 2008. V.24. P.1403-1405.
25. Meixner M., Pinto M.A., Bouga M., Kryger P., Ivanova E. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*. 2015. V.52. P.1-28.
26. Moser G., Tier B., Crump R.E., Khatkar M.S., Raadsma H.W. A comparison of five methods to predict genomic breeding values of dairy bulls from genome-wide SNP markers. *Genetics Selection and Evolution*. 2009. V.41. P.56.
27. 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. V.10. N.4. P.e0124365
28. Muñoz I., Stevanovic J., Stanimirovic Z., Pilar De la Rúa P. Genetic variation of *Apis mellifera* from Serbia inferred from mitochondrial analysis. *Journal of Apicultural Science*. 2012. V.56, N.1. P.59-69.
29. Nei M., Tajima F., Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J Mol Evolution*. 1983. N.19. P.133-170.
30. Oosterhout V., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*. 2004. V.4. P.535–538.
31. Peakall R., Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 2012. V.28. P.2537-2539.
32. Petit E., Balloux F., Goudet J. Sex-biased dispersal in a migratory bat: a characterization using sex-specific demographic parameters. *Evolution*. 2001. V.55 (3). P.635-640.
33. Pinto M.A., Henriques D., Chávez-Galarza J., Per Kryger P., Garnery L., Romée van der Zee R., Dahle B., Soland-Reckeweg G., de la Rúa P., Olio R.D., Carreck N., 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.V53. N.2. P.269-278.
1. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*. 2000. V.155. P.945–959.

2. Raymond M., Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Heredity*. 1995. V.86. P.248-249.
3. Sadd B.M., Barribeau S.M., Bloch G. The genomes of two key bumblebee species with primitive eusocial organization. *Genome Biology*. 2015. V.16. P.76.
4. Schneider S.S., Hoffman G., Smith D.R. African invasive. The African honey bee: facer. *Genetics*. 2005. V.170. N.8. P.1653–1665.
5. Spötter A., Gupta P., Nürnberg G., Reinsch N., Bienefeld K. Development of a 44K SNP assay focusing on the analysis of a varroa-specific defense behavior in honey bees (*Apis mellifera carnica*). *Molecular Ecology Resources*. 2011. V.12. P.323–332.
6. Weir B. S., Clark C. Cockerham. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*. 1984. V.38(6). P.1358-1370.
7. Whitfield C.W., Behura S.K., Berlocher S.H., Clark A.G., Johnston J.S., Sheppard W. S., Smith D.R., Suarez A.V., Weaver D., Tsutsui N.D. Thrice out of Africa: Ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science*. 2006. V.314. P.642–645.
8. Zhang Z., Ding X., Liu J., Zhang Q., Koning D.J. Accuracy of genomic prediction using low-density marker panels. *J Dairy Science*. 2011. V.94. N.7. P.3642-3650.