

## **ДНК – тестування бджіл української і карпатської порід**

В. А. Гайдар, кандидат сільськогосподарських наук,  
Інститут бджільництва ім. П.І. Прокоповича УААН

В. П. Поліщук, доктор сільськогосподарських наук,  
І. І. Головецький, асистент  
Національний аграрний університет

*Наведено результати вивчення породної належності сімей українських та карпатських бджіл методом ДНК-тестування. Встановлено, що вони належать до різних порід і характеризуються чітко вираженими ознаками геному.*

### *БДЖОЛА, МАТЕРИНСЬКА СІМ'Я, ПОРОДА, ВНУТРІШНЬОПОРОДНИЙ ТИП, ГЕНЕАЛОГІЧНА ГРУПА, ЕКСТЕР'ЕР, ДНК-ТЕСТУВАННЯ*

Родючі ґрунти України, багата медоносна рослинність і відповідні кліматичні умови сприяли розмноженню бджіл і збиранню великої кількості меду. Протягом тривалого еволюційного розвитку відбувався природний процес створення аборигенних бджіл, які добре пристосовувались до місцевих умов клімату й медозбору [9]. На території України сформувались і нині районовані українська степова і карпатська породи, а також поліська популяція середньоросійських бджіл [10].

*Українські бджоли є найпоширенішою породою в нашій країні і належать до групи аборигенних бджіл європейського походження, займаючи Лісостеп і степову зони. Їхній ареал на Заході охоплює частину прикордонних районів Молдови і доходить до Карпат. На Півночі українська бджола межує з поліською популяцією середньоросійської породи. Східна частина ареалу українських бджіл представлена рядом сусідніх з Україною районів Російської Федерації. В другій половині ХІХ століття відбулося масове завезення їх з природного ареалу на широкі простори Приморського краю і губерній Східного Сибіру Російської імперії [2]. Як свідчать наукові дані, бджоли українського походження в багатьох районах зберегли свої породні особливості і в умовах багатой медоносної бази дають рекордні збори меду.*

Генетичний потенціал української бджоли багатий. За словами

В.А. Нестерводського [8] наша бджола гарна й варта уваги, за властивості її хвалять навіть чужі люди. Обстеживши пасіки на Поділлі, Уманщині, Харківщині, він зазначає, що українська бджола жвава, енергійна, працююча, мало роїться порівняно з південною, далеко літає за поживою і тому продуктивніша. Вона дуже обережно влітає, то ж її мало втрачається й сім'ї не знесилоються в прохолодну пору. Вошину будує гарно, мед закриває рівною, білою мов сніг покришкою, тому стільниковий мед має чудовий вигляд. Матки дуже плодючі й розплід у них безперервний, то ж сім'ї швидко стають сильними і відпускають ранні рої.

*Карпатські бджоли* природно займають гірські та передгірні райони Західної України. До найбільш типових представників, що різняться рядом цінних біологічних особливостей і господарсько-корисних ознак, належать бджоли високогірних районів Закарпаття, які пристосовані до умов зимівлі з тривалим безобльотним періодом. За екстер'єром вони близькі до крайнських бджіл, але відрізняються від них високою зимостійкістю, меншою враженістю нозематозом та іншими етологічними ознаками [4]. Тому карпатських бджіл почали завозити в інші області України. Започатковане Г.А. Аветисяном [3] поглиблене вивчення й селекція карпатських бджіл завершилося створенням в породі популяцій, екотипів, ліній.

На українську породу бджіл, на жаль, негативно вплинули сім'ї та матки інших порід. Починаючи з 1944-1945 років, в Україну для відновлення зруйнованого війною бджільництва масово завозили бджіл з Кавказу та іншого походження, у тому числі і сірої гірської кавказької породи. На багатьох пасіках відбулось схрещування місцевих бджіл і виникли помісі різних поколінь.

Як масове, так і поодинокі завезення бджолиних маток і сімей інших порід за низького рівня селекційної роботи призвело до знищення цінних місцевих популяцій. Помісні бджоли знизили продуктивність, стали більш чутливими до збудників хвороб та інших чинників середовища. В цих умовах збільшується значення систематичної племінної роботи з районо-

ваними породами бджіл як на товарних пасіках, так і в спеціалізованих племінних господарствах. Для збереження місцевих порід бджіл необхідно застосовувати на пасіках України чистопородне розведення. Важливе значення в цьому має добір селекційного матеріалу, організація репродукції чистопородних бджіл, створення внутрішньопородних типів.

Нині належність бджіл до тієї чи іншої породи визначають переважно за фенотиповими ознаками (екстер'єрними, фізіологічними, етологічними) та показниками господарської цінності. Вони широко варіюють навіть в межах однієї породи або популяції, оскільки залежать від географічного розміщення бджіл, їх віку і живлення [2]. Крім того, велику роль у визначенні ознак породи відіграє кваліфікація спеціаліста. Тому виникла гостра необхідність в розробці певних заходів на встановлення і збереження біологічної чистоти порід бджіл. Це вкрай важливо як для практичної генетико-селекційної роботи, так і для генетико-популяційних і філогенетичних досліджень.

У 1989 р. О.В. Капралова, Л.В. Дубова [7] розробили цитогенетичний метод вивчення ДНК в ядрах клітин гемолімфи різних стаз бджіл. Результати досліджень показали, що існує достовірна різниця за особливостями ДНК в ядрах клітин гемолімфи різних порід бджіл на деяких етапах онтогенезу. На основі отриманих результатів було запропоновано в практичній роботі для характеристики породи поряд з загальноприйнятою методикою морфометрії користуватись цитофотометричним методом дослідження породної належності бджіл.

Геном бджіл залишається мало досліджений, побудована лише приблизна генетична карта [12]. Все це свідчить про актуальність вивчення генотипу різних порід бджіл з використанням методів молекулярної генетики.

Одним з прогресивних, порівняно швидких і менш трудомістких є RAPD-аналіз (random amplified polymorphic DNA) [13] генетичного поліморфізму бджіл. Це модифікований метод полімеразної ланцюгової реакції з використанням коротких фрагментів ДНК, що генетично не специфічні досліджуваній ДНК. Суть методу полягає в тому, що в ролі

праймера (послідовність ДНК з 8-12 пар нуклеотидів) використовується довільний нуклеотид, що здатний гібридизуватись з досліджуваною ДНК і ампліфікувати (збільшувати копії) її [5].

RAPD-технологія використовується при вивченні геному, популяцій, типів, маркуванні ознак [6]. У бджільництві ДНК-тестування недостатньо розроблене і використовується мало. Стосовно українських та карпатських бджіл цей метод ідентифікації порід не застосовували.

**Мета досліджень** – провести ДНК-тестування бджіл української і карпатської порід на чистопородних сім'ях, відібраних за екстер'єрними та іншими ознаками.

**Матеріал і методика досліджень.** В досліджах використали проби бджіл з сімей, що належать до племінного матеріалу, створеного в результаті багаторічної селекційної роботи з карпатською та українською породами. Досліджувані бджоли української породи належать до хмельницького внутрішньопородного типу, створеного кафедрою бджільництва ім. В.А. Нестерводського (плембджолорозплідник “Прибузькі медобори” с. Головченці, Хмельницької області). Зразки бджіл карпатської породи відібрані з відселекціонованих сімей пасіки відділу селекції і репродукції бджіл карпатської породи Інституту бджільництва ім. П.І. Прокоповича УААН (с. Вучкове Закарпатської області).

Бджоли сімей хмельницького внутрішньопородного типу за екстер'єрними ознаками повністю відповідають вимогам української породи – довжина хоботка у них в середньому дорівнює 6,41 мм, показники кубітального індексу – 2,27, дискоїдального зміщення – позитивне 79%, випукла форма заднього краю воскового дзеркальця п'ятого стерніта спостерігаються у 90% бджіл. Ці дані є результатом комп'ютерної обробки промірів екстер'єру бджіл близько 400 сімей, досліджених за останні п'ять років на завершальному етапі створення типу. Він структурований на дев'ять генеалогічних груп, кожна з яких являє сукупність сімей спільного походження з матками різних поколінь, що є нащадками відібраних родоначальниць.

Відібрані і законсервовані згідно з вимогами методики проби бджіл були надіслані для ДНК-тестування (м. Москва). Лабораторні аналізи виконані А.Б. Абрамовою і О.С. Чудіновим за спеціальним замовленням.

Оскільки справжня назва досліджуваних порід є дискусійною, бджіл української породи з піддослідних сімей хмельницького внутрішньопородного типу умовно позначили як українські степові (*Apis mellifera acervorum*), а відібрані з сімей пасіки відділу селекції і репродукції карпатських бджіл Інституту бджільництва ім. П.І. Прокоповича – карпатські (*Apis mellifera carpatica*).

Аналіз проводили за методом RAPD-праймерів – локальної ампліфікації набору фрагментів ДНК розміром від 50 до 2500 пар нуклеотидів, франкованих короткими інвертованими повторами, які виступають як ділянки випалювання для випадково підбраного 10-нуклеотидного праймера. Розподіл у геномі інвертованих повторів є унікальним, що дозволяє виявляти відмінності в RAPD-фінгерпринтах різних видів і порід.

Для диференціації порід бджіл підбрано породоспецифічні маркери. В результаті RAPD-ампліфікації утворюється набір фрагментів ДНК різної маси, який при розподілі на форезі дає унікальний фінгерпринт, де кожний поліморфний між видами або внутривидовий фрагмент ДНК проявляється в ролі видоспецифічного або породоспецифічного маркера. Тому підбір маркерів, які диференціюють породи в RAPD-аналізі полягає у виявленні ефективних праймерів довжиною 10 нуклеотидів.

Для проведення RAPD-аналізу використовувалась тДНК-зразків робочих бджіл, призначених для досліджень. Виділення тотальної ДНК проводилось методом SDS-лізису з наступною фенол-хлороформною екстракцією. Після виділення і очистки ДНК-зразків визначали концентрацію, ступінь чистоти і ступінь фрагментації ДНК.

Ступінь фрагментації тДНК-зразків робочих бджіл проводили методом електрофорезу в 0,8 %-ному агарному гелі. Ступінь чистоти і концентрацію препарату тДНК-зразків визначали за допомогою вимірювання оптичного

поглинання препаратів тДНК на довжині хвиль 260 і 280 нм.

Локальна ампліфікація при полімеразно-ланцюговій реакції з використанням RAPD-праймерів проводилась згідно з методикою, запропонованою для вивчення генетичного поліморфізму ДНК-генома різних порід бджіл [11]. У дослідженнях використані синтетичні 10-членні олігонуклеотиди, послідовність яких відповідає праймерам, розробленим компанією “Operon” (США). ПЦР-продукти розділяли в 6 %-ному поліакриламідному (ПААГ) гелі. Після проведення електрофорезу ПААГ або агарний гель зафарбовували бромистим етидієм. Для візуалізації картини розподілу фракцій ДНК після RAPD-ампліфікації використовували УФ-транслюмінатор.

Фотовідбиток з результатів дослідів отримували за допомогою гелъ-документуючої системи “Kodak”.

**Результати досліджень.** На рисунку представлено результат електрофоретичного розподілу фракцій ПЦР-продукту зразків досліджених бджіл після локальної ампліфікації з використанням праймера В15. Праймер В15, як і випробуваний в досліді В06, виявився ефективним для ідентифікації породної належності бджіл обох порід. Ліворуч під умовною назвою *Apis mellifera aservorum* показано відтворення ДНК-фінгерпринтів зразків бджіл української породи, праворуч – карпатської (*Apis mellifera carpatica*).

Як свідчить фотовідбиток, ДНК-маркери, позначені символами Ca1, Ca2, Ca3, Ca4, виявлені у всіх фінгерпринтах бджіл карпатської і були відсутні у бджіл української породи. Ці ДНК-маркери чітко розрізняють досліджуваних бджіл і є придатними для ідентифікації бджолиних сімей української і карпатської порід, проявляючи добру відтворність ДНК-фінгерпринтів.

Важливою особливістю результатів ДНК-тестування бджіл, як видно з рисунка, є висока генетична однорідність досліджуваних сімей в межах породи.

Порівняння результатів досліджень на генетичну дактилоскопію показало не тільки добре виражені породні відмінності українських і карпатських бджіл, а й відсутність у них ознак сірої гірської кавказької і середньоросійської порід, досліджених раніше в лабораторії.

## RAPD з праймером B 15 5

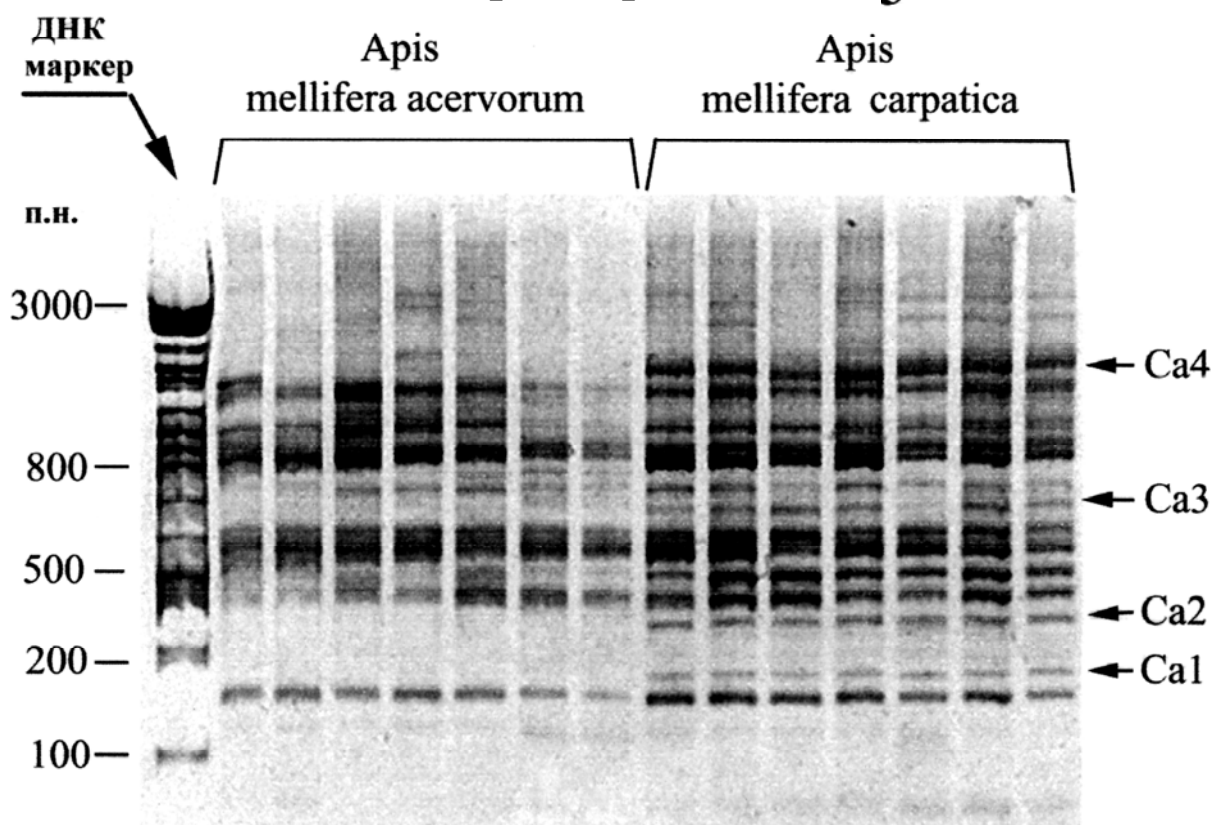


Рис. Результат електрофоретичного розділення продуктів RAPD-амплікації з праймером B15 в 6% ПААГ зразків бджіл української і карпатської порід

Встановлена в наших дослідях видова специфічність генома бджіл, відібраних у типових умовах ареалу їх існування (Карпати і Лісостеп України), дає підставу стверджувати про належність карпатських та українських бджіл до різних порід, які характеризуються своїми особливостями за ознаками екстер'єру, поведінки, пристосованості до збирання корму, стійкості проти впливу факторів середовища.

Отримані нами дані щодо характеристики досліджуваних порід вказують на необхідність аналізу результатів щодо вивчення історії їх формування, методів розведення, селекції, районування при сучасному господарському використанні та збереження у чистоті в своєму природному ареалі.

Привертає увагу, зокрема, той факт, що генетична однорідність бджіл хмельницького внутрішньопородного типу, який складається з дев'яти генеалогічних груп, збігається з ознаками консолідованості за результатами

вивчення промірів екстер'єру. Так, міжгрупові коливання середньої довжини хоботка становлять 6,34-6,63 мм, кубітального індексу – 2,18-2,62, дискоїдального зміщення – 72-94% позитивних випадків, випукла форма заднього краю воскового дзеркальця п'ятого стерніта – 64-96%.

Селекція бджіл методом чистопородного розведення з одночасним розподілом відібраного матеріалу на генеалогічні групи з використанням основних породних ознак екстер'єру для постійного контролю належності сімей до української породи підтверджена методом виявлення ДНК-маркерів. Відсутність у них ознак інших порід вказує на можливість утримання чистопородних сімей в осередках напівзакритої популяції і достатню ефективність їх використання та контролю якості материнської групи за ознаками екстер'єру бджіл.

**Висновки.** Проведений аналіз показав, що бджоли української породи за результатами ДНК-тестування відрізняються від бджіл гірських районів Карпат, їм властиві свої генетичні відмінності.

У межах породи досліджувані бджоли характеризуються високою однорідністю і добре диференціюються за допомогою встановлених ДНК-маркерів.

### Список літератури

1. Аветисян Г.А., Давиденко І.К., Макаров Ю.І. Досвід племінної роботи з карпатськими та далекосхідними бджолами //Бджільництво. – К.: Урожай, 1969. – Вип. 5. – С. 3-7.
2. Биладш Г.Д., Кривцов Н.И. Селекция пчел. – М.: Агропромиздат, 1991. – 302с.
3. Гайдар В., Пилипенко В. 50 лет на кафедре пчеловодства в ТСХА //Пчеловодство. – 1996. - № 3. - С. 2.
4. Гайдар В.А., Левченко И.А. Сравнительная оценка карпатських и краинских пчел. //Пчеловодство.-2003. - № 8. – С. 18-21.
5. Глазко В.И., Глазко Г.В. Словарь терминов по прикладной генетике и ДНК-технологиям. – К.: Нора-принт, 1999. – 342 с.

6. Глазко В.И., Доманский Н.Н., Созинов А.А. Современные направления использования ДНК-технологий //Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32. – № 5. – С. 80-93.
7. Капралова О.В., Дубова Л.В. Содержание ДНК – критерий породы пчел //Пчеловодство. – 1989. – № 3. – С. 14-15.
8. Нестерводський В.А. Організація пасік і догляд за бджолами. – К.:Урожай, 1966. – 396 с.
9. Нестерводський В.А. Як одержати більше меду та воску. – К.: Держсільгоспвидав УРСР, 1960. – 76 с.
10. Нормативно-правові акти з питань розвитку бджільництва. –К.: Мінагрополітики України, 2001. – 103 с.
11. Поздняков В.Н., Абрамова А.Б., Чудинов О.С., Какпаков В.Т., Козин Р.Б., Кравцов Н.И., Бородачев А.В. Молекулярно-генетические подходы в изучении генетического полиморфизма различных пород пчел //Сельскохозяйственная биология. – 2000. – № 4. – С. 56-59.
12. John G., Williams K. e.a. Genetic analysis using RAPD-markers. Methods in Enzymology, 1993.- 218 p.
13. Williams J., Kubelik A., Livak K., Rafalski K., Tingey J. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers //Nucleic Acids Res. – 1990. – Vol. 18. – P. 6513-6535.

### **ДНК – тестирование пчел украинской и карпатской пород**

В. А. Гайдар, кандидат сельскохозяйственных наук,  
Институт пчеловодства им. П.И. Прокоповича УААН

В. П. Полищук, доктор сельскохозяйственных наук,  
И. И. Головецкий, ассистент  
Национальный аграрный университет

*Приведены результаты изучения породной принадлежности семей украинских и карпатских пчел методом ДНК-тестирования*

*ПЧЕЛА, МАТЕРИНСКАЯ СЕМЬЯ, ПОРОДА, ВНУТРИПОРОДНЫЙ ТИП, ГЕНЕАЛОГЕСКАЯ ГРУППА, ЭКСТЕРЬЕР, ДНК-ТЕСТИРОВАНИЕ*

***DNA – testing bees Ukrainian and Carpathian breeds***

*V.A. Gaydar, Dr. agricultural science*

*Institute of beekeeping after name P.I. Prokopovicha UAAC*

*V.P. Polischuk, professor, Dr. agricultural science*

*I. I. Golovetsky assistant*

*National agrarian university*

*The results of studying of breed belonging of families Ukrainian and Carpathian bees by a method of DNA testing were presented*

***BEE, PARENT FAMILY, BREED, INTRABREEDING TYPE, GENEALOGICAL GROUP, EX-TERRIER, DNA-TESTING***

---

E-mail: [vgaydar@mk.ukrtel.net](mailto:vgaydar@mk.ukrtel.net)

[K\\_pchela@ukr.net](mailto:K_pchela@ukr.net)