

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА *COI* У МЕДОНОСНИХ БДЖІЛ З РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ

О. В. ЧЕРЕВАТОВ, Є. О. МЕЛЬНИК, Р. А. ВОЛКОВ

Кафедра молекулярної генетики та біотехнології
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
Україна, 58012, м. Чернівці вул. Коцюбинського, 2
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

Мета. Мітохондріальний ген *Col*, який еволюціонує з високою швидкістю, широко використовується у молекулярній таксономії комах для ідентифікації близькоспоріднених форм. Тому, для оцінки розповсюдження в Україні різних підвидів / порід *Apis mellifera* було проведено розшифрування (сиквенування) та порівняння нуклеотидної послідовності цього гена для бджіл з різних географічних регіонів. **Методи.** ПЛР-ампліфікація та сиквенування *Col*. **Результати.** Виявлено мутації у гені *Col*, які специфічні для поширених в Україні порід бджоли медоносною — Темної європейської, Карпатської та Української степової. Встановлено, що сучасне розповсюдження цих порід не відповідає традиційному районуванню. **Висновки.** Розповсюдження в Україні практика завозу генетичного матеріалу *Apis mellifera* з різних регіонів призводить до неконтрольованої гібридизації та становить загрозу для збереження аборигенних порід медоносною бджоли.

Ключові слова: біорізноманіття, мітохондріальна ДНК, молекулярні маркери, цитохром оксидаза, *Apis mellifera*.

Вступ. В останнє десятиліття все більше занепокоєння викликає проблема глобального зникнення медоносних бджіл (*Apis mellifera* L.), що загрожує катастрофічними наслідками не лише для екосистем планети, але й для продовольчої безпеки та світової економіки (Neumann, Carreck, 2010; Fedoriak et al., 2018). Інтенсивні дослідження причин масової загибелі бджіл дозволили визначити ряд факторів, які можуть негативно впливати на їх життєдіяльність, а саме — використання пестицидів, зменшення різноманіття квіткових рослин, поширення хвороб та паразитів тощо (Epirobee et al., 2016; Trapp et al., 2017; Dalmon et al., 2019; Fedoriak et al., 2019). Одним з таких факторів також вважається завезення та розведення бджіл іншого географічного походження, яке супроводжується втратою аборигенних порід (екотипів) медоносною бджоли, які формувались тривалий час під впливом природного добору і добре пристосовані до місцевих умов (Metlitska et al., 2015; Parejo et al., 2016). Зокрема, у зв'язку зі значним різноманіттям умов існування, Україна вважається територією природного розповсюдження трьох підвидів *A. mellifera*: *A. m. mellifera*, *A. m. carnica* та *A. m. macedonica*, які представлені, відповідно, трьома місцевими породами медоносною бджоли: Темна європейська, Карпатська та Українська степова (Ruttner, 1988a; Cherevatov et al., 2019).

Протягом останніх років в Україні широких масштабів набуло неконтрольоване завезення порід *A. mellifera* з інших регіонів та навіть з-за кордону (Hryhorchuk et al., 2020). Це призводить до порушення природної розповсюженості підвидів / екотипів, що супроводжується зменшенням чисельності колоній або взагалі зникненням медоносних бджіл. Дослідження морфометричних показників показали, що сьогодні на території Західної України внаслідок неконтрольованої гібридизації чистопородні бджоли майже відсутні (Cherevatov et al., 2014; Cherevatov et al., 2016). Морфологічні ознаки у гібридних сімей сильно варіюють, що суттєво знижує достовірність і навіть унеможливорює визначення породної належності з використанням традиційного морфометричного аналізу.

Тому для створення достовірної картини розповсюдження підвидів / порід бджіл в Україні необхідне проведення генетичної паспортизації із застосуванням молекулярних маркерів (Metlitska et al., 2010; Meixner et al., 2013; Achou et al., 2015; Pentek-Zakar et al., 2015). Особливо важливим видається застосування молекулярних методів для ідентифікації генетичного матеріалу найбільш поширених Карпатської та Української степової порід (Ruttner, 1988a; Grygorkiv, 2017).

В якості молекулярних маркерів у таксономічних дослідженнях комах широко використовуються ділянки мітохондріальної ДНК (мтДНК) (Franck et al., 2001; Martimianakis et al., 2011; Meixner et al., 2013; Pentek-Zakar et al., 2015). Особливість мтДНК полягає в тому, що вона успадковується лише по материнській лінії, а присутні у її складі гени не роз'єднуються внаслідок рекомбінації. Зокрема, для з'ясування різниці між підвидами та породами *A. mellifera* часто застосовують порівняльний аналіз всього гена першої субодиниці цитохром оксидази (*Col*) або певних його ділянок (Rizwan et al., 2018). Тому, з метою ідентифікації порід *A. mellifera*, ми здійснили розшифрування (сиквенування) та порівняння нуклеотидної послідовності частини гена *Col* у представників медоносних бджіл, що мешкають у різних регіонах України.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були робочі бджоли двох типів Карпатської бджоли (Rakhivska, Synevyr) та двох ліній *A. m. carnica* австрійського походження (Zac-Henni, Sklenar 47), які було отримано з колекцій ННЦ «Інститут бджільництва ім. П. І. Прокоповича» та громадської організації «Об'єднання матководів України» (ГО ОМУ). Для лінії Sklenar 47 було досліджено матеріал двох генеалогічних груп (Sklenar 47 — 1 та Sklenar 47 — 2). Для порівняльного аналізу було використано послідовності з бази даних Genbank: *A. m. macedonica*

(*Macedonica-GB* — реєстр. номер KX001968 — Radoslavov et al., 2017) та *A. m. mellifera* (*Mellifera-GB* — реєстр. номер KJ396190). Крім того, було вільно відловлено або отримано бджіл із пасік п'яти областей України (табл.). Комах консервували в 90 % етанолі і використовували для виділення сумарної ДНК (Panchuk, Volkov, 2007).

Для проведення ПЛР застосовували пару праймерів prRV1507 (5' — GAT TTT GAT TAC TTC CTC CCT CAT — 3') та prRV1508 (5' — GAA TTT CAA CAG TAA TAA GAA TCT GGA — 3'). Ці праймери дозволяють ампліфікувати 3'-ділянку мітохондріального гена *Col*, який кодує першу субодиницю цитохром оксидази. Для дизайну праймерів було використано послідовність мітохондріального геному *A. m. ligustica* (реєстраційний номер у базі даних Genbank L06178 — Crozier, Crozier, 1993).

Реакційна суміш для ПЛР загальним об'ємом 30 мкл містила такі компоненти: 1 нг ДНК, 1,0 од. акт. ДНК-полімерази (FirePol, Solis Biodyne, Естонія), 2,5 мМ MgCl₂, суміш dNTP — 0,2 мМ кожного, 1× буфер для ПЛР та 0,2 мМ кожного з двох праймерів. ПЛР проводилася з використанням ампліфікатора MiniCycler (MJ Research Inc, США) за такою програмою: (1) 94 °C, 4 хв; (2) чотири цикли 94 °C, 45 с; 47 °C, 1 хв; 72 °C, 1 хв 10 с; (3) 30 циклів 94 °C, 45 с; 51 °C, 1 хв; 72 °C, 1 хв 10 с; (4) 72 °C, 7 хв.; припинення реакції — 4 °C; загальна кількість циклів ампліфікації — 35. Продукти ПЛР аналізували за допомогою електрофорезу у 2 % агарозному гелі та сиквенували на фірмі «Eurofins Scientific» (Люксембург).

Первинну обробку нуклеотидних послідовностей проводили за допомогою комп'ютерної програми Chromas та пакету програм комп'ютерної обробки даних DNASTAR. Вирівнювання здійснювали методом Clustal W (Thompson et al., 1994), а пошук гомологічних послідовностей у Genbank — з використанням програми BLAST.

Таблиця. Походження досліджених зразків *Apis mellifera*.

№	Назва зразка	Походження зразка
1.	Kitsman-151	м. Кіцмань, Чернівецька обл., Україна
2.	Kitsman-152	м. Кіцмань, Чернівецька обл., Україна
3.	Melipopol-2	м. Мелітополь, Запорізька обл., Україна

4.	Rakhivska (Рахівська)	с. Берегуйфало, Закарпатська обл., Україна
5.	Rivne-142	м. Рівне, Україна
6.	Synevyr (Синевир)	с. Вільшани, Закарпатська обл., Україна
7.	Sklenar 47 /H/47 — 1	G. Sklenar, Niederösterreichischer Imkerverband, Австрія; http://www.sklenarbiene.at/
8.	Sklenar 47 /H/47 — 2	J. Fuchs, ACA, Австрія; https://www.mr-bien.at/
9.	Vinnytsia-58	с. Гайове, Вінницька обл., Україна
10.	Vinnytsia-59	с. Гайове, Вінницька обл., Україна
11.	Vinnytsia-63B	с. Гайове, Вінницька обл., Україна
12.	Zac-Henni	J. Henniger, ZAC, Австрія; https://www.zac.at/unser-verein/unseremitglieder/henniger-josef/index.html
13.	Zalishch-144	м. Заліщики, Тернопільська обл., Україна
14.	Macedonica-GB	Реєстраційний номер у базі даних GenBank KX001968 (Radoslavov et al., 2017)
15.	Mellifera-GB	Реєстраційний номер у базі даних GenBank KJ396190

Примітка. ZAC — Zentrale Arbeitsgemeinschaft der Carnicazüchter; ACA — Austrian Carnica Association.

Результати та обговорення

Для з'ясування різноманіття медоносних бджіл України проаналізовано нуклеотидну послідовність ділянки гена *Col*. Для дослідження використано зразки робочих бджіл, отримані з п'яти областей (табл.). Для порівняння застосовано референтні зразки двох стандартних західноєвропейських ліній підвиду *A. m. carnica* (Zac-Henni, Sklenar 47), а також двох ліній Карпатської породи (Rakhivska, Synevyr), яка, згідно з нашим попереднім дослідженням, є локальним екотипом *A. m. carnica* (Cherevatov et al., 2019). Ці зразки було одержано з селекційних установ Австрії та України. Також для порівняння використано послідовності гена *Col* підвидів *A. m. macedonica* та *A. m. mellifera*, які доступні у міжнародній базі даних GenBank.

Електрофоретичний аналіз показав, що для всіх досліджених зразків ПЛР-ампліфікація ділянки гена *Col* призводить до утворення фрагментів ДНК, розмір яких складає близько 1000 нп. ПЛР-продукти було сиквененовано, а отримані послідовності порівняно між собою та з послідовностями, взятими з бази даних GenBank (рис.).

З'ясувалось, що у досліджених ліній Карпатських бджіл (Rakhivska, Synevyr) та у лінії Zac-Henni досліджувана ділянка ідентична, що додатково підтверджує думку про приналеж-

ність Карпатської породи до підвиду *A. m. carnica* (Cherevatov et al., 2019). Крім того, нами було виявлено, що друга референтна лінія *A. m. carnica*, Sklenar 47 відрізняється наявністю специфічної одонуклеотидної заміни А → G (single nucleotide polymorphism, SNP 1 — див. рис.), яка не спостерігається у жодній з досліджених форм *A. mellifera*. Цей результат узгоджується з нашими попередніми даними, які свідчать про генетичну відмінність лінії Sklenar 47 від інших ліній *A. m. carnica*, розповсюджених на території Австрії (Cherevatov et al., 2019).

У більшості зразків бджіл, отриманих з українських пасік (Kitsman-151, Melitopol-2, Rivne-142, Vinnytsia-58, Vinnytsia-59, Zalishch-144) та у двох референтних ліній Карпатської породи ділянка *Col* виявилась ідентичною. Отже, на пасіках Вінницької, Запорізької, Рівненської, Тернопільської та Чернівецької областей виявлені бджоли, які по материнській лінії імовірно походять від Карпатської породи. Нагадаємо, що згідно із офіційним районуванням Вінницька, Рівненська, Тернопільська та Чернівецька області вважаються територією розповсюдження Карпатської, а Запорізька — виключно Української степової породи (On beekeeping: Law of Ukraine No 184/82).

Поліморфізм гена *Col* у медоносних бджіл з різних регіонів України

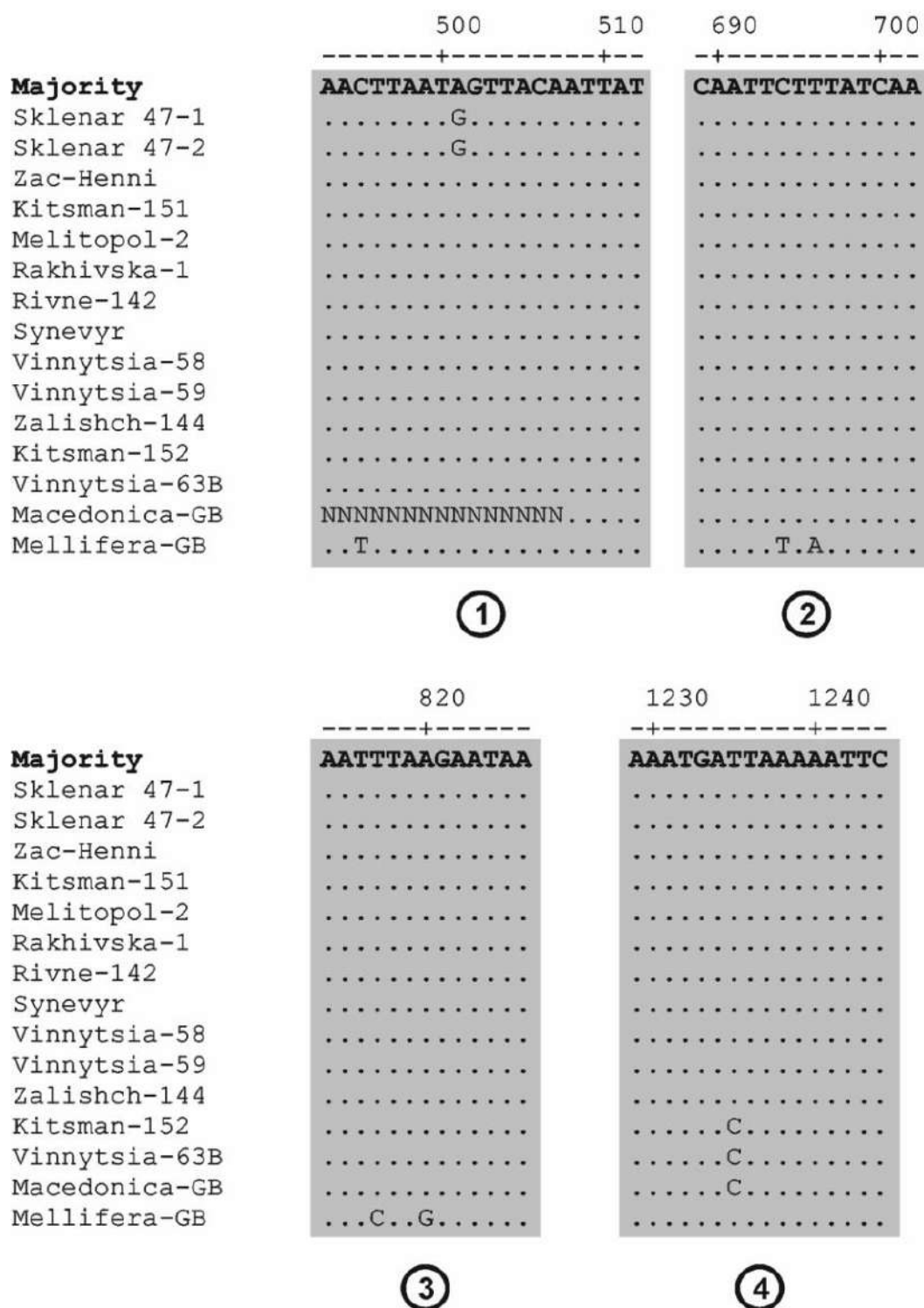


Рис. Розташування поліморфних нуклеотидів (SNP 1–4) у ділянці *Col* мтДНК *Apis mellifera*. Назви та походження досліджених зразків наведено у таблиці. Наявна в базі даних GenBank послідовність Macedonica-GB не містить кількох нуклеотидів досліджуваної ділянки гена *Col* (позначено як NNNNNNNN).

В той же час зразки Kitsman-152 та Vinnytsia-63B демонструють специфічну заміну нуклеотиду Т → С, яка також присутня у підвиді *A. m. macedonica* (SNP 4 — див. рис.). Імовірним поясненням цих даних є походження зразків Kitsman-152 та Vinnytsia-63B від Української степової породи. Присутність генетичного матеріалу цієї породи на території цих областей не відповідає офіційному районуванню (On bee-keeping: Law of Ukraine No 184/82).

Використана для порівняння послідовність гена *Col A. m. mellifera* відрізняється від всіх інших. На загал, у дослідженій ділянці для *A. m. mellifera* було знайдено десять SNP (8 транзицій та 2 трансверсії), п'ять з яких представлено на рисунку. Суттєва відмінність послідовності гена *Col A. m. mellifera* від *A. m. carnica* та *A. m. macedonica* цілком узгоджуються із існуючими уявленнями про еволюцію та систематику підвидів *A. mellifera* (Ruttner, 1988a; Garnery et al., 1992). У жодному з досліджених зразків українських бджіл не було виявлено SNP, характерних для *A. m. mellifera*. Це вказує на відсутність на українських пасіках генетичного матеріалу Темної європейської породи, яка належить до цього підвиду. Цікаво, що зникнення *A. m. mellifera* як результату витіснення іншими підвидами, які краще пристосовані до теплішого клімату, спостерігається і в інших країнах Європи (Parejo et al., 2016).

Підвиди *A. mellifera* історично сформувалися як результат адаптації до локальних еколого-географічних умов. Вони добре ізольовані один від одного у природі та мають характерні морфологічні ознаки (Ruttner, 1988a, b; Поліщук та ін., 2008). Відповідно, для ідентифікації порід традиційно використовують морфометричний аналіз (Ruttner, 1988b). Проте, такий підхід не враховує можливість антропогенної інтродукції бджіл з метою розведення та / або селекції та їх подальшої неконтрольованої гібридизації, яка за останні десятиліття набула загрозливих масштабів у різних країнах світу (Meixner et al., 2013; Pentek-Zakar et al., 2015; Delaney et al., 2009). Наші попередні дослідження також показали, що на сьогодні на українських пасіках переважно зустрічаються гібридні форми бджіл, які не відповідають стандартам жодної породи (Cherevatov et al., 2014; Cherevatov et al., 2016). Представлені у цій статті результати молекулярного аналізу свідчать, що ці гібридні форми виникли як результат схрещення Карпатської та Української степової порід внаслідок їх неконтрольованого завезення на непридатній їм території.

Висновки

Порівняльний аналіз нуклеотидної послідовності ділянки *Col* мтДНК показує, що виявлені у цьому гені специфічні мутації дозволяють розрізнити українські аборигенні породи *A. mellifera*. Гібридні форми бджоли, які на сьогодні широко представлені на українських пасіках, являють собою результат схрещення Карпатської та Української степової порід. Генетичного матеріалу Темної європейської породи не виявлено. Імовірною причиною втрати українських аборигенних порід *A. mellifera* видається порушення природнього районування при неконтрольованому завезенні бджіл.

Подяки. Автори висловлюють щирі подяки І. М. Доскочу (громадська організація «Об'єднання матководів України») та В. В. Паппу (Національний науковий центр «Інститут бджільництва ім. П. І. Прокоповича») за надання для досліджень референтних ліній бджіл.

Перелік літератури:

1. Achou M., Loucif-Ayad W., Legout H., Hmidan H., Alburaki M., Garnery L. An insightful molecular analysis reveals foreign honeybees among Algerian honeybee populations (*Apis mellifera* L.). *J. Data Mining Genom. Proteom.* 2015. Vol. 6, No 1. P. 1–6. doi: 10.4172/2153-0602.1000166. URL: https://www.researchgate.net/profile/Mohamed_ki/publication/273632144_An_Insightful_Molecular_Analysis_Reveals_Foreign_Honeybees_Among_Algerian_Honeybee_Populations_Apis_mellifera_L/links/550710e20cf27e990e04ad03.pdf.
2. Carreck N., Neumann P. Honey bee colony losses. *J. Apicult. Res.* 2010. Vol. 49. P. 1–6. doi: 10.3896/IBRA.1.49.1.01. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3896/IBRA.1.49.1.01>
3. Cherevatov O. V., Panchuk I. I., Kerek S. S., Volkov R. A. Molecular diversity of the *Col-Coll* spacer region in the mitochondrial genome and the origin of the Carpathian bee. *Cytol. Genet.* 2019. Vol. 53, No 4. P. 276–281. doi: 10.3103/S0095452719040030.
4. Cherevatov V. F., Ferkaljak V. Y., Volkov R. A. Hybridization of honey bees (*Apis mellifera* L.) in the territory of Chernivtsy region (Ukraine). *National Museum of Ethnography and Natural History of Moldova. Sci. Bull.* 2016. Vol. 24, No 37. P. 62–67. [in Russian] / Череватов В., Феркаляк В., Волков Р. Гибридизация пчелы медоносной (*Apis mellifera* L.) на территории Черновицкой области (Украина). *National Museum of Ethnography and Natural History of Moldova. Sci. Bull.* 2016. Vol. 24, No 37. P. 62–67.

5. Cherevatov V. F., Ferkaljak V. Y., Volkov R. A. Uncontrolled hybridization of honeybees (*Apis mellifera* L.) in the territory of Ivano-Frankivsk region. *Bull. Vavilov Soc. Genet. Breed. Ukraine*. 2014. Vol. 12, No. 2. P. 234–240. [in Ukrainian] / Череватов В., Феркаляк В., Волков Р. Неконтрольована гібридизація бджоли медоносної (*Apis mellifera* L.) на території Івано-Франківської області. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2014. Т. 12, № 2. С. 234–240.
6. Crozier R. H., Crozier Y. C. The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. *Genetics*. 1993. Vol. 133, No 1. P. 97–117.
7. Dalmon A., Peruzzi M., Le Conte Y., Alaux C., Pioz M. Temperature-driven changes in viral loads in the honey bee *Apis mellifera*. *J. Invertebrate Pathol.* 2019. Vol. 160. P. 87–94. doi: 10.1016/j.jip.2018.12.005.
8. Delaney D. A., Meixner M. D., Schiff N. M., Shepard W. S. Genetic characterization of commercial honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations in the United States by using mitochondrial and microsatellite markers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 2009. Vol. 102, No 4. P. 666–673. doi: 10.1603/008.102.0411.
9. Epilobee C., Chauzat M. P., Jacques A., Laurent M., Bougeard S., Hendriks P., Ribière-Chabert M. Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: one year of surveillance. *Apidologie*. 2016. Vol. 47. P. 348–378. doi: 10.1007/s13592-016-0440-z.
10. Fedoriak M. M., Tymochko L. I., Kulmanov O. M., Rudenko S. S., Deli O. F., Podobivskiy S. S., Melnychenko G. M., Brodschneider R., Volkov R. A. Honey bee (*Apis mellifera* L.) colony losses in Ukraine after the winter of 2016–2017 within the international monitoring. *Sci. Herald Chernivtsy University. Biol. (Biol. Systems)*. 2018. Vol. 10, No 1. P. 37–46. [in Ukrainian] / Федоряк М. М., Тимочко Л. І., Кульманов О. М., Руденко С. С., Делі О. Ф., Подобівський С. С., Мельниченко Г. М., Бродшнайдер Р., Волков Р. А. Втрати колоній медоносних бджіл (*Apis mellifera* L.) в Україні за результатами зимівлі 2016–2017 рр. в рамках міжнародного моніторингу. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. 2018. Т. 10, Вип. 1. С. 37–46. doi: 10.31861/biosystems2018.01.037.
11. Fedoriak M. M., Tymochko L. I., Kulmanov O. M., Shkrobanets O. O., Zhuk A. V., Dron Yu. S., Deli O. F., Podobivskiy S. S., Melnychenko G. M., Leheta U. V., Kholivchuk A. M. Results of annual honey bee colony losses survey in Ukraine: winter 2017–2018. *Sci. Herald Chernivtsy University. Biol. (Biol. Systems)*. 2019. Vol. 11, No. 1. P. 60–70. [in Ukrainian] / Федоряк М. М., Тимочко Л. І., Кульманов О. М., Шкробанець О. О., Жук А. В., Дронь Ю. С., Делі О. Ф., Подобівський С. С., Мельниченко Г. М., Легета У. В., Холівчук А. М. Результати щорічного моніторингу втрат бджолиних колоній в Україні: зимівля 2017–2018 рр. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. 2019. Т. 11, Вип. 1. С. 60–70. doi:10.31861/biosystems2019.01.06.
12. Franck P., Koeniger N., Lahner G., Crewe R. Evolution of extreme polyandry: an estimate of mating frequency in two African honeybee subspecies, *Apis mellifera monticola* and *A. m. scutellata*. *Insectes Soc.* 2000. Vol. 47, No 4, P. 464–470. doi: 10.1007/PL00001732.
13. Garmery L., Cornuet J., Solignac M. Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mol. Ecol.* 1992. Vol. 1. P. 145–154. doi: 10.1111/j.1365-294X.1992.tb00170.
14. Grygorkiv L. M. The influence of process selection on the formation of intrabreed type of the Ukrainian steppe bees. *Beekeeping in Ukraine*. 2017. Vol. 2. P. 49–55. [in Ukrainian] / Григорків Л. М. Вплив процесу селекції на формування внутрішньопородного типу Українських степових бджіл. *Бджільництво України*. 2017. Вип. 2. С. 49–55.
15. Hryhorchuk D. I., Rabokon A. M., Postovoitova A. S., Pirko N. M., Pirko Ya. V., Blume Ya. B. Evaluation of genetic diversity of honey bee in Ukraine analyzed by the SSR-markers. *Factors Experimental Evol. Organisms*. 2020. Vol. 26. P. 56–60. [in Ukrainian] / Григорчук Д. І., Рабоконт А. М., Постовойтова А. С., Пірко Я. В., Блюм Я. Б. Оцінка генетичного різноманіття бджіл в Україні за допомогою мікросателітних маркерів. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2020. Том 26. С. 56–60. doi: 10.7124/FEEO.v26.1241.
16. Martimianakis M., Klossa-Kilia E., Bouga M., Kiliadis G. Phylogenetic relationships of Greek *Apis mellifera* subspecies based on sequencing of mtDNA segments (COI and ND5). *J. Apicult. Res.* 2011. Vol. 50, No 1, P. 42–50. doi: 10.3896/IBRA.1.50.1.05.
17. Meixner M., Pinto M., Bouga M. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *J. Apicult. Res.* 2013. Vol. 52, No 4. P. 1–28. doi: 10.3896/IBRA.1.52.4.05. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3896/IBRA.1.52.4.05>.
18. Metlitska O. I., Polishchuk V. P., Taran S. I. The use of comparative and molecular-genetic evaluation under study of strain genuineness of Ukrainian bees. *Animal Biol.* 2010. Vol. 12, No 1. P. 254–259. [in Ukrainian] / Метлицька О. І., Поліщук В. П., Таран С. І. Застосування методів морфометрії та молекулярно-генетичної оцінки при визначенні чистопородності українських бджіл. *Біологія тварин*. 2010. Т. 12, № 1. С. 254–259.
19. Metlytska O. I., Kovtun S. I., Palkina M. D. DNA-certification of breeds of bees of Ukraine in the system of preservation and development of their gene pool. *Bull. Agricult. Sci.* 2015. Vol. 93, No 7. P. 39–43. [in Ukrainian] / Метлицька О. І., Ковтун С. І., Палькіна М. Д. ДНК-паспортизація по-

- рід бджіл України в системі збереження і вдосконалення їх генофонду. *Вісн. аграрної науки*. 2015. Т. 93, № 7. С. 39–43. doi: 10.31073/agrovisnyk201507-08.
20. On beekeeping: Law of Ukraine No. 184/82 of September 20, 2000. *Official Gazette of Ukraine* dated 10.11.2000, № 43, P. 245, Article 1872, Act Code 16996/2000. / Про бджільництво: Закон України No 184/82 від 20.09.2000. *Офіційний вісник України* від 10.11.2000 р., № 43, стор. 245, стаття 1872, код акта 16996/2000. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0736-00#Text>.
 21. Panchuk I. I., Volkov R. A. A Practical Course in Molecular Genetics. Chernivtsi, Ruta. 2007. 120 p. [in Ukrainian] / Панчук І. І., Волков Р. А. Практикум з молекулярної генетики. Чернівці: Рута. 2007. 120 с.
 22. Parejo M., Wragg D., Gauthier L., Vignal A., Neumann P., Neuditschko M. Using whole-genome sequence information to foster conservation efforts for the European Dark honey bee, *Apis mellifera mellifera*. *Front. Ecol. Evol.* 2016. Vol. 4, No 140. P. 1–15. doi: 10.3389/fevo.2016.00140. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fevo.2016.00140/full>.
 23. Pentek-Zakar E., Oleksa A., Borowik T., Kusz S. Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies. *Ecol. Evol.* 2015. Vol. 5, No 23. P. 5456–5467. doi: 10.1002/ece3.1781.
 24. Polishchuk V., Gaidar V., Korbut O. Apiary. Kiev. PerfectStyle. 2008. 284 p. [in Ukrainian] / Поліщук В., Гайдар В., Корбут О. Пасіка. Київ. Проф-Книга. 2008. 284 с.
 25. Radoslavov G., Hristov P., Shumkova R., Mitkov I., Sirakova D., Bouga M. A specific genetic marker for the discrimination of native Bulgarian honey bees (*Apis mellifera rodopica*): Duplication of *Col* gene fragment. *J. Apic. Res.* Vol. 56, No 3. P. 196–202. doi:10.1080/00218839.2017.1307713.
 26. Rizwan M., Li Z., Nie H., Qasim M., Raza M. F., Hassanyar A. K., Tayyab M., Su S. High mitochondrial diversity of *Apis mellifera* under *COI* gene from China and Pakistan. *App. Ecol. Env. Res.* 2018. Vol. 16, No 3. P. 2933–2945. doi: 10.15666/aeer/1603_29332945.
 27. Ruttner F. Breeding techniques and selection for breeding of the honeybee. British Isles Bee Breed. Assoc. England. 1988. 152 p.
 28. Ruttner F., Biogeography and Taxonomy of Honeybees, Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH. 1988. 283 p. doi: 10.1007/978-3-642-72649-1.
 29. Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* 1994. Vol. 22, No 22. P. 4673–4680. doi: 10.1093/nar/22.22.4673.
 30. Trapp J., McAfee A., Foster L. J. Genomics, transcriptomics and proteomics: enabling insights into social evolution and disease challenges for managed and wild bees. *Mol. Ecol.* 2017. Vol. 26. P. 718–739. doi: 10.1111/mec.13986.

Стаття надійшла до редакції 25.11.2020.
Прийнята до друку 09.12.2020

POLYMORPHISM OF *COI* GENE IN HONEY BEES FROM DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE

O. V. Cherevatov, E. O. Melnik, R. A. Volkov

Yuri Fedkovych National University of Chernivtsi
Ukraine, 58012 Chernivtsi, Kotsiubynski str. 2
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

Aim. The rapidly evolving mitochondrial *Col* gene is widely used in the molecular taxonomy of insects to identify closely related forms. Accordingly, to assess the distribution of subspecies / breeds of *Apis mellifera* in Ukraine, sequencing and comparison of this gene was performed for bees from different geographical regions. **Methods.** PCR amplification and sequencing of *Col*. **Results.** Breed-specific mutations in the *Col* gene have been identified for the Dark European, Carpathian and Ukrainian Steppe honey bees, which are widely distributed in Ukraine. It was found that the current distribution of these breeds does not correspond to the traditional zoning. **Conclusions.** The widespread practice of importing the genetic material of *Apis mellifera* from different regions of Ukraine leads to uncontrolled hybridization and represents a threat to the conservation of aboriginal breeds of honey bees.

Keywords: biodiversity, mitochondrial DNA, molecular markers, cytochrome oxidase, *Apis mellifera*.