Известия Уфимского научного центра Российской академии наук

Proceedings of the Russian Academy of Sciences Ufa Scientific Centre

Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre, 3(4), October, 2018.

Peer-Reviewed Scientific Journal

Published Quarterly

ISSN 2222-8349

http://sciencerb.ru/

The journal entitled Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre (Izvestia Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN) was founded in 2010.
The registration certificate is ПИ # ФС77-41859 of August 27, 2010.

The founder is the Federal State Budgetary Scientific Institution Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences (UFRC RAS).

The Editor-in-Chief is Prof. Dr. Marat A. Ilgamov,

Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (ilgamov@anrb.ru). This quarterly journal publishes the results of open scientific research on natural science and the humanities carried out by scientists of academic and higher educational institutions, as well as by persons who perform research studies on their own initiative.

The goal of this journal is to rapidly publish new scientific and technological results as well as digest reviews of scientific and methodological problems being of interest for a wide audience, including researchers and practitioners. You will also find here the personalia, information about conferences, congresses and other scientific events, and official news.

All articles published in the journal are subject to peer reviewing.
Articles are covered by the Russian Science Citation Index. Full-text versions are available on-line free of charge at www.elibrary.ru

The journal has been expertized by the VINITI leading specialists (All-Russian Institute for Scientific and Technical Information) and is included in the Abstract Journal and VINITI RAS databases on the following subjects: BIOLIOGY, GEOLOGY, MECHANICS, CHEMISTRY, PHYSICS. Information about journal issues is given in the VINITI RAS Catalogue (www.viniti.ru).

The journal was included in Ulrich's Periodicals Directory in 2013.
Authors should not pay to have their articles published.
In 2015, it was included in the list of VAK in the following areas:
01.04.00 - physics;
02.00.00 -chemical sciences;
03.01.00 -physical and chemical biology;
03.02.00 - General Biology;
03.03.00 -physiology.

СОДЕРЖАНИЕ

№ 3(4). 2018 Известия Уфимского научного центра РАН, 3(4), Октябрь. 2018.

БИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ И ГЕНЕТИКА

О.В. Дымова, Т.К. Головко
Фотосинтетические пигменты: функционирование, экология, биологическая активность 5

Е.Ю. Егупова, М.Ю. Шарипова, И.Е. Дубовик
Использование цианобактерий в качестве тест-объектов при применении фунгицидов в сельском хозяйстве 17

Р.Ф. Еникеева, А.В. Казанцева, А.Р. Романова, Д.Ю. Давыдова, Э.К. Хуснутдинова
Анализ ассоциаций полиморфных локусов rs1045881 и rs4971648 гена NRXN1 с фенотипическими вариациями в уровне математической тревожности 23

Р.И. Ибрагимов, В.О. Цветков, И.А. Шпирная, И.С. Марданшин, Л.Г. Яруллина
Влияние пищевого субстрата на активность гидролаз колорадского жука 29

Р.А. Ильясов, А.Г. Николенко, В.Р. Туктаров, К. Гото, Д. Такахаши, Х В. Квон
Митохондриальные геномы кавказской *A. m. caucasica* и карпатской *A. m. carpathica* пчел 35

М.А. Капустин, А.С. Чубарова, В.П. Курченко, Л.Н. Журихина, В.Г. Цыганков, А.М Бондарук
Изучение термостабильности и токсичности наноструктур феруловой кислоты с гидроксипропилированным бета-циклодекстрином 44

М.Д. Каскинова, А.Р. Гатауллин, М.В. Хасанов, Р.А. Ильясов, Хюн Вук Квон, А.Г. Николенко
Оценка чистопородности популяции *Apis mellifera mellifera* L. на территории заказника Алтын-Солок 51

А.В. Коробова, Б.Р. Кулуев, Г.Р. Кудоярова, С.Ю. Веселов
Особенности фенотипа, метаболизма, накопления и распределения цитокининов у ENT3 мутанта арабидопсиса в норме и при дефиците минерального питания 57

А.А. Кочукова, А.Н. Саньков, А.А. Шмыгарева, А.В. Пантюхин
Разработка технологии жидких лекарственных форм для внутреннего применения на основе лекарственного растительного сырья – плоды аронии черноплодной (*Fructus Aroniae melanocarpae*) 64

Т.Г. Кутлина, Я.В. Валова, Д.О. Каримов, Г.Ф. Мухаммадиева, Н.Ю. Хуснутдинова, Д.А. Смолянкин, Э.Ф. Репина, А.Б. Бакиров
Анализ экспрессии генов GSTT и GSTM при токсическом гепатите в условиях эксперимента 70

CONTENTS

2018. № 3(4) Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre, 3(4), October. 2018.

BIOLOGY, BIOCHEMISTRY AND GENETICS

O.V. Dymova, T.K. Golovko
Photosynthetic pigments: functioning, ecology and biological activity 5

E.Yu. Egupova, M Yu. Sharipova, I.E. Dubovik
Use of cyanobacteria as biofertilizers and test-objects at application of fungicides in agriculture 17

R.F. Enikeeva, A.V. Kazantseva, A.R. Romanova, D.Y. Davydova, E.K. Khusnutdinova
Analysis of associations of polymorphic loci rs1045881 and rs4971648 of the NRXN1 gene with phenotypic variations of mathematical anxiety 23

R. Ibragimov, V. Tsvetkov, I. Shpirnaya, I. Mardanshin, L. Yarullina
Effect of food substrate on the activity of hydrolases of the Colorado potato beetle 29

R. Ilyasov, A. Nikolenko, V. Tuktarov, Goto Kenji, Takahashi Jun-ichi, Kwon Hyung Wook
Mitochondrial genomes of Caucasian *A. m. caucasica* and Carpathian *A. m. carpathica* honeybees 35

M.A. Kapustin, A.S. Chubarova, V.P. Kurchenko, L.N. Zhurihina, V.G. Cigankov, A.M. Bondaruk
Study of ferulic acid/hydroxypropylated beta-cyclodextrin nanostructures thermostability and toxicity 44

M.D. Kaskinova, A.R. Gataullin, M V. Khasanov, R.A. Ilyasov, Hyung Wook Kwon, A.G. Nikolenko1
The purebredness estimation of *Apis mellifera mellifera* L. population in the Altyn-Solok conservancy area 51

A.V. Korobova, B.R. Kuluev, G.R. Kudoyarova, S.Yu. Veselov
Plant phenotype, metabolism, accumulation and distribution of cytokinins in the ENT3 mutant arabidopsis under optimal and deficient mineral nutrition 57

A.A. Kochukova, A.N. Sankov, A.A. Shmygareva, A.V. Pantyukhin
Development of technology of liquid dosage forms for internal use on the basis of medicinal plant raw materials-fruits of Aroniae melanocarpae (*Fructus Aroniae melanocarpae*) 64

T.G. Kutlina, Ya.V. Valova, D.O. Karimov, G.F. Mukhammadiyeva, N.Yu. Khusnutdinova, D.A. Smolyankin, E.F. Repina, A.B. Bakirov
Analysis of expression of GSTT and GSTM genes in toxic hepatitis in experimental conditions 70

БИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 638.12 : 631.523.5
DOI: 10.31040/2222-8349-2018-4-3-35-43

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ГЕНОМЫ КАВКАЗСКОЙ *A. M. CAUCASICA* И КАРПАТСКОЙ *A. M. CARPATHICA* ПЧЕЛ

© Р.А. Ильясов, А.Г. Николенко, В.Р. Туктаров, К. Гото, Д. Такахаши, Х.В. Квон

Проанализированы полные последовательности митохондриального генома подвидов медоносных пчел *A. m. caucasica* (16341 п.н.) и *A. m. carpathica* (16336 п.н.). Обе последовательности митохондриальной ДНК (мтДНК) содержали 13 белок-кодирующих генов (CDS), 22 генов транспортной РНК (тРНК), 2 гена рибосомальной РНК (рРНК) и одну АТ-богатую регуляторную область. Общий состав нуклеотидов в мтДНК *A. m. caucasica* / *A. m. carpathica* - A (43,2 / 43,3%), C (9,5 / 9,6%), G (5,6 / 5,5%) и T (41,6 / 41,6%). Показано, что 9 белок-кодирующих генов и 14 генов тРНК расположены на тяжелой цепи, а 4 белок-кодирующих гена, 2 гена рРНК и 8 генов тРНК расположены на светлой нити для обоих подвидов. Результаты этого исследования могут быть полезны для дальнейших филогенетических и популяционных генетических исследований у пчел.

Ключевые слова: *Apis mellifera*, подвиды пчел, *A. m. caucasica, A. m. carpathica,* мтДНК, консервационная генетика.

Введение. Медоносная пчела *Apis mellifera* широко распространена по всему Старому Свету и подразделена на 30 подвидов. Каждый подвид пчел характеризуется собственным ареалом и уникальной приспособленностью к своей среде обитания. Среднерусская пчела *Apis mellifera mellifera*, серая горная кавказская пчела *Apis mellifera caucasica*, и карпатская пчела *Apis mellifera carpathica* являются наиболее распространенными подвидами в России и странах СНГ. Пчелы подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* широко распространены в южных регионах России и в странах вокруг Черного и Средиземного морей. Подвиды пчел *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* приспособлены к обитанию горнолесных зонах Кавказских и Карпатских гор и характеризуются уникальными хозяйственно-полезными признаками, такими как спокойное поведение, высокая производительность меда и активность опылительной деятельности. Подвиды пчел *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* могут играть важную роль в сохранении локальных экотипов и биоразнообразия местных экосистем [1].

Естественные ареалы подвидов пчел *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* очень близки и

ИЛЬЯСОВ Рустем Абузарович – д.б.н., Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Колледж естественных наук и биоинженерии Инчхонский национальный университет,
e-mail: apismell@hotmail.com
НИКОЛЕНКО Алексей Геннадьевич – д.б.н., Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН,
e-mail: a-nikolenko@yandex.ru
ТУКТАРОВ Варис Рафкатович – д.с.-х.н., Башкирский государственный аграрный университет,
e-mail: t.varis@mail.ru
ГОТО Кендзи, Башкирский государственный аграрный университет,
e-mail: cool.kendzi@gmail.com
ТАКАХАШИ Дзюн-ичи – д.б.н., Киотский Университет Сангё, e-mail: jit@cc.kyoto-su.ac.jp
КВОН Хюн Вук – д.б.н., Колледж естественных наук и биоинженерии Инчхонский национальный университет, Научно-исследовательский центр насекомых-переносчиков болезней Инчхонский национальный университет, e-mail: hwkwon@inu.ac.kr

Рис. 1. Географическая локализация точек отбора образцов пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica*

расположены между кавказскими и карпатскими горами. Ареал кавказской пчелы охватывает территории южных регионов России, Грузии, Азербайджана и Армении, а карпатской пчелы – охватывает территории Австрии, Чехии, Словакии, Украины, Венгрии, Польши и Румынии. Современная территория распространения пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* стала более обширной и включает соседние страны, такие как Турция, Белоруссия, Узбекистан и Болгария. Перекрывание ареалов распространения *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* привело к усилению процессов гибридизация и интрогрессия между этими [2].

Известно, что генофонд многих подвидов пчел, в том числе *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* находятся под угрозой исчезновения вследствие их гибридизации с другими подвидами пчел в пределах естественного ареала [3]. До настоящего времени полные мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* не были изучены. В данной работе нами были определены и загружены в Генбанк полные последовательности мтДНК *A. m. caucasica* (AP018404) and *A. m. carpathica* (AP018403). Результаты наших исследований могут в дальнейшем быть использованы в разработке методов генетической идентификации пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica*.

Материалы и методы. Рабочие особи пчел, ранее идентифицированные с использованием морфометрического анализа [4] как подвид *A. m. caucasica* были отобраны в 2013 году с пасеки, расположенной в Сочинском районе Краснодарского края. Рабочие особи пчел, ранее идентифицированные с использованием морфометрического анализа как подвид *A. m. carpathica* были отобраны в 2011 году с пасеки, расположенной в Майкопском районе Республики Адыгея (рисунок 1).

Тотальную ДНК извлекали из торакса рабочих особей пчел, используя набор ДНК-ЭКСТРАН (СИНТОЛ, Россия). Нуклеотидные последовательности мтДНК *A. m. caucasica* и *A.*

Таблица 1

Состав нуклеотидов полной последовательности мтДНК пчел подвидов A. m. caucasica и A. m. carpathica

Нуклеотиды	A. m. caucasica 16341 п.н.		A. m. carpathica 16336 п.н.	
	Число	%	Число	%
Аденин (A)	7067	43,2	7066	43,3
Цитозин (C)	1560	9,5	1562	9,6
Гуанин (G)	908	5,6	906	5,5
Тимин (T)	6806	41,6	6800	41,6
Динуклеотид GC	2468	15,1	2468	15,1
Динуклеотид AT	13873	84,9	13866	84,9

Таблица 2

Частота динуклеотидов в полной последовательности мтДНК пчел подвидов A. m. caucasica / A. m. carpathica

2 позиция / 1 позиция	A	C	G	T
A	0,195 / 0,194	0,032 / 0,032	0,022 / 0,022	0,184 / 0,185
C	0,044 / 0,044	0,015 / 0,015	0,005 / 0,005	0,032 / 0,033
G	0,028 / 0,028	0,006 / 0,006	0,007 / 0,007	0,014 / 0,014
T	0,166 / 0,166	0,043 / 0,043	0,022 / 0,022	0,186 / 0,185

m. carpathica были определены в факультете естественных наук Киотского Университета Сангё (Япония) с использованием технологии секвенирования Illumina Next Seq 500 (ILLUMINA, США), используя стандартный протокол для анализа мтДНК медоносной пчелы. Выявленные нуклеотидные последовательности мтДНК были загружены в базы данных DDBJ/GenBank под номерами доступа AP018404 для *A. m. caucasica* и AP018403 для *A. m. carpathica*. Фрагменты 1662186 прочтений ДНК *A. m. caucasica* и 1541213 прочтений ДНК *A. m. carpathica* были картированы и аннотированы с использованием веб-сервера MITOS и Geneious R9 (BIOMATTERS, Новая Зеландия).

МтДНК *Apis mellifera ligustica* (номер доступа GenBank NC_001566) была использована в качестве референсной последовательности. Белок-кодирующие гены, гены тРНК и рРНК мтДНК выравнивались и аннотировались с использованием компьютерных программ CLC Genomics Workbench 11 (CLCbio, Дания), а также Unipro UGENE 1.28 (UNIPRO, Россия).

Результаты и обсуждения. Полные последовательности мтДНК пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* составили 16341 п.н. и 16336 п.н., соответственно, что немного больше размера мтДНК *Drosophila yacuba* 16019 п.н. Мы определили долю нуклеотидов A, C, G и T и наиболее важных пар GC и AT в мтДНК подвидов пчел. Среднее содержание GC и AT-нуклеотидов в мтДНК пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* составляло 15,1% и 84,9%, соответственно (таблица 1).

Для сравнения, мтДНК плодовой мушки *Drosophila melanogaster* и других подвидов медоносных пчел также очень богаты AT. Это может быть связано с частыми заменами 5-метилцитозина и 6-метилгуанина в парах GC парами AT в ходе эволюции [5]. Были рассчитаны частоты всех динуклеотидов в полной последовательности мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m.*

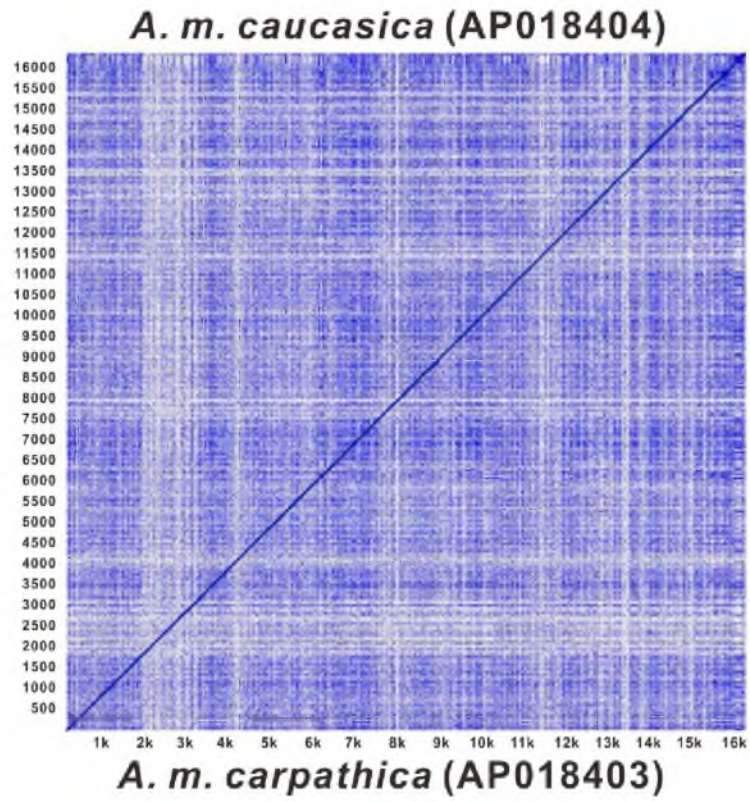

Рис. 2. Точечный график dot plot сравнения полной последовательности мтДНК пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica*

carpathica, где самая низкая частота в обеих мтДНК была для CG (0,005), а самая высокая – для AA (0,195) (таблица 2). Наиболее часто встречающимися динуклеотидами были AA, TA, AT, TT, а самыми редкими динуклеотидами оказались CG, GC, GG.

Сравнительный анализ полной мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* обнаружил 125 однонуклеотидных полиморфных сайтов (SNP) и показал 99,24% идентичности. Высокое сходство между полной мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* может быть визуализировано точечным графиком dot plot, в котором прямая непрерывная диагональная линия подтверждает высокий уровень идентичности между двумя последовательностями мтДНК (рисунок 2).

МтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* обладали высоким сходством с референсной последовательностью *A. m. ligustica* (NC_001566) и содержали 13 белок-кодирующих генов, 22 гена тРНК, 2 гена рРНК и AT-богатую регуляторную область (таблица 3). Синтения всех сравниваемых мтДНК подвидов пчел не отличается - все подвиды медоносной пчелы имеют сходство в физической ко-локализации генов в полной последовательности мтДНК.

Стартовыми кодонами белок-кодирующих генов мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* являются ATG в 3 генах (ATP6, COX3, CYTB), ATA в 3 генах (COX1, ND3, ND4), ATT в 6 генах (COX2, ATP8, ND1, ND4L, ND5, ND6), ATC в 1 гене (ND2). Стоп-кодоном всех белок-кодирующих генов мтДНК пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* является TAA.

Некоторые гены мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica*, такие как гены ND2 и тРНК-Cys, ATP6 и ATP8, COXI и тРНК-Leu, COXII и тРНК-Asp, перекрываются между собой. МтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* имеют по два гена для двух генов транспортной РНК (тРНК): тРНК-Ser и тРНК-Leu, но они не идентичны. Это гены изоакцепторных тРНК. Первый ген тРНК-Ser распознает кодон AGN с антикодоном TCT, расположенным на тяжелой цепи в положении (138-140), а второй ген тРНК-Ser распознает кодон UCN с антикодоном TGA, расположенным на тяжелой цепи в положении (12230-12232) относительно референсной последовательность

Таблица 3

Расположение 37 генов в полной последовательности мтДНК пчел подвидов A. m. caucasica и A. m. carpathica относительно референсной последовательности пчелы подвида A. m. ligustica

Тип	Ген	Цепь	Регион
Белок-кодирующие гены	ND2	тяжелая	502 - 1503
	COX1	тяжелая	1794 - 3359
	COX2	тяжелая	3618 - 4295
	ATP8	тяжелая	4444 - 4602
	ATP6	тяжелая	4584 - 5264
	COX3	тяжелая	5285 - 6064
	ND3	тяжелая	6185 - 6538
	ND5	легкая	6892 - 8556
	ND4	легкая	8644 - 9987
	ND4L	легкая	9991 - 10254
	ND6	тяжелая	10441 - 10944
	CYTB	тяжелая	11004 - 12155
	ND1	легкая	12302 - 13219
Гены тРНК	тРНК-Glu	тяжелая	1 - 66
	тРНК-Ser	тяжелая	116 - 178
	тРНК-Met	тяжелая	221 - 286
	тРНК-Gln	тяжелая	296 - 358
	тРНК-Ala	тяжелая	360 - 429
	тРНК-Ile	тяжелая	433 - 501
	тРНК-Cys	легкая	1503 - 1571
	тРНК-Tyr	легкая	1592 - 1659
	тРНК-Trp	тяжелая	1722 - 1793
	тРНК-Leu	тяжелая	3355 - 3424
	тРНК-Asp	тяжелая	4294 - 4362
	тРНК-Lys	тяжелая	4370 - 4438
	тРНК-Gly	тяжелая	6119 - 6184
	тРНК-Arg	легкая	6572 - 6638
	тРНК-Asn	тяжелая	6734 - 6802
	тРНК-Phe	легкая	6810 - 6878
	тРНК-His	легкая	8557 - 8624
	тРНК-Thr	тяжелая	10267 - 10344
	тРНК-Pro	легкая	10365 - 10432
	тРНК-Ser2	тяжелая	12201 - 12267
	тРНК-Leu2	легкая	13220 - 13290
	тРНК-Val	легкая	14662 - 14731
Гены рРНК	LrRNA	легкая	13291 - 14661
	SrRNA	легкая	14732 - 15517
Межгенные спейсеры	AT-богатая область	тяжелая	15517 - 16343

Таблица 4

Открытые рамки считывания в полной последовательности мтДНК пчел подвидов A. m. caucasica / A. m. carpathica относительно референсной последовательности пчелы подвида A. m. ligustica

№	Стартовая позиция	Конечная позиция	Размер, п.н.	Цепь	Стартовый кодон
1	1788 (тРНК-Trp)	3359 (тРНК-Leu)	1572 / 1572	тяжелая	ATC
2	2090 (COX1)	2434 (COX1)	345 / 345	тяжелая	ATT
3	3989 (COX2)	4291 (COX2)	303 / 303	легкая	ATT
4	5285 (COX3)	6064 (COX3)	780 / 780	тяжелая	ATG
5	6892 (ND5)	8559 (тРНК-His)	1668 / 1668	легкая	ATC
6	10417 (тРНК-Pro)	10944 (ND6)	528 / 528	тяжелая	ATT
7	12302 (ND1)	13225 (тРНК-Leu2)	924 / 924	легкая	ATA

A. m. ligustica (NC_001566). Первый ген тРНК-Leu распознает кодон UUR с антикодоном TAA, расположенным на тяжелой цепи в положении (3388-3390), а второй ген тРНК-Leu распознает кодон CUN с антикодоном GAT, расположенным на легкой цепи в положении (13267-13269) относительно референсной последовательности *A. m. ligustica* (NC_001566). Очевидно, что это результат адаптивной эволюции пчел, где эти два гена тРНК-Ser и тРНК-Leu обеспечивают гарантированный синтез важных белков и пептидов.

Тяжелая цепь мтДНК пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* содержит 9 белок-кодирующих генов (ND2, COX1, COX2, ATP8, ATP6, COX3, ND3, ND6, CYTB), 14 генов тРНК (тРНК-Glu, тРНК-Ser, тРНК-Met, тРНК-Gln, тРНК-Ala, тРНК-Ile, тРНК-Trp, тРНК-Leu, тРНК-Asp, тРНК-Lys, тРНК-Gly, тРНК-Asn, тРНК-Thr, тРНК-Ser), а легкая цепь мтДНК содержит 4 белок-кодирующих гена (ND1, ND4, ND4L, ND5), 8 генов тРНК (тРНК-Cys, тРНК-Tyr, тРНК-Arg, тРНК-Phe, тРНК-His, тРНК-Pro, тРНК-Leu, тРНК-Val) и 2 гена рРНК (LrRNA, SrRNA).

Пятнадцать сайтов рестрикции являются общими для мтДНК пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica*. Уникальный сайт рестрикции XbaI в гене ND5 мтДНК был обнаружен только у *A. m. caucasica* и отсутствовал у *A. m. carpathica*. Сайт рестрикции XbaI (T▼CTAGA) в гене ND5 мтДНК появился у пчелы подвида *A. m. caucasica* в результате однонуклеотидной замены SNP 7830C>A относительно референсной последовательности *A. m. ligustica* (NC_001566), которая изменила последовательность с TCTAGC на TCTAGA.

Анализ *in silico* полных последовательностей мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica*, выявил 7 открытых рамок считывания (ORF), которые потенциально могут быть транслированы (таблица 4). Эти открытые рамки считывания имеют разную длину, где самый большой имеет размер 1668 п.н. (позиция 6892-8559 относительно референсной последовательности *A. m. ligustica*), а самый короткий - 303 п.н. (позиция 3989-4291 относительно референсной последовательности *A. m. ligustica*) у обоих подвидов. Четыре из семи открытых рамок считывания расположены на тяжелой цепи мтДНК, а остальные три - на легкой цепи мтДНК.

Сравнительный анализ выровненной полной мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* показал 125 полиморфных сайтов, 30 из которых - инсерции, 40 - делеции, 37 - транзиции, 18 - трансверсии. Известно, что в процессе эволюции в мтДНК чаще возникают транзиции, чем трансверсии. Соотношение транзиций к трансверсиям в мтДНК медоносной пчелы составляет 2,05, что очень близко к соотношением 2,06 у плодовой мушки *D. melanogaster* [6].

Между нуклеотидными последовательностями полной мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* было обнаружено 27 транзиций, 6 транс-

версий и 1 делеция, что привело к различиям 34 аминокислотных остатках в продуктах трансляции 10 генов. Так, *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* по гену ND2 различаются заменами 3 аминокислот, по гену COX1 - заменой 1 аминокислотного остатка, по гену COX2 - заменами 2 аминокислотных остатков, по гену COX3 - заменами 3 аминокислотных остатков, по гену ND3 - заменой 1 аминокислотного остатка, по гену ND5 - заменами 4 аминокислотных остатков, по гену ND4 - заменами 9 аминокислотных остатков, по гену ND6 - заменами 5 аминокислотных остатков, по гену CYTB - заменами 2 аминокислотных остатков, по гену ND1 - заменами 5 аминокислотных остатков. Вероятно, данные замены аминокислотных остатков не сильно изменяют конформации белков, а являются только результатами адаптивной эволюции к конкретным условиям среды обитания *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica*.

В мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* были обнаружены два повторяющихся мотива с последовательностью AATTAATT, которая повторяется 23 раза, и последовательностью AATAAATT, которая повторяется 50 раз. Известно, что повторяющиеся мотивы в большинстве геномов эукариот могут повторяться до сотен раз. Значение повторяющихся мотивов в мтДНК до конца не выяснено, но предполагается, что они выполняют как структурную, так и функциональную роли. Кроме того, возможно, повторяющиеся мотивы вовлечены в регуляцию изменчивости мтДНК и экспрессии генов.

АТ-богатая регуляторная область мтДНК вовлечена в контроль транскрипции и инициации репликации у медоносной пчелы. Пониженное содержание GC является одной из отличительных особенностей АТ-богатой регуляторной области. Данная регуляторная область мтДНК медоносной пчелы содержит 96% АТ и находится между генами малой рибосомальной РНК (SrRNA) и транспортной РНК тРНК-Ser. АТ-богатая регуляторная область мтДНК характеризуется наличием поли-Т участков, [TA(A)]n-подобных участков, TATA мотивов, которые могут быть вовлечены в регуляцию инициации репликации генов. АТ-богатая регуляторная область мтДНК у пчелы подвида *A. m. ligustica* имеет размер 826 п.н., у пчелы подвида *A. m. caucasica* - 832 п.н., у пчелы подвида *A. m. carpathica* - 849 п.н.

Помимо АТ-богатой регуляторной области, мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* содержат межгенные спейсерные последовательности с суммарным размером около 813 п.н., которые распределены по 24 регионам и имеют вариацию размеров от 1 до 192 п.н. Самый больший межгенный спейсер *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* (192 п.н.) расположен между генами тРНК-Leu (UUR) и COX2 (положение 3425-3617 относительно референсной последовательности *A. m. ligustica*). Для сравнения, межгенные спейсерные последовательности мтДНК пчелы вида *Apis cerana* имеют общий размер 705 п.н., которые распределены по 22 регионам и имеют вариацию размеров от 1 до 231 п.н. Самый больший межгенный спейсер *Apis cerana* (231 п.н.) расположен между генами транспортных РНК - тРНК-Met и тРНК-Gln [7].

Таким образом, молекулярно-генетические методы являются надежными и информативными инструментами для анализа мтДНК медоносной пчелы. Использование маркеров мтДНК при определении подвидов пчел представляется многообещающим методом современной селекции. Молекулярно-генетические инструменты позволяют выявлять скрытый полиморфизм в геноме медоносной пчелы. Чистые линии медоносных пчел могут быть успешно использованы при селекции для создания устойчивых стабильных популяций. На данный момент большинство популяций *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* не исследованы с применением молекулярно-генетических методов. Результаты данной работы могут стать основой для дальнейших генетических исследований популяций пчел и определения особенностей молекулярной эволюции подвидов *A. mellifera*. Возможно, что опубликованные нуклеотидные последовательности полной мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* позволят разработать новые стратегии сохранения подвидов *A. mellifera*. Разработка методов молекулярно-генетической дифференциации кавказской *A. m. caucasica* и карпатской *A. m. carpathica* пчел позволит сохранить чистые линии этих подвидов в пределах их естественного

ареала. Надеемся, что данная статья повысит интерес к изучению и сохранению подвидов пчел *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica*.

Благодарности. Работа была проведена при поддержке гранта Национального исследовательского фонда Кореи, финансируемого правительством Кореи (№ 2016R1A2B3011742) (National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIP) (No. 2016R1A2B3011742)), при поддержке Совместной исследовательской программы развития сельского хозяйства и технологий (Cooperative Research Program for Agriculture Science and Technology Development) (номера проектов: PJ012285 и PJ012526), а также стипендии для научных исследований докторов наук Инчхонского национального университета, Инчхон, Южная Корея (postdoctoral fellowships of Incheon National University, Incheon, South Korea).

ЛИТЕРАТУРА

1. Natsopoulou M.E., McMahon D.P., Doublet V., Frey E., Rosenkranz P., Paxton R.J. The virulent, emerging genotype B of Deformed wing virus is closely linked to overwinter honeybee worker loss // Scientific Reports. 2017. V. 7. P. 1-9. DOI 10.1038/s41598-017-05596-3.

2. Kukrer M., Kence M., Kence A. Genetic evidences for the impact of anthropogenic factors on honey bee diversity. BioRxiv. 2017. V. 1. P. 1-28. DOI 10.1101/154195.

3. Péntek-Zakar E., Oleksa A., Borowik T., Kusza S. Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies // Ecology and Evolution. 2015. V. 5(23). P. 5456-5467. DOI 10.1002/ece3.1781.

4. Алпатов В.В. Породы медоносной пчелы. М.: Издательство Московского общества испытателей природы. 1948. 183 с.

5. Crozier R.H., Crozier Y.C. The mitochondrial genome of the honeybee Apis mellifera: complete sequence and genome organization // Genetics. 1993. V. 133(1). P. 97-117. DOI 10.1111/j.1365-2583.1993.tb 00131.x.

6. Seplyarskiy V.B., Kharchenko P., Kondrashov A.S., Bazykin G.A. Heterogeneity of the transition/transversion ratio in Drosophila and Hominidae genomes // Molecular Biology and Evolution. 2012. V. 29(8). P. 1943-1955. DOI 10.1093/molbev/mss071.

7. Tan H.W., Liu G.H., Dong X., Lin R.Q., Song H.Q., Huang S.Y., Yuan Z.G., Zhao G.H., Zhu X.Q. The complete mitochondrial genome of the Asiatic cavity-nesting honeybee Apis cerana (Hymenoptera: Apidae) // PLoS One. 2011. V. 6(8). P. e23008. DOI 10.1371/journal.pone.0023008.

References

1. Natsopoulou M.E., McMahon D.P., Doublet V., Frey E., Rosenkranz P., Paxton R.J. The virulent, emerging genotype B of Deformed wing virus is closely linked to overwinter honeybee worker loss // Scientific Reports. 2017. V. 7. P. 1-9. DOI 10.1038/s41598-017-05596-3.

2. Kukrer M., Kence M., Kence A. Genetic evidences for the impact of anthropogenic factors on honey bee diversity. BioRxiv. 2017. V. 1. P. 1-28. DOI 10.1101/154195.

3. Péntek-Zakar E., Oleksa A., Borowik T., Kusza S. Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies // Ecology and Evolution. 2015. V. 5(23). P. 5456-5467. DOI 10.1002/ece3.1781.

4. Alpatov W.W. The races of honeybees. Moscow: Moscow Society of Naturalists. 1948. 143 p.

5. Crozier R.H., Crozier Y.C. The mitochondrial genome of the honeybee Apis mellifera: complete sequence and genome organization // Genetics. 1993. V. 133(1). P. 97-117. DOI 10.1111/j.1365-2583.1993.tb00131.x.

6. Seplyarskiy V.B., Kharchenko P., Kondrashov A.S., Bazykin G.A. Heterogeneity of the transition/transversion ratio in Drosophila and Hominidae genomes // Molecular Biology and Evolution. 2012. V. 29(8). P. 1943-1955. DOI 10.1093/molbev/mss071.

7. Tan H.W., Liu G.H., Dong X., Lin R.Q., Song H.Q., Huang S.Y., Yuan Z.G., Zhao G.H., Zhu X.Q. The complete mitochondrial genome of the Asiatic cavity-nesting honeybee Apis cerana (Hymenoptera: Apidae) // PLoS One. 2011. V. 6(8). P. e23008. DOI 10.1371/journal.pone.0023008.

MITOCHONDRIAL GENOMES OF CAUCASIAN *A. M. CAUCASICA* AND CARPATHIAN *A. M. CARPATHICA* HONEYBEES

© R. Ilyasov[1,3], A. Nikolenko[3], V. Tuktarov[4], Goto Kenji[4], Takahashi Jun-ichi[5], Kwon Hyung Wook[1,2]

[1] Division of Life Sciences, Major of Biological Sciences, Incheon National University, 119 Academy-ro, Yeonsu-gu, 22012, Incheon, South Korea
[2] Convergence Research Center for Insect Vectors, Incheon National University, 119 Academy-ro, Yeonsu-gu, 22012, Incheon, South Korea
[3] Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of RAS, 71, prospect Octyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation
[4] Bashkir State Agrarian University, 34, prospect Octyabrya, 450001, Ufa, Russian Federation
[5] Kyoto Sango University, 603-8555, Kyoto Prefecture, Kyoto, Japan

The complete mitochondrial genome sequence of honeybee subspecies *A. m. caucasica* (16341 bp) and *A. m. carpathica* (16336 bp) has been analyzed for the first time. Both mitochondrial genome sequences contained 13 protein-coding genes, 22 transfer RNA genes, 2 ribosomal RNA genes, and 1 AT-rich region. The overall composition of nucleotides in mitochondrial DNA (mtDNA) in *A. m. caucasica* / *A. m. carpathica* is - A (43,2 / 43,3%), C (9,5 / 9,6%), G (5,6 / 5,5%), and T (41,6 / 41,6%). The 9 CDS, and 14 тРНК genes are located on the heavy strand for both sequences. Four CDS, 2 rRNA genes, and 8 тРНК genes are located on the light strand for both sequences. Results of this research can be useful for further phylogenetic and population genetic studies in honeybees.

Key words: *Apis mellifera*, honeybee subspecies, *A. m. caucasica, A. m. carpathica,* mtDNA, conservation genetics.