

## АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ (*Apis mellifera* L.)

© 2015 г. М. Д. Каскинова<sup>1</sup>, Р. А. Ильясов<sup>2</sup>, А. В. Поскряков<sup>2</sup>, А. Г. Николенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Башкирский государственный аграрный университет, Уфа 450001  
e-mail: kaskinovamilyausha@mail.ru, apismail@hotmail.com

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа 450054  
Поступила в редакцию 09.12.2014 г.

Представлены результаты анализа генетической структуры популяции медоносной пчелы в южной части Башкортостана по данным мтДНК (локус COI-COII) и пяти микросателлитным локусам ядерной ДНК (Ar243, 4A110, A8, A113 и A28). Полученные данные свидетельствуют, что исследуемые популяции пчел испытывают дефицит гетерозигот, несмотря на интенсивную межпородную гибридизацию, а также позволяют предположить локализацию в изучаемом регионе границы между популяцией *Apis mellifera mellifera* L. и гибридной зоной.

**Ключевые слова:** медоносная пчела *Apis mellifera* L., микросателлиты, локус COI-COII, мтДНК.

**DOI:** 10.7868/S0016675815100070

Важным условием сохранения генофонда медоносной пчелы является установление границ ее распространения. Для пчеловодства лесной и лесостепной зон Евразии, в том числе и для Республики Башкортостан (РБ), аборигенным является подвид медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. В результате вмешательства человека в процесс расселения пчел границы между подвидами начали стираться. Гибридизация одних подвидов пчел с другими стала обычным явлением на всех континентах и только редкие островки чистопородных популяций сохранились в труднодоступных территориях. Так, локальные популяции темной лесной пчелы были обнаружены в Пермском крае и на севере РБ [1], на Британских островах и в Скандинавии [2]. После того, как было подтверждено, что в лесах Бурзянского района сохранилась генетически чистая популяция среднерусской пчелы [3], исследования популяций медоносной пчелы в Башкортостане продолжились. Исследования были направлены на уточнение границ ареала бурзянской популяции и поиск других сохранившихся популяций среднерусской пчелы. Целью данной работы было изучение генофонда пчел в южной части РБ, к югу от известного нам ареала бурзянской популяции.

Проведен генетический анализ пчелосемей Зилаирского и Хайбуллинского районов РБ по данным локуса COI-COII мтДНК и микросателлитным локусам Ar243, 4A110, A8, A113 и A28. Пчелы собраны летом 2013 г. из 91 семьи Зилаирского района и 130 семей Хайбуллинского района. Выделение ДНК производили смесью гуани-

динтиоцианат–фенол–хлороформ. ПЦР-анализ локуса COI-COII проводили в термоциклере “Циклотерм” в объеме 15 мкл с использованием следующих праймеров: F-5'-tgccagaataaagtcattgaa-3' и R-5'-cagcataatgaattgattcttga-3'. Микросателлитные локусы амплифицировали в 96-луночном амплификаторе T100. Режим амплификации: 3 мин 94°C, затем 30 циклов с денатурацией 30 с при 94°C, отжигом 30 с при 54°C, элонгацией 60 с при 72°C и конечной элонгацией 3 мин при 72°C. Разделение амплификатов производили в 8%-ном полиакриламидном геле с использованием 1%-ного раствора ТВЕ-буфера и окрашивали раствором бромистого этидия. Гели визуализировали в ультрафиолетовом трансиллюминаторе Vilber Lourmat.

Первичный анализ генофонда по полиморфизму локуса COI-COII (вариант RQQ которого является маркером происхождения пчел от *A. m. mellifera*), выполненный по ранее описанному методу [4], показал, что 50% исследованных семей Зилаирского района происходят по материнской линии от пчел среднерусской породы. Наибольшие частоты варианта RQQ наблюдались в д. Бердяшево – 0.96 (объем выборки (*N*) – 27 семей) и д. Дмитриевка – 0.9 (*N* = 20). В Хайбуллинском районе доля семей, происходящих от среднерусской породы, составила 13%. Относительно большие частоты RQQ наблюдались в с. Подольск (0.40), с. Антинган (0.38) и д. Янтышево (0.30).

На основе географического расположения мест сбора проб и данных первичного анализа полиморфизма мтДНК были сгруппированы отно-



**Рис. 1.** Группировка субпопуляций медоносных пчел в Зилаирском и Хайбуллинском районах для компьютерной обработки результатов анализа микросателлитных локусов ядерной ДНК. Пояснения см. в тексте статьи.

сительно однородные по мтДНК выборки для компьютерного анализа генного разнообразия по микросателлитным локусам. Пчелиные семьи Зилаирского района были сгруппированы в три кластера (рис. 1): Zil1, в состав которого вошли семьи из деревень Дмитриевка и Бердяшево ( $N = 48$ ), с частотой варианта мтДНК PQQ 0.94; Zil2 – семьи из деревень Сидоровка, Сабырово, Сяляхово, Байгужино и Новоображенское ( $N = 26$ ), с частотой PQQ 0.08; Zil3 – населенные пункты (н.п.) Искужино, Ямансаз, Юмагужино ( $N = 17$ ), с частотой PQQ 0.41. Пчелиные семьи Хайбул-

линского района сгруппировали в 4 кластера: Haib1 – семьи из н.п. Воздвиженка и Подольск ( $N = 36$ ), с частотой PQQ 0.14; Haib2 – семьи из сел Садовый и Макан ( $N = 34$ ), где вариант PQQ отсутствует; Haib3 – семьи из сел Яковлевка и Федоровка ( $N = 36$ ), где вариант PQQ также не представлен, и Haib4 – семьи из н.п. Янтышево и Атинган ( $N = 24$ ), с частотой PQQ 0.50.

На основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов были вычислены показатели генного разнообразия: наблюдаемая ( $H_o$ ) и ожидаемая ( $H_e$ ) гетерозиготности,  $F$ -статистики Райта ( $F_{st}$ ,  $F_{it}$  и  $F_{is}$ ) (таблица). Вычисления проводили при помощи пакета программ FSTAT и POPULATION ver. 1.2.32.

Полученные данные показали, что пчелиные семьи в целом, несмотря на интенсивную межпородную гибридизацию, испытывают некоторый дефицит гетерозигот по всем локусам ( $H_o < H_e$ ). Среднее значение  $F_{is}$  (доля инбридинга внутри субпопуляций) для изученной группы пчелиных семей составило 0.086, что существенно ниже величин этого показателя не только для генетически чистой бурзянской популяции ( $F_{is} = 0.421$ ), но и для умеренно гибридной иглинской ( $F_{is} = 0.177$ ) [5]. Это свидетельствует о высокой степени аутбридинга (интенсивном межпородном скрещивании) в изучаемом регионе и хорошо согласуется с нашими данными по полиморфизму мтДНК.

Коэффициент  $F_{st}$ , характеризующий степень подразделенности субпопуляций, имея ту же величину 0.086, по существу оказался очень высоким. Полученная величина сопоставима с генетически чистой бурзянской и умеренно гибридной иглинской популяциями ( $F_{st} = 0.080$ ) [5]. Приведенные в литературе генетические различия между чистыми популяциями *Apis mellifera mellifera* L. еще ниже: величина  $F_{st}$  для западноевропейских и скандинавских популяций составила 0.050 [6], а

Показатели генетического разнообразия по локусам Ap243, 4A110, A8, A113 и A28 для субпопуляций медоносных пчел в Зилаирском и Хайбуллинском районах

Локус	$H_o$	$H_e$	$F_{is}$	$F_{st}$	$F_{it}$
Ap243	0.092	0.096	0.026	0.013	0.038
4A110	0.223	0.236	0.038	0.046	0.082
A8	0.531	0.665	0.185	0.090	0.256
A113	0.400	0.438	0.069	0.074	0.137
A28	0.329	0.378	0.113	0.207	0.297
Среднее	0.315	0.363	0.086	0.086	0.162



## Analysis of the Genetic Structure of Honeybee (*Apis mellifera* L.) Populations

M. D. Kaskinova<sup>a</sup>, R. A. Piyasov<sup>b</sup>, A. V. Poskryakov<sup>b</sup>, and A. G. Nikolenko<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Bashkir State Agrarian University, Ufa, 450001 Bashkortostan, Russia

e-mail: kaskinovamilyausha@mail.ru, aprismail@hotmail.com

<sup>b</sup>Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Bashkortostan, Russia

The genetic structure of honeybee populations from the southern part of Bashkortostan was assessed based on an analysis of mtDNA (COI–COII locus) and five nuclear DNA microsatellite loci (Ap243, 4A110, A8, A113, and A28). The data indicate that the examined populations experience a deficit of heterozygotes despite intense interpedigree hybridization. It is suggested that there is a boundary between the population of *Apis mellifera mellifera* L. and the hybrid zone in the examined region.

*Keywords:* honey bee *Apis mellifera* L., microsatellites, locus COI–COII, mtDNA.

English translation of the paper is published in “Russian J. Genetics” (2015, vol. 51, no. 10), [www.maik.ru](http://www.maik.ru).