

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

САВЛЕВИЧ
Матвей Андреевич

УСТАНОВЛЕНИЕ ПОДВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ
МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ *APIS MELLIFERA* L. С ПОМОЩЬЮ
ТЕХНОЛОГИИ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Е.В. Гузенко

Минск, 2025

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 40 страниц, 7 рисунков, 6 таблиц, 58 использованных источников.

Ключевые слова: ОПЫЛИТЕЛИ, МЕДОНОСНЫЕ ПЧЕЛЫ, ПОДВИДОВАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ, ДНК – ШТРИХКОДИРОВАНИЕ, МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК, COI, СЕКВЕНИРОВАНИЕ, ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, ЭВОЛЮЦИОННЫЕ ЛИНИИ.

Объект исследования: коллекция рабочих медоносных пчёл из пчелосемей, разводимых на частных пасеках, пасеках лесхозов и национальных парков Беларуси.

Цель работы: установить подвидовую принадлежность пчел с помощью технологии ДНК-штрихкодирования (ДНК-баркодинг).

Методы исследования: выделение ДНК из пчел, амплификация участка COI мтДНК с последующим секвенированием по Сэнгеру, анализ нуклеотидных последовательностей с помощью программного обеспечения MEGA по алгоритму ClustalW, построение древа осуществляли в программе MEGA с использованием алгоритма UPGMA, анализ данных из баз NCBI, BOLD, BLAST.

Полученные результаты: проанализировано 108 рабочих особей пчёл из 27 пчелосемей. Проведено секвенирование локуса COI образцов, которые по предварительному анализу мтДНК относились к эволюционной линии С. Выбранный для идентификации маркер COI показал хорошую воспроизводимость результатов амплификации, что соответствует критерию «универсальность». По критерию «качество сиквенса» получена оптимальная длина прочтений 558 п.н. для всех анализируемых образцов медоносных пчел. Точность идентификации в системе BOLD до уровня подвида составила 99% и более. Проведенный анализ показал, что с помощью технологии ДНК-штрихкодирования по анализу локуса COI можно идентифицировать образцы «южных» пород медоносных пчел.

Таким образом, прямой анализ нуклеотидных последовательностей ДНК позволяет усовершенствовать традиционно используемые системы классификации. Использованная нами в работе маркерная последовательность локуса COI позволяет точно проводить таксономическую идентификацию следующих подвидов медоносных пчел: *A. m. capensis*, *A. m. anatoliaca*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*, *A. m. carpatica*. Данный подход необходим для выявления ошибок или расхождений в идентификации таксонов.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца ўтрымлівае 40 старонак, 7 малюнкаў, 6 табліц, 58 выкарыстаных крыніц.

Ключавыя словы: АПЫЛЯЛЬНІКІ, МЕДАНОСНЫЯ ПЧОЛЫ, ПАДВІДАВАЯ ПРЫНАЛЕЖНАСЦЬ, ДНК – ШТРЫХКАДАВАННЕ, МІТАХАНДРЫЯЛЬНАЯ ДНК, COI, СЕКВЕНІРАВАННЕ, ФІЛАГЕНЕТЫЧНЫ АНАЛІЗ, ЭВАЛЮЦЫЙНЫЯ ЛІНІІ.

Аб'ект даследавання: калекцыя рабочых меданосных пчол з пчаласямей, якія разводзяцца на прыватных пчальніках, пчальніках лягасаў і нацыянальных паркаў Беларусі.

Мэта працы: ўсталяваць падвідавых прыналежнасць пчол з дапамогай тэхналогіі ДНК-штрихкодирования (ДНК-баркодинг).

Метады даследавання: вылучэнне ДНК з пчол, ампліфікацыя ўчастка COI мтДНК з наступным секвеніраваннем па Сэнгеру, аналіз нуклеотидных паслядоўнасцяў з дапамогай праграмага забеспячэння MEGA па алгарытме ClustalW, Пабудова дрэва ажыццяўлялі ў праграме MEGA з выкарыстаннем алгарытму UPGMA, аналіз дадзеных з баз NCBI, BOLD, BLAST.

Атрыманыя вынікі: прааналізавана 108 рабочых асобін пчол з 27 пчаласямей. Праведзена секвеніраванне локуса COI узораў, якія па папярэдняй аналізу мтДНК ставіліся да эвалюцыйнай лініі. С. Абраны для ідэнтыфікацыі маркер COI паказаў добрую ўзнаўляльнасць вынікаў ампліфікацыі, што адпавядае крытэру «ўніверсальнасць». Па крытэры «якасць сиквенса» атрымана аптымальная даўжыня 558 разоў прачытана. п. н. для ўсіх аналізаваных узораў меданосных пчол. Дакладнасць ідэнтыфікацыі ў сістэме BOLD да ўзроўню падвіда складала 99% і больш. Праведзены аналіз паказаў, што з дапамогай тэхналогіі ДНК-штрихкодирования па аналізе локуса COI можна ідэнтыфікаваць ўзоры «паўднёвых» парод меданосных пчол.

Такім чынам, прамы аналіз нуклеотидных паслядоўнасцяў ДНК дазваляе ўдасканаліць традыцыйна выкарыстоўваюцца сістэмы класіфікацыі. Выкарыстаная намі ў працы маркерная паслядоўнасць локуса COI дазваляе дакладна праводзіць таксанамічных ідэнтыфікацыю наступных падвідаў меданосных пчол: *A. m. capensis*, *A. m. anatoliaca*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*, *A. m. carpatica*. Дадзены падыход неабходны для выяўлення памылак або разыходжанняў у ідэнтыфікацыі таксонаў.

ABSTRACT

The diploma paper includes 40 pages, 7 figures, 6 tables; it is based on 58 sources.

Keywords: POLLINATORS, HONEY BEES, SUBSPECIES, DNA BARCODING, MITOCHONDRIAL DNA, COI, SEQUENCING, PHYLOGENETIC ANALYSIS, EVOLUTIONARY LINES.

The research object: a collection of worker honeybees from bee colonies bred in private apiaries, apiaries of forestry enterprises and national parks of Belarus.

The objective: to establish the subspecies of bees using DNA barcoding technology.

Research methods: DNA extraction from bees, amplification of the mtDNA COI site followed by Sanger sequencing, analysis of nucleotide sequences using the MEGA software using the ClustalW algorithm, tree construction was carried out in the MEGA program using the UPGMA algorithm, data analysis from NCBI, BOLD, BLAST databases.

The results obtained: 108 worker bees from 27 bee colonies were analyzed. The COI locus of the samples was sequenced, which, according to preliminary mtDNA analysis, belonged to the evolutionary lineage C. The COI marker selected for identification showed good reproducibility of amplification results, which meets the criterion of "universality". According to the "sequence quality" criterion, the optimal reading length of 558 bp obtained for all analyzed honeybee samples. The accuracy of identification in the BOLD system to the subspecies level was 99% or more. The analysis showed that using DNA barcoding technology, samples of "southern" honeybee breeds can be identified by analyzing the COI locus.

Thus, direct analysis of DNA nucleotide sequences makes it possible to improve traditionally used classification systems. The marker sequence of the COI locus used in our work allows precise taxonomic identification of the following subspecies of honeybees: *A. m. capensis*, *A. m. anatoliaca*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*, *A. m. carpatica*. This approach is necessary to identify errors or discrepancies in the identification of taxa.