

УДК 638.12:631.523.5

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ЛОКАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ТЕМНОЙ ЛЕСНОЙ ПЧЕЛЫ *Apis mellifera mellifera* L. НА УРАЛЕ

© 2015 г. Р. А. Ильясов¹, А. В. Поскряков¹, А. В. Петухов², А. Г. Николенко¹

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа 450054
e-mail: apismell@hotmail.com

²Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, кафедра зоологии, Пермь 614990
Поступила в редакцию 08.08.2014 г.

В течение последних двух веков пчеловоды в России и европейских странах завозили пчел из южных регионов в северные, в результате чего генофонд темной лесной пчелы подвида *Apis mellifera mellifera* L. был подвержен значительной гибридизации. Для уточнения на генетическом уровне ранее опубликованных в литературе морфологических данных по аборигенной популяции пчел на Урале, в Республике Башкортостан и Пермском крае нами проведен анализ полиморфизма маркеров митохондриальной (межгенный локус COI-COII мтДНК) и ядерной (два микросателлитных локуса, ar243 и 4a110) ДНК. Выделены четыре сохранившиеся локальные популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera* на Урале и получены их основные генетические характеристики. Данные о генетической структуре и географической локализации ареалов локальных популяций темной лесной пчелы на Урале могут быть полезны при восстановлении нарушенного генофонда *A. m. mellifera* в России и других северных странах.

DOI: 10.7868/S0016675815070048

Естественный ареал медоносной пчелы *Apis mellifera* Linnaeus 1758 [1] включает Европу, Африку и Западную Азию [2, 3]. Вид подразделяется на 29 подвидов, которые группируются в четыре эволюционные ветви [4–6]: африканская ветвь (А), ближневосточная ветвь (О) и две европейские ветви (С и М) [3, 7–10]. Исследования митохондриальной и ядерной ДНК (по микросателлитным локусам) также подтвердили данные по морфометрии о подразделении подвидов пчел на четыре эволюционные ветви [5, 11, 12].

Из 29 подвидов пчел только один *Apis mellifera mellifera* Linnaeus 1758 [1], называемый в мире темной европейской, а в России темной лесной, или среднерусской пчелой, имеет огромный ареал распространения вдоль всей Северной Евразии, покрытой лесной и лесостепной растительностью. Подвид медоносной пчелы *A. m. mellifera* уникально адаптирован к экстремально холодным и продолжительным зимам и болезням долгих зимовок, таким как нозематоз, а также к сбору годового запаса меда в короткий период бурного цветения липы в условиях резко континентального климата Евразии [13].

За последние два века ареал *A. m. mellifera* существенно сократился вследствие интенсивных вырубок лесов, интродукции на северные территории южных подвидов пчел, распространения новых патогенов, как нозематоз типа С, вызываемый микроспоридией *Nosema ceranae* [14], варроатоз и аскосфероз. Многочисленные экспери-

менты по скрещиванию разных подвидов медоносной пчелы в условиях одной пасеки привели к неконтролируемой гибридизации подвидов во всем ареале [13, 15, 16]. В коммерческом пчеловодстве Европы и России на данный момент преобладают интродуцированные в Северную Евразию южные подвиды, такие как *A. m. ligustica* [17], *A. m. carnica* [18], *A. m. caucasica* [19], *A. m. carpatica* [20] и *A. m. armeniaca* [21].

Вследствие гибридизации и неограниченного потока генов между естественными и коммерческими популяциями пчел [12, 22] генофонд аборигенных темных лесных пчел *A. m. mellifera* считают утраченным во многих странах Европы [15]. Так, в Германии в результате массовой интродукции южных пчел произошла полная замена подвида *A. m. mellifera* подвидом *A. m. carnica* [23, 24]. В России подвид *A. m. mellifera* был практически повсеместно заменен подвидами *A. m. caucasica* и *A. m. carpatica* [13, 16]. В скандинавских странах и на Британских островах большинство пчеловодов предпочитают разводить *A. m. ligustica*, *A. m. carnica* или искусственно выведенную породу бэкфаст [15]. Таким образом, в последние несколько десятилетий естественный ареал *A. m. mellifera* значительно сократился во всех странах Евразии.

Однако по ранее опубликованным морфологическим исследованиям пчел на территории Пермского края и республики Башкортостан можно предположить, что генофонд темной лесной пчелы *A. m. mellifera* еще не полностью утра-

чен в России [13, 16, 25–27]. Согласно морфометрическим данным, в настоящее время пчеловодство России имеет достаточные для восстановления генофонда *A. m. mellifera* ресурсы, сохранившиеся на территории республик Башкортостан, Татарстан и Удмуртия, Алтайского и Пермского краев и Кировской области [16, 26, 27].

В России ежегодно происходит уменьшение продуктивности пчелиных семей и их массовая гибель после зимовки, что является результатом снижения адаптированности к условиям среды обитания вследствие гибридизации с южными подвидами [13, 26, 27]. Бурзянская популяция темной лесной пчелы *A. m. mellifera* сохраняется в основном благодаря усилиям сотрудников заповедника “Шульган-Таш” и географической изоляции горно-лесными массивами уральских хребтов [13, 16, 28]. В России до сих пор не отработаны правовые механизмы сохранения генофонда местных пчел. Каждая сохранившаяся популяция темной лесной пчелы *A. m. mellifera* в России находится под постоянной угрозой исчезновения в результате гибридизации с интродуцированными подвидами пчел [27–29].

Для восстановления аборигенного генофонда медоносной пчелы *A. m. mellifera* на Урале необходима точная идентификация подвидов. До недавнего времени в России для этих целей использовались только морфометрические методы [13, 26]. Несмотря на то, что морфометрические признаки являются важными при классификации пчел, их трудно использовать для идентификации подвидов, поскольку они сильно подвержены влиянию условий среды обитания и естественного отбора [6]. Генетический маркер, такой как межгенный locus COI-COII мтДНК, уникальный для рода *Apis*, является самым информативным в исследованиях пчел [30]. Вариабельность длины нуклеотидной последовательности этого локуса используется для дифференцировки подвидов четырех эволюционных ветвей и идентификации темной лесной пчелы *A. m. mellifera* [4, 31, 32].

Разработанный нами метод дифференциации подвида *A. m. mellifera* от подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carnica* эволюционной ветви С позволяет исследовать сохранившийся генофонд темной лесной пчелы на территории республики Башкортостан и Пермского края. Метод основан на четких различиях вариантов локуса COI-COII мтДНК у представителей эволюционных ветвей М и С, где варианты PQ, PQQ и PQQQ встречаются только у подвида *A. m. mellifera* (эволюционная ветвь М), а Q — только у интродуцированных из южных регионов подвидов (эволюционная ветвь С) [4]. Этот метод был модифицирован сотрудниками Института биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН и позволил амплифицировать фрагменты ДНК пчел на 200 пн короче, чем

в работах европейских исследователей, что ускоряет и упрощает анализ пчел [13, 26].

Микросателлитные локусы также являются уникальными маркерами для изучения популяционно-генетической структуры и уровня гибридизации подвидов пчел [30, 33, 34]. Наши исследования в основном ориентированы на изучение популяции пчел *A. m. mellifera* республики Башкортостан и Пермского края. Некоторые локальные популяции пчел на Урале подвержены гибридизации с подвидами эволюционной ветви С — *A. m. caucasica* и *A. m. carpatica*. Цель нашего исследования — получить сведения о генетической структуре и ареале популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera* на Урале, подразделенной на несколько локальных популяций, на основе изучения полиморфизма митохондриального (COI-COII) и двухъядерных (микросателлиты ap243 и 4a110) локусов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были отобраны образцы рабочих пчел из 11 пасек трех районов республики Башкортостан и 11 пасек семи районов Пермского края (всего 550 семей) (рис. 1). Образцы пчел были законсервированы в 96%-ном этаноле.

Тотальная ДНК была выделена из грудных мышц методом экстракции на основе смеси гуанидинтиоцианат–фенол–хлороформ [35]. ПЦР локуса COI-COII мтДНК была выполнена по ранее опубликованному методу [13, 26]. Статистическую обработку проводили с использованием программ FSTAT 2.9.3.2 и Genepop 4.2.2. Дендрограмма была построена с применением программы STATISTICA 8.0.

Межгенный locus COI-COII мтДНК, расположенный между 3'-концом гена COI и 5'-концом гена COII, был амплифицирован с помощью locus-специфичных олигонуклеотидных праймеров F-Nik: CACATTTAGAAATTCCATTA и R-Nik: ATAAATATAAATCATGTGGA, в модифицированных условиях, описанных Никоноровым и соавт. [26], позволяющих получать более короткие амплифицированные фрагменты ДНК — на 200 пн короче разработанных ранее европейскими исследователями [26].

У медоносной пчелы подвида *A. m. mellifera* эволюционной ветви М амплифицируются фрагменты PQ размером 400 пн, PQQ размером 600 пн и PQQQ размером 800 пн, а у южных подвидов эволюционной ветви С — только фрагмент Q размером 300 пн (рис. 2) [13, 26]. Такой уникальный полиморфизм длин межгенного локуса COI-COII мтДНК служит маркером для четкой дифференциации местных и интродуцированных подвидов пчел в условиях России.



Рис. 1. Схема расположения изученных локальных популяций медоносной пчелы *A. mellifera*.

Два микросателлитных локуса, 4a110 и ap243, ранее описанные для *A. mellifera* [36, 37], были использованы в исследовании генетической структуры темной лесной пчелы подвида *A. m. mellifera* на Урале. ПЦР была выполнена в объеме 15 мкл, содержащем 50–200 нМ каждого праймера, 100 мкМ каждого dNTP, 1.2–1.5 мМ MgCl₂, 1× буфер (10 мМ Tris-HCl, pH 8.3, 50 мМ KCl), 0.5 U *Taq*-полимеразы (Sintol) и 2 мкл экстракта ДНК. Условия ПЦР: начальная денатурация 3 мин при 94°C, 30 циклов с денатурацией 30 с при 94°C, отжигом 30 с при 55°C и элонгацией 30 с при 72°C и завершающей элонгацией 5 мин при 72°C. Фрагментарный анализ продуктов ПЦР был выполнен на автоматическом секвенаторе Applied Biosystem Sequencer. В изученных нами локальных популяциях темной лесной пчелы *A. m. mellifera* на Урале были зафиксированы три аллеля микросателлитного локуса ap243 (254, 257 и 260 пн) и три аллеля микросателлитного локуса 4a110 (160, 163 и 168 пн).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Поиск сохранившихся локальных популяций темной лесной пчелы *A. m. mellifera* в республике

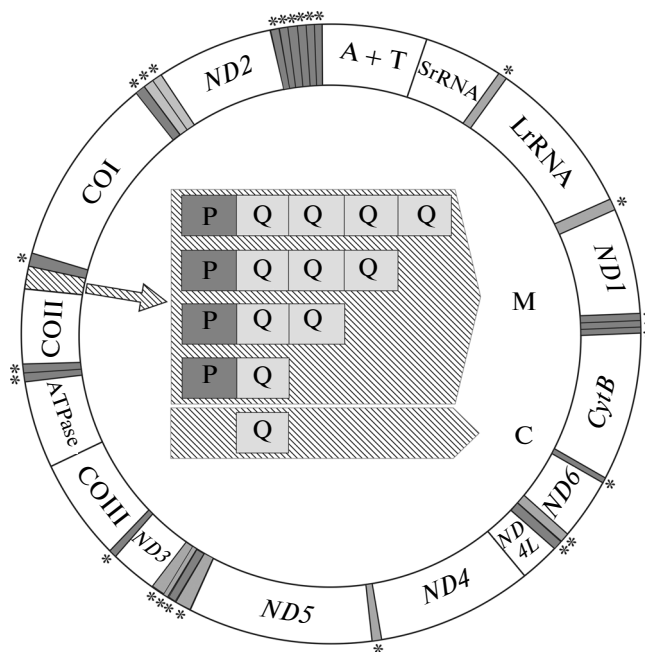


Рис. 2. Локализация межгенного локуса COI-COII мтДНК на кольцевой митохондриальной ДНК медоносной пчелы *A. mellifera* и особенности ее внутривидового полиморфизма. Звездочками обозначены гены транспортной РНК.

Башкортостан и Пермском крае был выполнен на основе полиморфизма длин амплифицированных фрагментов локуса COI-COII мтДНК, где более длинный фрагмент PQQ характеризует местных уральских пчел *A. m. mellifera*, тогда как более короткий фрагмент Q характеризует интродуцированные южные подвиды пчел эволюционной ветви С.

Частоты вариантов PQQ и Q варьировали в локальных популяциях темной лесной пчелы *A. m. mellifera* республики Башкортостан и Пермского края в пределах от 0.57 до 1.00 (табл. 1). Вишерская, Татышлинская и Бурзянская популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera* характеризовались очень высокой частотой варианта PQQ — 0.99, а Южно-Прикамская популяция пчел — более низкой частотой 0.90. Высокая частота варианта PQQ (≥ 0.90) позволяет сделать заключение об их принадлежности к подвиду *A. m. mellifera* по материнской линии. Иглинская популяция медоносной пчелы характеризовалась самой низкой частотой варианта PQQ — 0.57, что позволяет предположить о ее гибридизации с интродуцированными южными подвидами пчел эволюционной ветви С.

Частоты аллелей двух микросателлитных локусов, ap243 и 4a110, распределялись в локальных популяциях темной лесной пчелы *A. m. mellifera* неравномерно (табл. 1). В популяции темной лес-

Таблица 1. Частоты вариантов RQQ (ветвь М) и Q (ветвь С) локуса COI-COII мтДНК и аллелей микросателлитных локусов ar243 и 4a110 в локальных популяциях медоносной пчелы *A. mellifera* на Урале

Локусы	Популяция				
	бурзянская	татышлинская	вишерская	южно-прикамская	иглинская
	<i>N</i> = 66	<i>N</i> = 111	<i>N</i> = 33	<i>N</i> = 111	<i>N</i> = 229
Варианты COI-COII					
RQQ	0.99	0.99	1.00	0.90	0.57
Q	0.01	0.01	0.00	0.10	0.43
Аллели ar243					
254 пн	0.45	0.37	0.36	0.38	0.77
257 пн	0.32	0.54	0.43	0.45	0.16
260 пн	0.23	0.09	0.21	0.17	0.07
Аллели 4a110					
160 пн	0.58	0.48	0.57	0.48	0.71
163 пн	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
168 пн	0.42	0.52	0.43	0.51	0.28

Таблица 2. Генетические расстояния *D* между локальными популяциями медоносной пчелы *A. mellifera* на Урале, полученные на основе частот аллелей микросателлитных локусов ar243 и 4a110 ($P < 0.05$)

Популяция	Бурзянская	Татышлинская	Вишерская	Южно-Прикамская	Иглинская
Бурзянская	—	0.03	0.01	0.02	0.05
Татышлинская		—	0.02	0.01	0.12
Вишерская			—	0.01	0.09
Южно-Прикамская				—	0.10
Иглинская					—

ной пчелы на Урале наиболее часто встречались аллели размером 254 и 257 пн локуса ar243 и аллели размером 160 и 168 пн локуса 4a110.

Генетические расстояния *D* [38] между локальными популяциями темной лесной пчелы *A. m. mellifera* на Урале были рассчитаны с использованием программы FSTAT на основе частот аллелей микросателлитных локусов ar243 и 4a110 и изменялись от 0.01 до 0.12 (табл. 2). Генетические расстояния между локальными популяциями *A. m. mellifera* на Урале — Вишерской, Южно-Прикамской, Татышлинской и Бурзянской — варьировали от 0.01 до 0.03, тогда как расстояния с гибридной Иглинской популяцией варьировали от 0.05 до 0.12. Большие генетические расстояния между локальными популяциями темной лесной пчелы *A. m. mellifera* на Урале являются показателями их генетической отдаленности друг о друга, что мо-

жет быть следствием гибридизации с неродственными подвидами.

ОБСУЖДЕНИЕ

По частотам микросателлитных локусов ar243 и 4a110 в популяции пчел *A. m. mellifera* на Урале были рассчитаны генетические характеристики и коэффициенты *F*-статистики [39] (табл. 3). В популяционной генетике медоносной пчелы *F*-статистика позволяет рассчитать статистически значимый наблюдаемый и ожидаемый по Харди–Вайнбергу уровни гетерозиготности в популяции. *F*-статистика также может рассматриваться в качестве меры корреляции между генами на разных уровнях подразделенности популяции, которая зависит от таких эволюционных процессов, как

Таблица 3. Коэффициенты F -статистики и гетерозиготность в сохранившейся популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera* на Урале, полученные на основе частот аллелей микросателлитных локусов ar243 и 4a110 Бурзянской, Татышлинской, Вишерской и Южно-Прикамской локальных популяций

F_{ST}	F_{IS}	F_{IT}	H_o	H_s	H_T
0.01	0.24	0.25	0.35	0.47	0.48

Примечание. F_{ST} — коэффициент подразделенности популяции на локальные популяции; F_{IS} — коэффициент инбридинга особей в локальных популяциях; F_{IT} — коэффициент инбридинга особей во всей популяции; H_o — наблюдаемая, H_T — ожидаемая гетерозиготность во всей популяции; H_s — ожидаемая гетерозиготность в локальных популяциях.

мутация, миграция, естественный отбор, инбридинг и эффект Валунда.

Положительное значение коэффициентов инбридинга F_{IS} и F_{IT} показывает преобладание близкородственного скрещивания в популяции пчел на Урале на уровне субпопуляции и на уровне всей популяции. Близкое к нулю значение коэффициента F_{ST} характеризует низкий уровень генетической подразделенности популяции, т.е. выделенные нами локальные популяции *A. m. mellifera* на Урале генетически близки друг с другом. В популяции пчел на Урале распределение частот аллелей и генотипов не соответствует равновесному распределению по Харди–Вайнбергу, что вызвано активными генетическими процессами и негативным воздействием условий окружающей среды. Все локальные популяции темной лесной пчелы на Урале характеризуются дефицитом гетерозигот на уровне субпопуляции и всей популяции. Дефицит гетерозигот, как известно, характерен для многих популяций пчел *A. mellifera*, не подверженных интродукции и миграции, и, вероятно, связан с особенностями биологии и развития пчел — гаплодиплоидная смена поколений

большого количества семей, расположенных в резко ограниченном пространстве.

Дендрограмма, определяющая генетические взаимоотношения всех локальных популяций медоносной пчелы *A. m. mellifera* на Урале, была построена в программе STATISTICA 8.0 на основе генетических расстояний D [38] методом группировки ближайших соседей [40] (рис. 3).

На дендрограмме Иглинская популяция располагается отдельно от всех остальных, которые, в свою очередь, группируются вместе. Такое расположение свидетельствует о значительной генетической отдаленности Иглинской локальной популяции от других локальных популяций темной лесной пчелы, что, вероятно, является результатом гибридизации местных пчел с интродуцированными южными подвидами эволюционной ветви С. Совместная группировка остальных четырех локальных популяций темной лесной пчелы говорит об их генетическом родстве по ядерным локусам. Таким образом, на дендрограмме четко выделяются четыре сохранившиеся локальные популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera*: Вишерская, Южно-Прикамская, Татышлинская и Бурзянская.

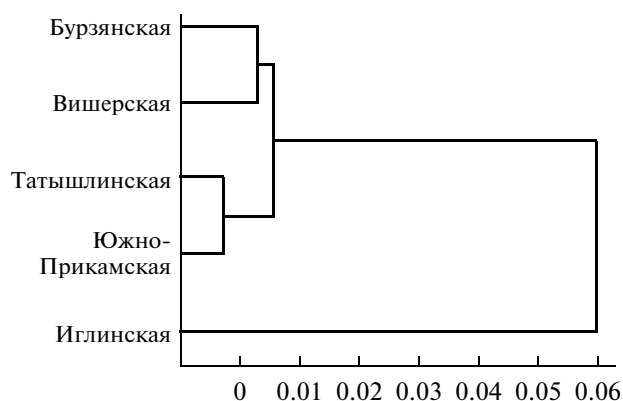


Рис. 3. Дендрограмма генетических взаимоотношений локальных популяций медоносной пчелы *A. mellifera* на Урале, построенная на основе изучения полиморфизма микросателлитных локусов ar243 и 4a110.

В результате проведенных генетических исследований на основе анализа локусов митохондриальной ДНК (COI–COII мтДНК) и ядерной ДНК (два микросателлитных локуса ar243 и 4a110) популяции пчел *A. m. mellifera* на территории Урала — республика Башкортостан (Южный Урал) и Пермский край (Средний Урал) нами были обнаружены четыре сохранившиеся локальные популяции темной лесной пчелы: Вишерская, Южно-Прикамская, Татышлинская и Бурзянская. Мы надеемся, что полученные нами данные позволят продолжить поиск новых локализаций сохранившейся популяции темной лесной пчелы *A. m. mellifera* в России и других странах. В дальнейшем мы планируем расширить число анализируемых локусов и территорию исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 13-04-01802 и на оборудовании ЦКП “Биомика” отделения биохимических ме-

тодов исследований и нанобиотехнологии РЦКП “Агидель”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Linnaeus C.* Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. Editio decima, reformata. Holmiae: Impensis Laurentii Salvii, 1758. 824 p.
2. *Ильясов Р.А., Поскряков А.В.* Филогенетика подвигов *Apis mellifera* // Пчеловодство. 2006. № 7. С. 18–19.
3. *Miguel I., Baylac M., Iriondo M. et al.* Both geometric morphometric and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera* M evolutionary branch // Apidologie. 2011. V. 42. P. 150–161.
4. *Garnery L., Cornuet J.-M., Solignac M.* Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis // Mol. Ecol. 1992. V. 1. P. 145–154.
5. *Estoup A., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.-M.* 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.
6. *Papachristoforou A., Rortais A., Bouga M. et al.* Genetic characterization of the Cyprian honey bee (*Apis mellifera cypria*) based on microsatellites and mitochondrial DNA polymorphisms // J. Apic. Sci. 2013. V. 57(2). P. 127–134.
7. *Ruttner F.* Biogeography and Taxonomy of Honey Bees. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. 288 p.
8. *Sheppard W.S., Arias M.C., Greech A., Meixner M.D.* *Apis mellifera ruttneri*, a new honey bee subspecies from Malta // Apidologie. 1997. V. 28. P. 287–293.
9. *Engel M.S.* The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae: *Apis*) // J. Hym. Res. 1999. V. 8. P. 165–196.
10. *Sheppard W.S., Meixner M.D.* *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia // Apidologie. 2003. V. 34. P. 367–375.
11. *Franck P., Garnery L., Loiseau A. et al.* Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data // Heredity. 2001. V. 86. P. 420–430.
12. *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.
13. *Николенко А.Г., Поскряков А.В.* Полиморфизм локуса COI-COII митохондриальной ДНК *Apis mellifera* L. на Южном Урале // Генетика. 2002. Т. 38. № 4. С. 458–462.
14. *Fries I.M., Feng F., da Silva A.J. et al.* *Nosema ceranae* sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae) // Eur. J. Protistol. 1996. V. 32. P. 356–365.
15. *Jensen A.B., Pedersen B.V.* Honeybee Conservation: a case story from Læsø island, Denmark, in: Lodesani M., Costa C. Beekeeping and conserving biodiversity of honeybee. Sustainable bee breeding. Northern Bee Books, Hebden Bridge, 2005. P. 142–164.
16. *Ильясов Р.А., Петухов А.В., Поскряков А.В., Николенко А.Г.* Локальные популяции *Apis mellifera mellifera* L. на Урале // Генетика. 2007. Т. 43. № 6. С. 855–858.
17. *Spinola S.M.* Insectorum Liguria. Genoa: P. Cajetani, 1806. 160 p.
18. *Pollmann A.* Wert der verschiedenen Bienenrassen und deren Varietäten. Berlin; Leipzig: Voigt, 1879. 100 p.
19. *Gorbachev K.A.* Caucasian gray mountain bee, *Apis mellifera* var. *Caucasica*, and its position among the other bees. Tbilisi: Kavkazskaja shelkovodstvennaja stantsija, 1916. 39 p.
20. *Foti N., Lungu M., Pelimon P. et al.* Studies on the morphological characteristics and biological traits of the bee populations in Romania // Proc. Int. Beekeep. Congr. 1965. V. 20. P. 182–188.
21. *Skorikov A.S.* Beiträge zur Kenntnis der kaukasischen Honigbienenrassen // Rep. Ap. Ent. 1929. V. 4. I–V. P. 1–60.
22. *Peer D.F.* Further studies on the mating range of the honey bee // Can. Entomol. 1957. V. 89. P. 108–110.
23. *Kauhausen-Keller D., Keller R.* Morphometrical control of pure race breeding of honeybee (*Apis mellifera* L.) // Apidologie. 1994. V. 25. P. 133–143.
24. *Maul V., Hähnle A.* Morphometric studies with pure bred stock of *Apis mellifera carnica* Pollmann from Hessen // Apidologie. 1994. V. 25. P. 119–132.
25. *Петухов А.В., Шураков А.И., Еськов Е.К. и др.* Морфологическая характеристика среднерусских пчел верхнекамской популяции // Пчеловодство. 1996. № 5. С. 8–10.
26. *Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В., Поскряков А.В. и др.* Использование метода ПЦР для контроля чистопородности пчелосемей *Apis mellifera mellifera* L. в условиях Южного Урала // Генетика. 1998. Т. 34. № 11. С. 1574–1577.
27. *Гранкин Н.Н., Сафиуллин Р.Р., Стехин С.З.* Сохранить генофонд среднерусских пчел // Пчеловодство. 2004. № 4. С. 16–18.
28. *Бородачев А.В., Савушкина Л.Н.* Сохранение и рациональное использование генофонда пород медоносной пчелы // Пчеловодство. 2012. № 4. С. 3–5.
29. *Бородачев А.В., Савушкина Л.Н.* Состояние генофонда среднерусских пчел // Пчеловодство. 2007. № 5. С. 12–15.
30. *Cornuet J.-M., Garnery L.* Mitochondrial DNA variability in honeybees and its phylogeographic implications // Apidologie. 1991. V. 22. P. 627–642.
31. *Franck P., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.-M.* Molecular conformation of a fourth lineage in honeybees from Middle-East // Apidologie. 2000. V. 31. P. 167–180.
32. *Sheppard W.S., Smith D.R.* Identification of African derived bees in the Americas: a survey of methods // Ann. Ent. Soc. Am. 2000. V. 93(2). P. 159–176.
33. *Clarke K.E., Oldroyd B.P., Javier J. et al.* Origin of honeybees (*Apis mellifera* L.) from the Yucatan Peninsula inferred from mitochondrial DNA analysis // Mol. Ecol. 2001. V. 10. P. 1347–1355.

34. Clarke K.E., Rinderer T.E., Franck P. et al. The Africanization of honeybees (*Apis mellifera* L.) of the Yucatan: A study of a massive hybridization event across time // *Evolution*. 2002. V. 56. P. 1462–1474.
35. Chomzynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chlorophorm extraction // *Anal. Biochem.* 1987. V. 162. P. 156–159.
36. 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. 1351–1362.
37. 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.
38. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // *Genetics*. 1978. V. 2. P. 341–369.
39. Wright S. *Evolution and the Genetics of Populations, Variability within and among Natural Populations*. Chicago: Univ. Chicago Press, 1978. 590 p.
40. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees // *Mol. Biol. Evol.* 1987. V. 4. P. 406–425.

Genetic Differentiation of Local Populations of the Dark European Bee *Apis mellifera mellifera* L. in the Urals

R. A. Il'yasov^a, A. V. Poskryakov^a, A. V. Petukhov^b, and A. G. Nikolenko^a

^a*Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia*

^b*Department of Zoology, Perm State Pedagogy and Humanities University, Perm, 614990 Russia*
e-mail: apismell@hotmail.com

For the last two centuries, beekeepers in Russia and Europe have been introducing bees from the southern regions to the northern ones, subjecting the genetic pool of the dark European bee *Apis mellifera mellifera* L. subspecies to extensive hybridization. In order to reconfirm on the genetic level the previously published morphological data on the native bee population in the Urals, the Bashkortostan Republic, and the Perm Krai, we analyzed the polymorphism of the mitochondrial (mtDNA COI–COII intergenic locus) and nuclear (two microsatellite loci, ap243 and 4a110) DNA markers. Four local populations of the dark European bee *A. m. mellifera* surviving in the Urals have been identified, and their principal genetic characteristics have been determined. Data on the genetic structure and geographical localization of the areals of the dark European bee local populations in the Urals may be of use in restoring the damaged genetic pool of *A. m. mellifera* in Russia and other northern countries.

English translation of the paper is published in “Russian J. Genetics” (2015, vol. 51, no. 7), www.maik.ru.