

# Эволюционные взаимоотношения кавказской и карпатской популяций медоносной пчелы\*

В мтДНК *A. caucasica* и *A. carpathica* имеются 24 межгенных спейсера с общим размером 813 п.н. Самый большой из них длиной 192 п.н. расположен между генами *тPHK-Leu* (UUR) и *COX2*. Размер этого межгенного спейсера вариабелен среди подвидов *A. mellifera* из разных линий: у подвидов линии С размер наименьший (191–192 п.н.), а у подвидов линии О — больший (258–264 п.н.). Для сравнения, мтДНК *A. cerana* имеет 22 межгенных спейсера с общим размером 705 п.н., где наиболее длинный межгенный спейсер (231 п.н.) расположен между генами *тPHK-Met* и *тPHK-Gln* (Tan et al., 2011).

Сравнительный анализ выровненных последовательностей полной мтДНК *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* показал 17 инделов, 54 SNP, из которых 36 транзиций, 18 трансверсий. Кодированные белок гены полной мтДНК этих подвидов отличались друг от друга 1 инделом, 33 SNP, из которых 27 транзиций (из них 6 приводили к аминокислотным заменам), 6 трансверсий, из которых 5 приводили к аминокислотным заменам. Была отмечена 1 трансверсия в гене *COX1*, 2 трансверсии в *COX2*, 1 трансверсия в *COX3*, 2 трансверсии в гене *СУТВ*, 4 транзиции и 1 трансверсия в *ND1*, 3 трансверсии в *ND2*, 1 трансверсия в *ND3*, 7 транзиций и 1 трансверсия в *ND4*, 2 транзиции и 2 трансверсии в *ND5*, 4 транзиции и 1 трансверсия в гене *ND6*. Гены *рPHK* различались 17 инделами и 1 транзицией. Гены *тPHK* *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* различались 10 инделами, 2 транзициями и 1 трансверсией. Все межгенные некодирующие области данных подвидов различались 27 инделами, 6 транзициями и 11 трансверсиями.

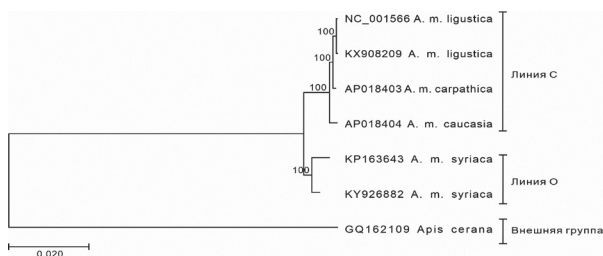
Для сравнения *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* с представителями *A. m. ligustica* (линия С) и *A. m. syriaca* (линия О) были рассчитаны процент генетических различий,

генетические дистанции Jukes-Cantor и число однонуклеотидных замен (SNP) полной последовательности мтДНК (табл. 2). Наибольшие различия *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* наблюдались с представителями внешней группы — *A. cerana* (20,3% генетических различий и 3346 SNP) и линии О — *A. m. syriaca* (2,3% генетических различий и 376 SNP); наименьшие — с представителями линии С — *A. m. ligustica* (1,1% генетических различий и 157 SNP). Между собой *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* имели 0,8% генетических различий и 127 SNP.

На основе попарных генетических дистанций Jukes-Cantor между последовательностями полной мтДНК была построена дендрограмма, отражающая филогенетические взаимоотношения представителей *A. m. caucasica*, *A. m. carpathica*, *A. m. ligustica*, *A. m. syriaca* и внешней группы *A. cerana* (рис. 2). При этом видно, что представители линий С и О четко группируются раздельно, а *A. cerana* расположена во внешней группе.

Генофонд популяции складывается из совокупности геномов всех особей, состояние которого оценивается с использованием маркеров ядерной и митохондриальной ДНК (Vouga et al., 2011; Kukrer et al., 2017). Нуклеотидные последовательности полной мтДНК можно использовать для идентификации подвидов и филогенетических реконструкций (Franck et al., 2000; Palmer et al., 2000; Smith et al., 2002; Özdil, Yildiz, 2009) [4, 5]. Сейчас полные последовательности мтДНК доступны в базе данных генбанка для пяти видов пчел: *A. mellifera*, *A. cerana*, *A. dorsata*, *A. florea* и *A. koschevnikovi* (Rand, Kann, 1998; Tan et al., 2011) [3, 4, 7, 8]. Сравнительный анализ полной мтДНК уже стал эффективным средством таксономической идентификации и его можно применять для сохранения генофонда локальных подвидов пчел [2, 3, 8].

\*Окончание. Начало см. №3, 2021.



**Рис. 2. Филогенетические отношения представителей *A. m. caucasia*, *A. m. carpathica*, *A. m. ligustica* и *A. m. syriaca* и внешней группы *A. cerana* на основе кластерного анализа полной мтДНК методом ближайшего соседа и генетических дистанций Jukes-Cantor (цифрами обозначены значения бутстреп анализа)**

Митохондриальные геномы *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica*, сходные с мтДНК других перепончатокрылых, содержат нуклеотиды: А — 43%, Т — 41%, G — 6%, С — 10; обогащены нуклеотидами АТ на 85%, отличаются наиболее высокими частотами динуклеотидов АА (19%), АТ (18%), ТТ (18%), ТА (16%) и наиболее низкими частотами динуклеотидов GG (1%), GC (1%), CG (1%), CC (2%) (Rand, Kann, 1998; Tan et al., 2011; Eimanifar et al., 2017; Okuyama et al., 2017) [5, 7, 8]. Среднее содержание GC в мтДНК *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* составляет 15%. Значение генетического разнообразия и варибельности прямо пропорционально зависит от содержания GC: чем оно выше, тем выше генетическое разнообразие и варибельность генов. Содержание GC в мтДНК менее 40% считается низким (Kent

et al., 2012). В мтДНК *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* нет ни одного кодирующего белок гена с содержанием GC более 40%. Гены с наибольшим содержанием GC — *COX1* (24%), *COX2* (19,6%), *CYTB* (19,1%), *COX3* (17,2%) и *ND1* (17,2%) — могут стать информативными маркерами в филогенетических и популяционных исследованиях пчел.

Отношение транзиций к трансверсиям (tr/tv) — важная характеристика мутационного процесса. В мтДНК большинства животных транзиции происходят чаще трансверсий (Clary, Wolstenholme, 1985; DeSalle 1987). Для большинства известных эукариот в норме tr/tv > 1, в то время как tr/tv < 1 указывает на высокую частоту однонуклеотидных мутаций и инделов или низкую эффективность процесса репарации ДНК. Изменчивость tr/tv в геноме может указывать в пользу локальной смены мутационного механизма в ходе адаптации к сменяющимся условиям среды обитания (Tian et al., 2008; McDonald et al., 2011; Kogen et al., 2012).


Отношение tr/tv полной мтДНК между *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* составило 2,05, что сходно с соотношением tr/tv мтДНК 2,06 между *D. melanogaster* и *D. yakuba* (Keightley et al., 2009; Seplyarskiy et al., 2012). Следовательно, мтДНК *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* отражает процесс непрерывной адаптации к сменяющимся условиям среды обитания.

АТ-обогащенная (содержание АТ 96%) не-кодирующая область между генами *12S rRNA*

**2. Генетические различия и дистанции (выше диагонали) и число замен нуклеотидов (ниже диагонали) между последовательностями полной мтДНК *A. m. caucasia*, *A. m. carpathica*, *A. m. ligustica* и *A. m. syriaca* и внешней группы *A. cerana***

	NC001566 <i>A. m. ligustica</i> (C)	KX908209 <i>A. m. ligustica</i> (C)	AP018404 <i>A. m. caucasia</i> (C)	AP018403 <i>A. m. carpathica</i> (C)	KP163643 <i>A. m. syriaca</i> (O)	KY926882 <i>A. m. syriaca</i> (O)	GQ162109 <i>Apis cerana</i>
	Генетические различия, % (генетические дистанции Jukes-Cantor)						
NC 001566 <i>A. m. ligustica</i> (C)	***	0,7 (0,001)	0,8 (0,005)	0,8 (0,005)	2,7 (0,014)	1,4 (0,012)	19,9 (0,164)
KX908209 <i>A. m. ligustica</i> (C)	137	***	1,3 (0,005)	1,3 (0,005)	3,4 (0,015)	2,1 (0,012)	20,6 (0,164)
AP018404 <i>A. m. caucasia</i> (C)	89	216	***	0,8 (0,005)	2,8 (0,015)	1,6 (0,012)	19,9 (0,164)
AP018403 <i>A. m. carpathica</i> (C)	104	221	127	***	3,0 (0,014)	1,8 (0,012)	20 (0,164)
KP163643 <i>A. m. syriaca</i> (O)	454	565	477	503	***	2,1 (0,006)	19,3 (0,162)
KY926882 <i>A. m. syriaca</i> (O)	218	331	247	279	322	***	19,8 (0,160)
GQ162109 <i>Apis cerana</i>	3342	3459	3336	3357	3245	3300	***

Число SNP, N



и *tPHK-Ser* мтДНК у *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* составляет 832 и 849 п.н. соответственно, что немного больше, чем у референсной последовательности *A. m. ligustica* — 826 п.н. Благодаря присутствию TATA, Poly-T и [TA(A)]<sub>n</sub>-подобных мотивов AT-обогащенная некодирующая область выполняет регуляторную функцию и участвует в инициации транскрипции и репликации генов мтДНК медоносной пчелы (Tan et al., 2011).

Большинство эукариот имеют в своих геномах повторяющиеся мотивы. Они могут повторяться сотни раз и участвовать в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов через микроРНК. В полной мтДНК *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* были обнаружены два повторяющихся 8 нуклеотидных мотивов: AATTAATT, повторяющийся 23 раза, и AATAAATT, повторяющийся 50 раз, который может выполнять функцию транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов. Эти два повторяющихся мотива отличаются друг от друга только одной трансверсией T > A в четвертой позиции.

Другая большая некодирующая область, расположенная между генами *tPHK-Leu(UUR)* и *COX2*, состоит из двух типов нуклеотидных последовательностей, названных элементами P (51–69 п.н.) и Q (194–196 п.н.), где элемент P может находиться в нескольких вариантах: P (52–54 п.н.), P0 (62–69 п.н.) и P1 (50–51 п.н.). Межгенная область *tPHK-Leu(UUR)-COX2* пчел эволюционных линий А, М и О включает элемент P в сочетании с различным числом копий элемента Q, что приводит к полиморфизму длины этого региона мтДНК. Подвиды пчел линии А содержат варианты P0 или P1 и 1–4 элемента Q (размер 244–853 п.н.); линии М — вариант P и 1–4 элемента Q (246–838 п.н.), линии О — вариант P и 1–4 элемента Q (256–853 п.н.). Подвиды пчел линии С не имеют элемента P, а содержат только одну копию элемента Q (194–196 п.н.) (Garnery et al., 1992). Последовательности межгенной области *tPHK-Leu(UUR)-COX2* *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* не содержат элемент P и имеют размер 192 п.н. аналогично 9 представителям подвидов *A. m. carnica* и *A. m. ligustica* линии С. Межгенные области *tPHK-Leu(UUR)-COX2* 8 представителей подвидов *A. m. syriaca*, *A. m. lamarckii* линии О содержат элемент P и имеют больший размер — 258–264 п.н.

Выравнивание последовательностей межгенной области *tPHK-Leu(UUR)-COX2* *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* с образцами из генбанка показало, что *A. m. carpathica* сходен образцом *A. m. carnica* (GQ433623) гаплотип *C2j*, а *A. m. caucasia* — с образцом *A. m. carnica* (JF934704) гаплотип *C2*. Таким образом, подвиды *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* являются представителями линии С с гаплотипами *C2* и *C2j* соответственно.

Несмотря на большое сходство полной мтДНК *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica*, они отличаются между собой по 34 SNP в 11 генах: *ND2* (752 T > C, 936 G > A, 1134 T > C), *COX1* (1933 A > G), *COX2* (3632 C > T, 3767 T > C), *COX3* (5495 A > T, 6040 C > T), *ND3* (6488 G > A), *ND5* (7408 A > G, 7444 T > C, 7587 T > A, 7830 A > C), *ND4* (8660 A > T, 8875 A > G, 9394 T > C, 9772 T > C, 9789 T > C, 9906 C > T, 9919 C > T, 9956 C > T), *ND6* (10539 T > C, 10563 T > A, 10596 T > C, 10825 C > T, 10902 A > G), *CYTB* (11832 T > C, 11999 T > C), *ND1* (12505 G > A, 12620 G > A, 12674 C > T, 12971 T > A, 13181 C > T) и *12S rPHK* (14996 C > T). **(Авторы, так? Получается 10, а не 11 генов?)** Позиции SNP были пронумерованы относительно референсной последовательности *A. m. ligustica*. Более того, сайт рестрикции *XbaI*, обнаруженный в гене *ND5* в положении 7825–7830 относительно референсной последовательности, встречается только у *A. m. caucasia* и отсутствует у *A. m. carpathica*. Перечисленные маркеры мтДНК могут быть очень полезными при различении этих двух подвидов пчел.

*A. m. caucasia*, *A. m. carpathica*, *A. m. ligustica* и *A. m. syriaca* между собой имеют 0,80% генетических различий и генетическую дистанций Jukes-Cantor 0,005 (см. табл. 2). Был показано, что между подвидами насекомых диапазон генетических различий составляет 0,8–8,0%, а генетических дистанций Jukes-Cantor 0,005–0,100 (Tan et al., 2011; Han et al., 2016; Eimanifar et al., 2017) [7, 8]. Сравнимые образцы пчел между собой имеют по полной мтДНК генетические дистанции и различия, соответствующие различиям между подвидами насекомых. Следовательно, *A. m. caucasia*, *A. m. carpathica*, *A. m. ligustica* и *A. m. syriaca* — действительно отдельные подвиды пчел, а не экотипы.

Матрицу генетических дистанций Jukes-Cantor по полной последовательности мтДНК использовали в кластерном анализе для построения дендрограммы филогенетических

отношений (см. табл. 2). Представитель внешней группы пчел *A. serana* расположен на дендрограмме отдельно, как и предполагалось. На дендрограмме наблюдаются два крупных кластера (см. рис. 2). Первый объединил представителей *A. m. syriaca* (KP163643, KY926882), относящихся к линии O; второй — представителей *A. m. ligustica* (NC\_001566, KX908209), относящихся к линии C. Таким образом, дендрограмма на основе полной мтДНК позволяет четко дифференцировать пчел подвидов указанных линий. Объединение пчел *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* вместе с представителями *A. m. ligustica* в одну группу доказывает их принадлежность к линии C, как и предполагалось ранее некоторыми исследователями (Özdil, Yıldiz, 2009; Märgħitaş et al., 2010; Bouga et al., 2011) [5, 11].

Итак, были определены нуклеотидные последовательности полной мтДНК пчел подвидов *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* размером 16341 и 16336 п.н. соответственно. МтДНК обоих подвидов содержат 13 кодирующих белок генов, 22 гена тРНК, 2 гена рРНК и АТ-обогащенную регуляторную область. Митохондриальные геномы *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* содержат нуклеотиды А, Т, G, С, обогащены АТ. Отношение tr/tv полной мтДНК между *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* отражает процесс непрерывной адаптации к сменяющимся условиям среды обитания.

Большинство генов мтДНК (*ND2*, *COX1*, *COX2*, *ATP8*, *ATP6*, *COX3*, *ND3*, *ND6*, *CYTB* и 14 генов тРНК) расположены на тяжелой цепи, а меньшее количество (*ND1*, *ND4*, *ND4L*, *ND5*, *SrRNA*, *LrRNA* и 8 генов тРНК) — на легкой цепи. Гены с наибольшим содержанием GC — *COX1* (24%), *COX2* (19,6%), *CYTB* (19,1%), *COX3* (17,2%) и *ND1* (17,2%) — могут быть наиболее полиморфными и успешно использованы в филогенетических и популяционных исследованиях пчел.

По структуре межгенной области *tPHK-Leu(UUR)-COX2* (отсутствие элемента P) подвиды *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* можно отнести к эволюционной линии C с гаплотипами *C2* и *C2j* соответственно. *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* по мтДНК могут быть дифференцированы друг от друга по 34 уникальным SNP в 11 генах мтДНК и маркеру рестрикции *XbaI* в гене *ND5*.

*A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* различаются между собой, а также с *A. m. ligustica* и

*A. m. syriaca* по полной мтДНК на 0,8% и имеют генетическую дистанцию Jukes-Cantor 0,005. Данные значения генетических и генетических дистанций Jukes-Cantor вписываются в пределы внутривидовых различий между подвидами насекомых. Следовательно, *A. m. caucasica*, *A. m. carpathica* — действительно отдельные подвиды пчел, а не эко-типы.

Несмотря на проведенные исследования, популяции *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* остаются недостаточно изученными как в России, так и в странах Европы. Мы надеемся продолжить изучение пчел этих подвидов в пределах их естественного ареала, чтобы определить структуру и генетическое разнообразие популяций, предотвратить внутривидовую гибридизацию и сохранить уникальность их локальных генофондов.

Работа выполнена при поддержке государственного задания (№01201350736) — Р.А. Ильясов, грантов Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ, грант №19-54-70002 e-Asia\_t) — А.Г. Николенко и программ постдокторских исследований в Инчхонском национальном университете (2017–2019) — Р.А. Ильясов. Благодарим доктора Hisashi Okuyama за помощь в секвенировании.

**Р.А. ИЛЬЯСОВ<sup>1, 2</sup>, Г.Ю. ХАН<sup>2</sup>, М.Л. ЛИ<sup>2</sup>,  
К.В. КИМ<sup>2</sup>, Д.Х. ПАРК<sup>2, 3</sup>, Д.И. ТАКАХАШИ<sup>4</sup>,  
Х.В. КВОН<sup>2</sup>, А.Г. НИКОЛЕНКО<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа,

<sup>2</sup>Отделение наук о жизни и Исследовательский центр

насекомых переносчиков болезней, Инчхонский национальный университет, Инчхон, Корея

<sup>3</sup>Биоинформатическая компания ZBIGS CO. LTD, Хвасон-си, Корея

<sup>4</sup>Факультет естественных наук, Университет Киото Сангё, Киото, Япония

Впервые секвенированы последовательности полного митохондриального генома подвидов пчел *Apis mellifera caucasica* Pollmann, 1889 (AP018404, 16341 п.н.) и *Apis mellifera carpathica* Foti et al., 1965 (AP018403, 16336 п.н.). Митохондриальные ДНК (мтДНК) обоих подвидов содержат 13 кодирующих белок генов, 22 гена тРНК, 2 гена рРНК и АТ-обогащенную регуляторную область. Отношение транзиций к трансверсиям tr/tv полной мтДНК между *A. m. caucasica* и *A. m. carpathica* соответствует 2,05, что характеризует формирование адаптаций к сменяющимся условиям среды обитания. Гены с наибольшим содержанием GC — *COX1*, *COX2*, *CYTB*, *COX3* и *ND1* могут быть высокополиморфны и использованы в филогенетических и популяционных исследованиях пчел. Большинство генов мтДНК обоих подвидов расположены на тяжелой цепи и меньшее количество — на легкой цепи. Кластерный анализ последовательности полной мтДНК и оценка структуры межгенной области *tPHK-Leu(UUR)-COX2* с единственным элементом Q

размером 192 п.н. показали, что *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* являются представителями линии С с гаплотипами C2 и C2j соответственно. Указанные подвиды можно дифференцировать друг от друга по 34 уникальным SNP в 11 генах мтДНК и маркеру рестрикции *Xba*I в гене ND5. Эти генетические маркеры могут способствовать сохранению чистопородных генофондов *A. m. caucasia* и *A. m. carpathica* в пределах их естественного ареала.

Ключевые слова: *Apis mellifera*, подвиды пчел, *A. m. caucasia*, *A. m. carpathica*, митохондриальный геном, мтДНК, гаплотипы, консервативная генетика.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алтатов В.В. Породы медоносной пчелы и их использование в сельском хозяйстве. — М., 1948.
2. 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. — 2015 — Т. 51. — №7. DOI: 10.7868/s0016675815070048.
3. Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Петухов А.В., Николенко А.Г. Молекулярно-генетический анализ пяти сохранившихся резерватов темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* Урала и Поволжья // Генетика. — 2016. — Т. 52. — № 8. DOI: 10.7868/s0016675816060059.
4. Arias M.C., Sheppard W.S. Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequence // Molecular Phylogenetics and Evolution. — 1996. — V. 5. — № 3. DOI: 10.1006/mpev.1996.0050.
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. DOI: 10.1111/j.1365-2583.1993.tb00131.x.
6. Engel M.S. The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*) // Journal of Hymenoptera Research. — 1999. — V. 8. — № 2. DOI: 10.1007/978-1-4614-4960-7\_18.
7. Ilyasov R., Nikolenko A., Tuktarov V. et al. Comparative analysis of mitochondrial genomes of the honey bee subspecies *A. m. caucasia* and *A. m. carpathica* and refinement of their evolutionary lineages // Journal of Apicultural Research. — 2019. — V. 58. — № 4. DOI: 10.1080/00218839.2019.1622320.
8. Ilyasov R.A., Park J., Takahashi J., Kwon H.W. Phylogenetic uniqueness of honeybee *apis cerana* from the Korean peninsula inferred from the mitochondrial, nuclear, and morphological data // Journal of Apicultural Science. — 2018. — V. 62. — № 2. DOI: 10.2478/JAS-2018-0018.
9. Oleksa A., Chybicki I., Tofilski A., Burczyk J. Nuclear and mitochondrial patterns of introgression into native dark bees (*Apis mellifera mellifera*) in Poland // Journal of Apicultural Research. — 2011. — V. 50. — № 2. DOI: 10.3896/IBRA.1.50.2.03.
10. Rutner F. Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Berlin, Heidelberg. — Berlin, 1988.
11. Syromyatnikov M.Y., Borodachev A.V., Kokina A.V., Popov V.N. A molecular method for the identification of honey bee

subspecies used by beekeepers in Russia // Insects. — 2018. — V. 9. — № 1. DOI: 10.3390/insects9010010.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ: Ильясов Рустем Абузарович, д-р биол. наук. ст. науч. сотр., e-mail: apismell@hotmail.com; Хан Ги Юн, аспирант лаборатории сенсорной нейробиологии и биомоделирования, e-mail: bkdg93@gmail.com; Ли Мёнг Лёл, д-р биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории сенсорной нейробиологии и биомоделирования, e-mail: be9020@hanmail.net; Ким Кил Вон, д-р биол. наук, проф., ст. науч. сотр. лаборатории сенсорной нейробиологии и биомоделирования, e-mail: kilwon@inu.ac.kr; Парк Д.Х., ??????????????????????????????????????; Такахашии Дзюн Ичи, д-р биол. наук, проф., зав. лабораторией молекулярной экологии и пчеловодства, e-mail: jit@cc.kyoto-su.ac.jp; Кwon Хюн Вук, д-р биол. наук, проф., зав. лабораторией, e-mail: hkwon@inu.ac.kr; Николенко Алексей Геннадьевич, д-р биол. наук, проф., зав. лабораторией.

#### EVOLUTIONARY RELATIONSHIPS OF CAUCASIAN APIS MELLIFERA CAUCASIA AND CARPATHIAN APIS MELLIFERA CARPATHICA POPULATIONS OF THE HONEY BEE

R.A. Ilyasov, G.Y. Han, M.L. Lee, K.W. Kim, J.H. Park, J.I. Takahashi, H.W. Kwon, A.G. Nikolenko

The sequences of the complete mitochondrial genome of the honey bee subspecies *Apis mellifera caucasia* Pollmann, 1889 (AP018404, 16341 bp) and *Apis mellifera carpathica* Foti et al., 1965 (AP018403, 16336 bp) were first sequenced. Mitochondrial DNA (mtDNA) of both subspecies contains 13 protein-coding genes, 22 tRNA genes, 2 rRNA genes and 1 AT-rich regulatory region. The ratio of transitions to transversions tr/tv in complete mtDNA between *A. m. caucasia* and *A. m. carpathica* was 2.05, which characterizes the formation of adaptations to changing environmental conditions. Genes with the highest GC content — *COX1* (24%), *COX2* (19.6%), *CYTB* (19.1%), *COX3* (17.2%) and *ND1* (17.2%) can be highly polymorphic and used in phylogenetic and population studies of bees. Most of mtDNA genes for both subspecies are located on the heavy chain (9 protein coding genes and 14 tRNA genes) and fewer genes (4 protein coding genes, 2 rRNA genes and 8 tRNA genes) are located on the light chain. Cluster analysis of the complete mtDNA sequence and assessment of the structure of the *tRNA-Leu(UUR)-COX2* intergenic region with a single Q element of 192 bp showed that both subspecies *A. m. caucasia* and *A. m. carpathica* are representatives of the line C with haplotypes C2 and C2j, respectively. Subspecies of the honey bee *A. m. caucasia* and *A. m. carpathica* can be differentiated from each other by 34 unique SNPs in 11 mtDNA genes and the *Xba*I restriction marker in the ND5 gene. These genetic markers can contribute to the preservation of purebred gene pools of honey bee subspecies *A. m. caucasia* and *A. m. carpathica* within their natural range.

Keywords: *Apis mellifera*, honeybee subspecies, *A. m. caucasia*, *A. m. carpathica*, mitochondrial genome, mtDNA, haplotypes, conservation genetics.