

УДК 577.212.3 + 595.799

## **МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ПОЛІМОРФІЗМ 5S рДНК КАРПАТСЬКОЇ БДЖОЛИ**

**Н.М. РОШКА, О.В. ЧЕРЕВАТОВ, Р.А. ВОЛКОВ**

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, Чернівці, 58012, Україна

E-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

*Природний ареал медоносної бджоли, Apis mellifera L. охоплює Європу, Західну Азію та Африку. Адаптація до локальних умов існування призвела до формування чисельних підвидів та екотипів медоносної бджоли, які являють собою зручну модель для дослідження мікроеволюції комах. Ділянки геному, які кодують 5S рДНК (5S рДНК), є популярним інструментом для вивчення молекулярної еволюції та філогенії близькосторідних форм тварин і рослин. У цій статті ми наводимо результати аналізу поліморфізму 5S рДНК двох селекційних рас – Рахівська та Говерла – Карпатської породи медоносної бджоли, яка представляє місцевий екотип підвиду A. t. carnica, та порівнюємо їх із даними, наявними у базі даних Genbank для цього підвиду та азійського виду A. cerana. Встановлено, що в геномі A. t. carnica присутні щонайменше два класи 5S рДНК, кожен з яких містить декілька структурних варіантів. Геноми двох досліджених рас Карпатської породи та наявний у Genbank зразок A. t. carnica відрізняються за наборами таких варіантів, тоді як повторювані ділянки 5S рДНК A. cerana є ідентичними в межах геному. Отримані результати свідчать про високий внутрішньо- та міжгеномний поліморфізм 5S рДНК у A. t. carnica.*

**Ключові слова:** карпатська бджола, міжгенний спейсер 5S рДНК, молекулярні маркери, повторювані послідовності, Apis mellifera, Apidae.

**Вступ.** Медоносна бджола (*Apis mellifera* L.) виникла у Азії та широко розповсюдилася територією Європи та Африки, розділившись на мережу відомих сьогодні підвидів близько 10 тис. років тому (Ruttner, 1992; Kotthoff et al, 2013; Gupta et al, 2014). Колонізація нових терито-

рій супроводжувалась формуванням чисельних підвидів, екотипів та місцевих популяцій, які вважаються адаптованими до локальних умов існування (Ruttner, 1988; Garnery et al, 1992; Whitfield et al, 2006). Відповідно, *A. mellifera* є зручною моделлю для дослідження мікроеволюції у комах.

Існуючі породи та селекційні раси (або лінії) медоносної бджоли, які використовуються в різних країнах світу, сформувались на основі місцевих екотипів та популяцій (Ruttner, 1988). Зокрема на території Західної України розповсюджена Карпатська порода бджіл, яка сформувалась на основі місцевого екотипу підвиду *A. t. carnica* і представлена кількома селекційними расами (Polishchuk, Gaidar, 2008; Cherevatov et al, 2019; 2020).

Неконтрольоване завезення людиною порід медоносної бджоли, які належать до різних підвидів *A. mellifera*, на нові, не характерні для них території призводить до їх гібридизації із місцевими породами/расами, що в свою чергу спричиняє втрату цих аборигенних форм (Allendorf et al, 2001; Cherevatov et al, 2020). Вважається, що саме втрата добре адаптованих місцевих порід є однією з причин масової загибелі бджіл, яка за останнє десятиліття спостерігається у багатьох країнах світу (Neumann et al, 2010; Fedoriak et al, 2017; Kulhanek et al, 2017; Brown et al, 2018; Stanimirovic et al, 2019; Gray et al, 2020).

З'ясування походження та філогенії місцевих порід медоносної бджоли, їх приналежності до певних підвидів вимагає застосуван-

© Н.М. РОШКА, О.В. ЧЕРЕВАТОВ, Р.А. ВОЛКОВ, 2021

ня сучасних молекулярно-генетичних методів. Наразі для цього найбільш широко використовується порівняння мінливих ділянок мітохондріальної ДНК (Slathia et al, 2016; Kek et al, 2017; Cherevatov et al, 2019; Henriques et al, 2019; Boardman et al, 2020a,b; Tihelka et al, 2020; Francoso et al, 2020; Abou-Shaara et al, 2021), тоді як ядерні молекулярні маркери використовуються все ще недостатньо.

Однією з ділянок ядерного геному еукаріотичних організмів, яка еволюціонує з високою швидкістю і може застосовуватись для відстеження мікроеволюційних процесів, є міжгенні спейсери послідовності (intergenic spacers, IGS), які розділяють гени, що кодують 5S рДНК (5S рДНК). Ці ділянки широко використовуються для вивчення молекулярної еволюції та філогенії у рослин (Garcia et al, 2017; Ishchenko et al, 2018; Tynkevich, Volkov, 2019; Ferher et al, 2021; Ishchenko et al, 2021; Vozarova et al, 2021) та деяких безхребетних (Vizoso et al, 2011; Bardella et al, 2018) та хребетних (Vierna et al, 2013; Cavalcante et al, 2020) тварин, тоді як у комах їхня організація все ще залишається недостатньо вивченою.

5S рДНК належать до класу середньо повторюваних, тандемно організованих послідовностей. В межах одного геному можуть бути присутні один або декілька хромосомних локусів 5S рДНК (Oliveira et al, 2011; Oliveira et al, 2012; Bardella et al, 2018; Bustos et al, 2020; Vozarova et al, 2021). Кожна повторювана одиниця (повтор) 5S рДНК складається з високо консервативної кодувальної ділянки розміром близько 120 нп та мінливого IGS (Ishchenko et al, 2018; Simon et al, 2018; Qin et al, 2019; Ding et al, 2021). Послідовності кодувальних ділянок високо подібні навіть у представників віддалених таксонів завдяки дії стабілізуючого добору, спрямованого на збереження послідовності 5S рДНК, незамінного компонента рибосоми. Крім того, у багатьох видів послідовність еволюційно мінливого IGS виявляється високо подібною (або навіть ідентичною) в усіх копіях повторів 5S рДНК в межах одного геному. В першу чергу це стосується повторів 5S рДНК, які належать до одного й того ж хромосомного локусу, тоді як IGS з різних локусів можуть суттєво відрізнятись (Pinhal et al, 2011; Vierna et al, 2013; Vozarova et al, 2021). Для пояснення висо-

кої внутрішньогеномної подібності повторів 5S рДНК було запропоновано гіпотези «концертної еволюції» та «народження і смерті». Механізми гомогенізації повторів 5S рДНК можуть відрізнятись у різних таксономічних групах (Pinhal et al, 2011; Vizoso et al, 2011; Vierna et al, 2013; Barman et al, 2016; Bueno et al, 2016; Ding et al, 2021).

Попередньо нами була виявлена висока варіабельність 5S рДНК у комах, які належать до родів *Lucaenidae* (Cherevatov, Volkov, 2010; 2012) та *Nymphalidae* (Cherevatov, Volkov, 2011a, b) ряду *Lepidoptera*. Проте, молекулярна організація цієї ділянки геному у представників ряду *Hymenoptera* все ще залишається не дослідженою. Відповідно, у цій статті ми представляємо результати секвенування 5S рДНК двох рас – Рахівська та Говерла – Карпатської породи медоносної бджоли, які належать до підвиду *A. m. carnica* (Cherevatov et al, 2019; Cherevatov et al, 2020) та порівнюємо їх з послідовностями 5S рДНК, наявними у базі даних Genbank для *A. m. carnica* та азійського виду *A. cerana*.

**Матеріали та методи.** Матеріалом для дослідження були робочі бджоли двох селекційних рас (заводських типів) Карпатської породи, Рахівська (с. Берегуйфалу, Закарпатська обл., Україна) та Говерла (с. Брестів, Закарпатська обл., Україна), які було отримано з колекції ННЦ Інституту бджільництва ім. П.І. Прокіповича. Комахи зберігалися в 90%-ному етанолі. Загальну ДНК екстрагували з тіла бджоли з використанням СТАВ (Schiebelhut et al, 2016).

Ампліфікацію досліджуваної ділянки здійснювали за допомогою ПЛР, для якої використовували пару праймерів, комплементарних до 3' та 5' кінців кодувальної ділянки 5S рДНК: Pr5S-F (5'-CAT AGC GGC CGC GTG GTC AGT ACT TGG ATG GGT GA-3') + Pr5S-R (5'-CAT GGC GGC CGC GTA CGT AGC TTG ACT TTG GTG ATC G-3'). Реакційна суміш загальним об'ємом 20 мкл містила 1 нг ДНК, 1 × Hot FirePol Blend Master Mix (Solis Biodyne, Estonia) та 0,2 мкМ кожного з праймерів. ПЛР проводили на апліфікаторі РТС-100 (MJ Research, Inc., США) за програмою: 1 – початкова активація ДНК-полімерази: 95 °С, 13 хв; 2 – денатурація ДНК: 95 °С, 15 с; 3 – гібридизація праймерів: 57 °С, 30 с; 4 – синтез ДНК:

72 °С, 40 с; 5 – завершення ампліфікації: 72 °С, 8 хв; 6 – припинення реакції: 4 °С. Загальна кількість циклів – 35. ПЛР продукти аналізували в 2%-ному агарозному гелі.

Відібрані ампліфікати лігували у плазмідний вектор pJet1.2 за допомогою набору CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Fisher Scientific). Трансформацію компетентних клітин *Escherichia coli* (штам XL-blue) здійснювали методом електропорації з використанням приладу E. coli Pulser (BioRad, США). Колонії, які містили плазмідні зі вставками, виявляли за резистентністю до ампіциліну. Відібрані рекомбінантні плазмідні сиквенували на фірмі LGC Genomics (Німеччина). Первинну обробку розшифрованих послідовностей здійснювали з використанням комп'ютерних програм Chromas та DNASTAR. Отримані послідовності задепоновано у базі даних Genbank під номерами MZ328120-MZ328127.

Послідовності 5S рДНК були також виявлені з використанням програми BLAST (Altschul, 1990) у частково анотованих геномах *A. m. carnica* (реєстраційний номер – GCA\_013841245.1) та *A. cerana* (реєстраційний номер – GCA\_001442555.1), доступних у базі даних Genbank. Вирівнювання отриманих послідовностей здійснювали за допомогою методу ClustalV (Higgins et al, 1992). Для побудови та візуалізації філогенетичного дерева використовували онлайн-сервер iqTree (<http://www.iqtree.org>) та програму FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>).

**Результати та обговорення.** Повторювану ділянку 5S рДНК було ампліфіковано за допомогою ПЛР. Електрофоретичний аналіз показав, що для всіх зразків утворюються фрагменти ДНК, розмір яких становить приблизно 400 нп. Ці ПЛР-продукти клонували у плазмідний вектор, після чого для рас Говерла та Рахівська було сиквенувано, відповідно, 3 та 5 клонів. Аналіз отриманих послідовностей показав, що всі досліджувані клони містять IGS, які з обох боків фланковані фрагментами кодувальної ділянки включно з використаними для ПЛР праймерами. Для аналізу також використовувались ділянки 5S рДНК, знайдені в базі даних Genbank (табл. 1).

Порівняння всіх наявних послідовностей показало, що у *A. m. carnica* довжина IGS знаходиться в межах від 237 до 253 нп. Рівень

подібності між індивідуальними копіями IGS змінюється в широких межах – від 78,0 до 99,6 % (табл. 2). Найбільший відсоток подібності демонструють послідовності Gov3.5 та CarnGB1.6, які представляють два різні геноми. Водночас, в межах кожного з трьох досліджених геномів *A. m. carnica* виявлено повтори 5S рДНК, які мають значно нижчий рівень подібності IGS – 81,4% (CarnGB1.1 / CarnGB1.10), 83,3% (Gov3.3 / Gov3.4) та 92,0% (Rakh3.1 / Rakh3.4, 3.5). На загал ці результати вказують на помітний внутрішньогеномний поліморфізм IGS у *A. m. carnica*. На противагу цьому, всі послідовності IGS *A. cerana* мали довжину 252 нп та виявились ідентичними за послідовністю.

Вирівнювання послідовностей IGS *A. m. carnica* показало, що різниця між ними пе-

Таблиця 1. Характеристика IGS 5S рДНК *Apis mellifera carnica* та *A. cerana*

Клон/фрагмент ДНК		IGS	
назва	структурний варіант	довжини, нп	вміст GC-пар, %
<i>A. m. carnica</i>			
<i>Говерла</i>			
Gov3.3	2A	237	22,78
Gov3.4	2B	247	21,46
Gov3.5	1A	252	21,03
<i>Рахівська</i>			
Rakh3.1	1A	252	21,43
Rakh3.2	1C	249	22,49
Rakh3.3	1B	251	21,51
Rakh3.4	1C	253	22,13
Rakh3.5	1B	253	22,53
<i>Genbank</i>			
CarnGB1.1	1E	250	21,60
CarnGB1.3	1D	246	21,14
CarnGB1.4	1E	250	21,60
CarnGB1.6	1A	251	21,12
CarnGB1.7	1E	248	21,37
CarnGB1.9	1E	251	21,51
CarnGB1.10	2B	244	21,31
<i>A. cerana</i>			
<i>Genbank</i>			
CerGB1.3	–	252	24,60

Таблиця 2. Рівень подібності (%) IGS 5S рДНК *A. m. sarrisa* та *A. serripa*

Назва клону	Gov3.3	Gov3.4	Gov3.5	Rakh3.1	Rakh3.2	Rakh3.3	Rakh3.4	Rakh3.5	СартGB1.1	СартGB1.3	СартGB1.4	СартGB1.6	СартGB1.7	СартGB1.9	СартGB1.10	СертGB1.3
Gov3.3	100	83,3	85,2	84,5	87,9	86,4	86,4	84,8	86,0	83,7	87,1	85,6	86,4	87,1	84,1	70,5
Gov3.4		100	84,1	83,3	83,0	83,0	82,2	81,1	83,0	78,8	84,1	83,7	81,8	83,7	97,7	71,6
Gov3.5			100	98,9	92,8	94,3	92,0	92,0	92,0	87,9	92,4	99,6	89,0	90,5	82,6	72,3
Rakh3.1				100	92,8	93,6	92,0	92,0	91,3	87,1	91,7	98,5	88,3	89,8	81,8	72,0
Rakh3.2					100	94,7	98,5	95,5	94,7	90,5	95,8	93,2	92,4	93,9	82,2	71,6
Rakh3.3						100	93,9	97,0	94,3	90,2	95,5	93,9	91,3	94,3	81,4	73,1
Rakh3.4							100	97,0	93,9	89,0	95,1	91,7	90,9	93,2	80,7	70,1
Rakh3.5								100	92,0	87,9	93,2	91,7	89,0	91,3	79,5	71,2
СартGB1.1									100	90,2	98,9	91,7	94,7	97,0	81,4	71,2
СартGB1.3										100	91,3	88,3	92,4	90,9	78,0	69,7
СартGB1.4											100	92,0	95,8	98,1	82,6	72,3
СартGB1.6												100	89,4	90,2	83,0	72,7
СартGB1.7													100	97,0	82,2	71,6
СартGB1.9														100	82,6	72,0
СартGB1.10															100	73,1
СертGB1.3																100

Примітка. Характеристики використаних для порівняння клонів наведено у табл. 1.

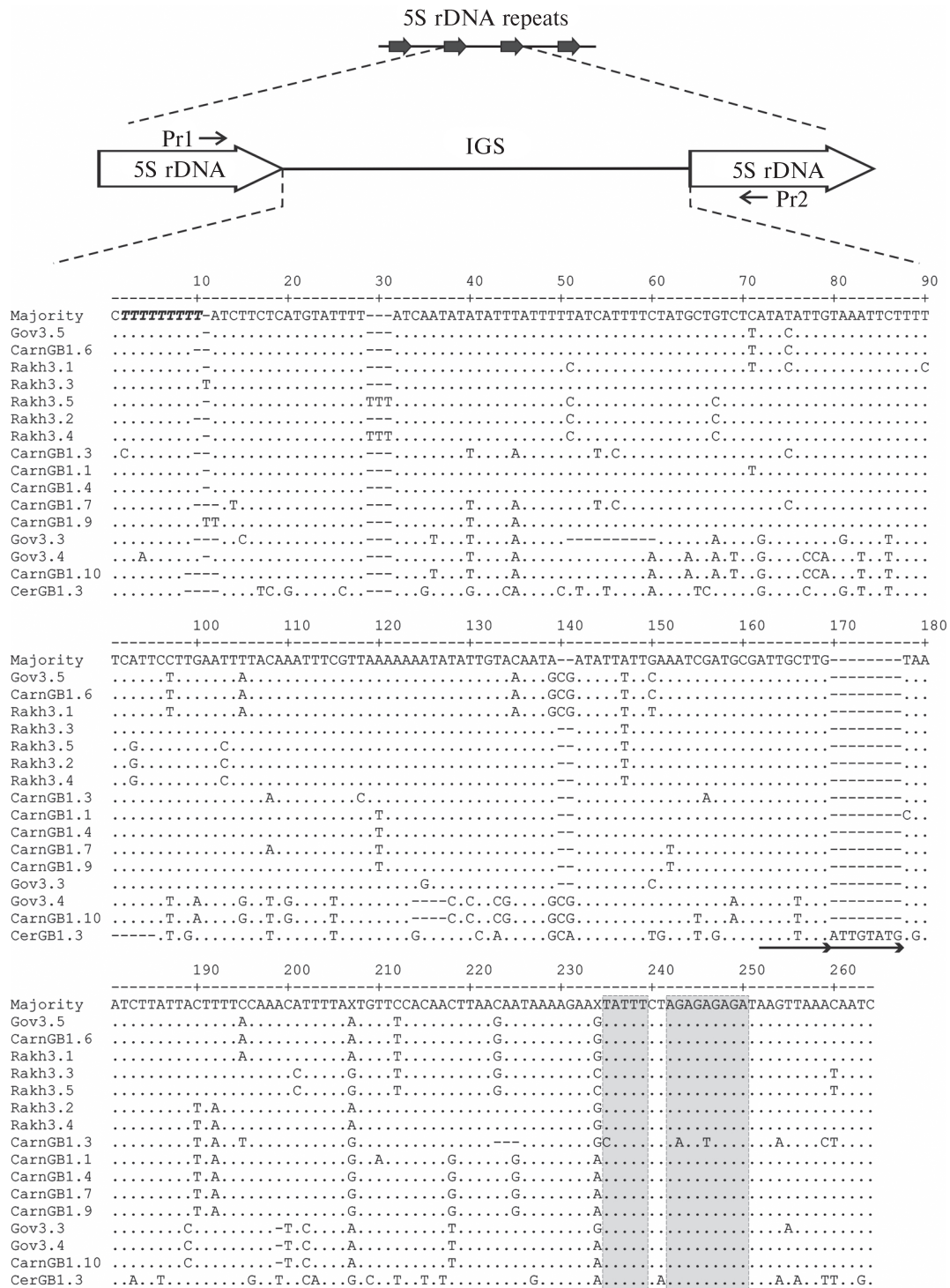
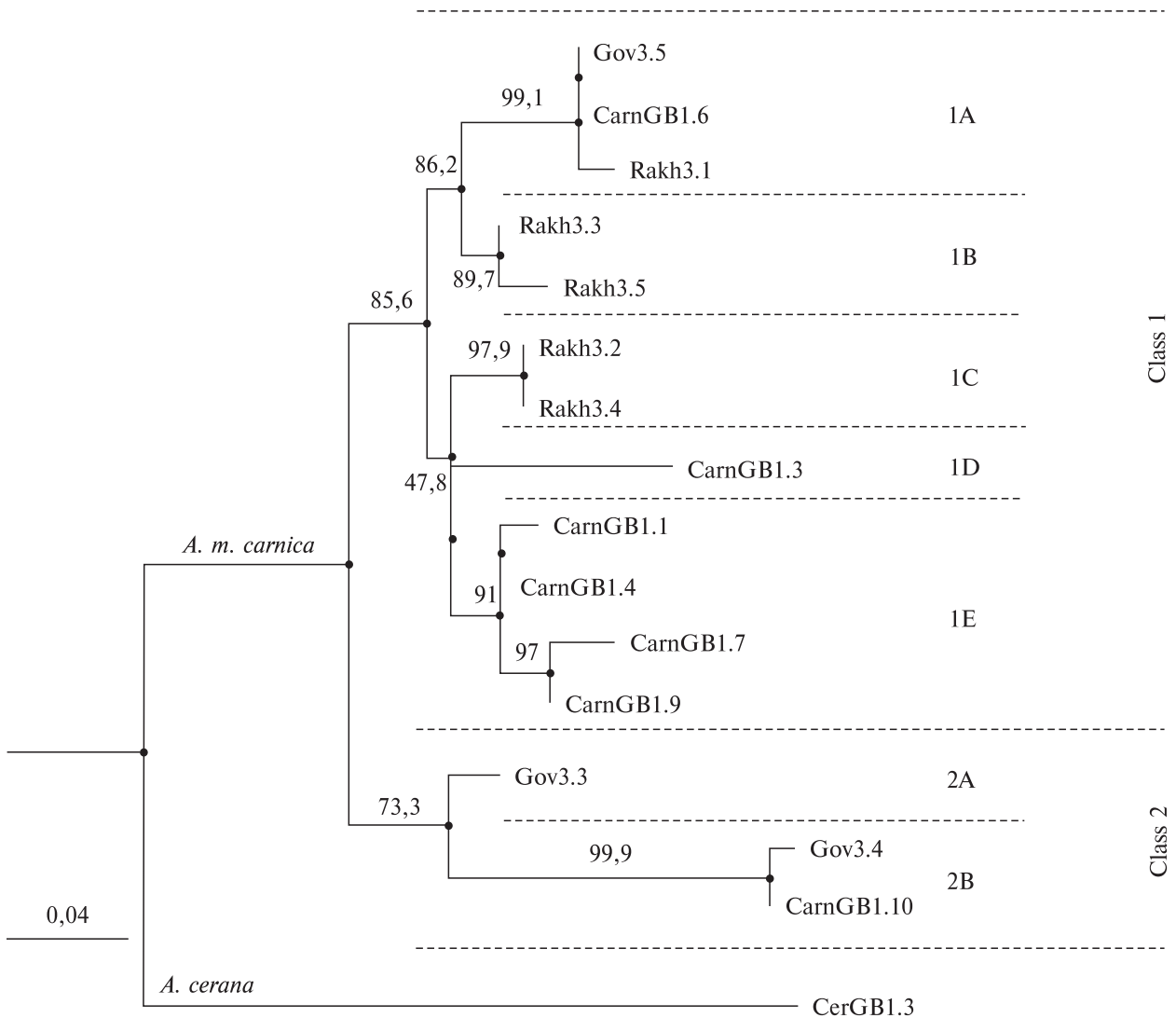


Рис. 1. Порівняння послідовностей IGS 5S рДНК *A. m. carnica* та *A. cerana*. Pr1 та Pr2 – праймери Pr5S-F та Pr5S-R, відповідно. Виділено потенційні зовнішні елементи промотора; жирним курсивом вказано oligo-dT послідовність термінатора; стрілками позначено розташування дуплікації у IGS. Характеристики використаних для порівняння клонів наведено у табл. 1



**Рис. 2.** ML-филодендрограмма, отримана при порівнянні послідовностей IGS 5S рДНК *A. m. carnica* та *A. cerana* методом максимальної правдоподібності з використанням GTR моделі заміщення. Цифри біля вузлів відповідають бутстреп-підтримці, яка розрахована у відсотках для 1000 реплікацій

реважно пов'язана з однонуклеотидними поліморфізмами (single nucleotide polymorphism, SNP) та кількома короткими (1–4 нп) інделами (інсерціями/делеціями). Лише у одному клоні, Gov3.3 знайдено делецію більшого розміру – 10 нп. IGS *A. cerana* відрізняється від *A. m. carnica* численними SNP, кількома короткими інделами та наявністю специфічної інсерції АТТГТАТГ, яка виникла як результат дуплікації сусідньої послідовності (рис. 1).

Відомо, що в межах кодувальної ділянки у всіх еукариотичних організмів знаходяться вну-

трішні елементи промотора РНК-полімерази III, які необхідні для ініціації транскрипції 5S рДНК. Такими елементами є А-box, ІЕ (intermediate element) та С-box (Pieler et al, 1987; Tyler, 1987; Sharp, Garcia, 1988; Vizoso et al, 2011; Layat et al, 2013). Крім того, в ініціації транскрипції беруть участь і зовнішні елементи промотора. Зокрема, до таких елементів належить консервативна ТАТА-подібна послідовність, яку було знайдено у позиції від –30 до –24 нп вище старту транскрипції у шовкопряда *Bombyx mori* (Morton, Sprague, 1984), *Dro-*

*sophila melanogaster* (Sharp, Garcia, 1988), двох видів *Caenorhabditis* (Nelson et al, 1998), кількох видів моллюсків (Vizoso et al, 2011) і риб (Martins, Galetti, 2001), а також у рослин (Layat et al, 2012; Simon et al, 2018) і грибів (Tyler, 1987).

Проте, 5S рДНК метелика *Melitaea trivialis* (родина Nymphalidae) помітно відрізняється за послідовністю IGS від *Bombix mori*. Зокрема, у положенні від -25 до -20 нп ТАТА-подібну послідовність ТААТАТ знайдено лише у довгого варіанту IGS, тоді як у короткого варіанту IGS у цій позиції знаходиться мотив TAGAGT (Cherevatov, Volkov, 2011b). У метеликів, які належать до родини Lycaenidae у IGS взагалі немає АТ-багатих мотивів (Cherevatov, Volkov, 2010; 2012).

З огляду на наведені дані було цікаво з'ясувати, чи АТ-багаті мотиви присутні у передбачуваному районі зовнішнього промотору 5S рДНК видів роду *Apis*. Аналіз послідовностей показав, що у 15 з 16 досліджених нами послідовностей IGS у положенні від -30 до -26 нп перед початком кодувальної ділянки дійсно присутній АТ-багатий мотив ТАТТТ. Тим не менш, на загальна наявні дані свідчать, що зовнішні елементи промотору 5S рДНК можуть істотно відрізнятися як у різних групах тварин, так і комах, зокрема.

Варто також зазначити, що у всіх проаналізованих послідовностях IGS видів роду *Apis*, за винятком CarnGB1.3, у положенні -22 нп присутній пурин-багатий мотив АGAGAGAGA (рис. 1). Роль цього мотиву наразі невідома і потребує подальшого прояснення. Крім того, на 5' кінці IGS, безпосередньо після кодувальної ділянки виявлено oligo-dT мотив, який імовірно виконує роль термінатора транскрипції (Layat et al, 2012; Vierna et al, 2013).

З використанням отриманих нами послідовностей IGS була побудована ML-дендрограма, яка відображає подібність між ними (рис. 2). Встановлено, що послідовності IGS 5S рДНК *A. m. carnica* групуються у дві основні класи з високою статистичною підтримкою. В межах цих двох класів наявні декілька підклад. Отже, у геномі *A. m. carnica* присутні принаймні два класи 5S рДНК, кожен з яких включає декілька структурних варіантів. При цьому, геноми трьох досліджених зразків *A. m. carnica* відрізняються за наборами таких варіантів: у зраз-

ках Говерла та Рахівська знайдено, відповідно, варіанти 1А, 2А, 2В та 1А, 1В, 1С, а у геномі, наявному у Genbank – варіанти 1А, 1D, 1Е та 2В (табл. 1). Нагадаємо, що різні раси та лінії медоносною бджоли, які належать до підвиду *A. m. carnica* є генетично дуже близькими і не відрізняються, зокрема, за послідовністю генів *COI-COII* (Cherevatov et al, 2019; 2020), які широко використовуються для генотипування (Slathia et al, 2016; Kek et al, 2017; Henriques et al, 2019). Отже, видається, що у *A. m. carnica* ядерна 5S рДНК є еволюційно більш мінливою, ніж мітохондріальні гени *COI-COII*.

Водночас, всі послідовності IGS 5S рДНК, які було знайдено у *A. cerana*, є ідентичними, тобто два види роду *Apis* суттєво відрізняються за внутрішньогеномною мінливістю цієї ділянки. Можливі причини різниці у характері молекулярної еволюції IGS рДНК у цих двох видів потребують додаткового вивчення.

**Висновки.** В геномі *A. m. carnica* присутні щонайменше два структурні класи 5S рДНК, кожен з яких містить декілька варіантів. Геноми двох досліджених рас, Рахівська та Говерла, Карпатської породи та наявний у Genbank зразок *A. m. carnica* відрізняються за наборами таких варіантів. На противагу цьому, повторювані ділянки 5S рДНК *A. cerana* є ідентичними в межах геному. Отже, отримані результати свідчать про високий внутрішньо- та міжгеномний поліморфізм 5S рДНК у *A. m. carnica*.

**Дотримання етичних стандартів.** Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей і хребетних тварин в якості об'єктів дослідження.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Дослідження проводились за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (грант № 0120U102119).

#### MOLECULAR ORGANIZATION AND POLYMORPHISM OF 5S rDNA IN CARPATHIAN BEES

N.M. Roshka, O.V. Cherevatov, R.A. Volkov

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University  
Kotsiubynsky str. 2, 58012 Chernivtsi, Ukraine  
E-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

The natural distribution area of the western honey bee, *Apis mellifera* L., covers Europe, West Asia and Africa.

Adaptation to local environmental conditions resulted in the formation of numerous subspecies and ecotypes of western honey bee, which represent a convenient model for studying the microevolution of insects. Genomic region encoding 5S rRNA (5S rDNA) is a popular tool for investigation of the molecular evolution and phylogeny of closely related animal and plant taxa. In this article, we present the results of the analysis of 5S rDNA polymorphism in two breeding races, Rakhiv and Hoverla, of the Carpathian breed of western honey bee, which represents the local ecotype of the subspecies *A. m. carnica*, and compare them with the data available in the Genbank database for this subspecies and the Asian species *A. cerana*. It was found that in the genome of *A. m. carnica* there are at least two classes of 5S rDNA, each of which includes several structural variants. The genomes of the two studied races of the Carpathian breed and that of the *A. m. carnica* from Genbank differ in the sets of such variants, while the 5S rDNA repeated units of the of *A. cerana* are identical within the genome. The obtained results indicate a high intra- and intergenomic polymorphism of 5S rDNA in *A. m. carnica*.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Abou-Shaara HF, Abbas AS et al. (2021) Exploring the non-coding regions in the mtDNA of some honey bee species and subspecies. *Saudi J Bio Sci* 28(1):204–209. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.09.047
- Allendorf FW, Leary RF et al. (2001) The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends Ecol Evol* 16:613–622. doi: 10.1016/S0169-5347(01)02290-X
- Altschul SF, Gish W et al. (1990) Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215:403–410. doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2
- Bardella VB, Cabral-de-Mello DC. (2018) Uncovering the molecular organization of unusual highly scattered 5S rDNA: The case of *Chariesterus armatus* (Heteroptera). *Gene* 646:153–158. doi: 10.1016/j.gene.2017.12.030
- Barman AS, Singh M et al. (2016) Evidence of birth-and-death evolution of 5S rRNA gene in *Channa* species (Teleostei, Perciformes). *Genetica* 144(6):723–732. doi: 10.1007/s10709-016-9938-6
- Boardman L, Eimanifar A et al. (2020a) The complete mitochondrial genome of the West African honey bee *Apis mellifera adansonii* (Insecta: Hymenoptera: Apidae). *Mitochondrial DNA Part B* 5(1):11–12. doi: 10.1080/23802359.2019.1693308
- Boardman L, Eimanifar A et al. (2020b) The mitochondrial genome of *Apis mellifera simensis* (Hymenoptera: Apidae), an Ethiopian honey bee. *Mitochondrial DNA Part B* 5(1):9–10. doi: 10.1080/23802359.2019.1693307
- Brown P, Newstrom-Lloyd LE et al. (2018) Winter 2016 honey bee colony losses in New Zealand. *J Apic Res* 57(2):278–291. doi: 10.1080/00218839.2018.1430980
- Bueno D, Palacios-Gimenez OM et al. (2016) The 5S rDNA in two *Abracris* grasshoppers (Ommatolampidinae: Acrididae): molecular and chromosomal organization. *Mol Gen Genomics* 291(4):1607–1613. doi:10.1007/s00438-016-1204-1
- Bustos A, Figueroa RI et al. (2020) The 5S rRNA genes in *Alexandrium*: their use as a FISH chromosomal marker in studies of the diversity, cell cycle and sexuality of dinoflagellates. *Harmful Algae* 98. doi. org/10.1016/j.hal.2020.101903
- Cavalcante MG, Nagamachi CY et al. (2020) Evolutionary insights in Amazonian turtles (Testudines, Podocnemididae): co-location of 5S rDNA and U2 snRNA and wide distribution of Tc1/Mariner. *Biol Open* 9(4):bio049817. doi: 10.1242/bio.049817
- Cherevatov OV, Melnik EO, Volkov RA. (2020) Polymorphism of *COI* gene in honey bees from different regions of Ukraine. *Bull Vavilov Soc Genet Breed Ukr* 18(1–2):22–28
- Cherevatov OV, Statna AP, Volkov RA. (2012) Novel structural subclass of *Lycaena tityrus* 5S ribosomal DNA. *Bull Vavilov Soc Genet Breed Ukr* 10(2):202–207
- Cherevatov OV, Volkov RA. (2010) Molecular organization of 5S ribosomal DNA of *Polyommatus icarus*. *Bull Vavilov Soc Genet Breed Ukr* 8(2):271–278
- Cherevatov OV, Volkov RA. (2011a) Molecular organization of 5S rDNA of *Satyryus drias* (Lepidoptera). *Rep Natl Acad Sci Ukr* (1):140–145
- Cherevatov OV, Volkov RA. (2011b) Organization of 5S ribosomal DNA of *Melitaea trivialis*. *Cytol Genet* 45(2):115–120. doi: 10.3103/S0095452711020034
- Cherevatov OV, Panchuk II et al. (2019) Molecular diversity of the *CoI-CoII* spacer region in the mitochondrial genome and the origin of the Carpathian bee. *Cytol Genet* 53(4):276–281. doi: 10.3103/S0095452719040030
- Ding Q, Li R et al. (2021) Genomic architecture of 5S rDNA cluster and its variations within and between species. *bioRxiv*. doi: 10.1101/2021.02.17.431734
- Fedorciak MM, Tymochko LI et al. (2017) Winter losses of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Ukraine (monitoring results of 2015–2016). *Ukr J Ecol* 7(4):604–613. doi: 10.15421/2017\_167
- Ferher J, Skavikova R et al. (2021) Molecular evolution and organization of ribosomal DNA in the Hawkweed tribe Hieraciinae (Cichorieae, Asteraceae). *Front Plant Sci* 12:647375. doi: 10.3389/fpls.2021.647375
- Franco E, Araujo N et al. (2020) Evolutionary perspectives on bee mtDNA from mito-OMICS



- analyses of a solitary species. *Apidologie* 51:531–544. doi: 10.1007/s13592-020-00740-x
- Garnery L, Cornuet JM et al. (1992) Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mol Ecol* 1:145–154. doi: 10.1111/j.1365-294X.1992.tb00170.
- Garsia S, Kovarik A et al. (2017) Cytogenetic features of rRNA genes across land plants: analysis of the Plant rDNA database. *Plant J* 89:1020–1030. doi:10.1111/tpj.13442
- Gray A, Adjlane N et al. (2020) Honey bee colony winter loss rates for 35 countries participating in the COLOSS survey for winter 2018–2019, and the effects of a new queen on the risk of colony winter loss. *J Apic Res* 59(5):744–751. doi:10.1080/00218839.2020.1797272
- Gupta RK, Reybroeck W et al. (2014). *Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security: Vol. 1: Technological aspects of beekeeping*. Springer, Netherlands
- Henriques D, Chavez-Galarza J et al. (2019) From the popular tRNA<sup>Leu</sup>-COX2 intergenic region to the mitogenome: insights from diverse honey bee populations of Europe and North Africa. *Apidologie* 50:215–229. doi: 10.1007/s13592-019-00632-9
- Higgins DG, Bleasby AJ, Fuchs R. (1992) CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *Bioinformatics* 8.2:189–191. doi: 10.1093/bioinformatics/8.2.189
- Ishchenko OO, Panchuk II et al. (2018) Molecular organization of 5S ribosomal DNA of *Deschampsia antarctica*. *Cytol Genet* 52:416–421. doi: 10.3103/S0095452718060105
- Ishchenko OO, Bednarska OI, Panchuk II. (2021) Application of 5S ribosomal DNA for molecular taxonomy of subtribe Loliinae (Poaceae). *Cytol Genet* 55(1):10–18. doi: 10.3103/S0095452721010096
- Kek SP, Chin NL et al. (2017) Molecular identification of honey entomological origin based on bee mitochondrial 16S rRNA and COI gene sequences. *Food Control*. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.02.025
- Kotthoff U, Wappler T, Engel MS. (2013) Greater past disparity and diversity hints at ancient migrations of European honey bee lineages into Africa and Asia. *J Biogeogr* 40:1832–1838. doi: 10.1111/jbi.12151
- Kulhanek K, Steinhauer N et al. (2017) A national survey of managed honey bee 2015–2016 annual colony losses in the USA. *J Apic Res* 56(4):328–340. doi: 10.1080/00218839.2017.1344496
- Layat E, Saez-Vasquez J, Tourmente S. (2012) Regulation of Pol I-Transcribed 45S rDNA and Pol III-Transcribed 5S rDNA in Arabidopsis. *Plant Cell Phys* 53(2):267–276. doi:10.1093/pcp/pcr177
- Layat E, Probst AV, Tourmente S. (2013) Structure, function and regulation of transcription factor IIIA: from *Xenopus* to Arabidopsis. *Biochim Biophys Acta* 1829:274–282. doi: 10.1016/j.bbagr.2012.10.013
- Martins C, Galetti PM. (2001) Two 5S rDNA arrays in Neotropical fish species: is it a general rule for fishes? *Genetica* 111:439–446.
- Morton DG, Sprague KU. (1984) In vitro transcription of a silkworm 5S RNA gene requires an upstream signal. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:5519–5522.
- Nelson DW, Linning RM et al (1998) 5'-flanking sequences required for efficient transcription in vitro of 5S RNA genes, in the related nematodes *Caenorhabditis elegans* and *Caenorhabditis briggsae*. *Gene* 218:9–16.
- Neumann P, Norman LC et al. (2010) Honey bee colony losses. *J Api Res* 49(1):1–6. doi: 10.3896/IBRA.1.49.1.01
- Oliveira NL, Cabral-de-Mello DV et al. (2011) Chromosomal mapping of rDNAs and H3 histone sequences in the grasshopper *Rhammatocerus brasiliensis* (Acrididae, Gomphocerinae): extensive chromosomal dispersion and co-localization of 5S rDNA/H3 histone clusters in the A complement and B chromosome. *Mol Cytogen* 4:24. doi: 10.1186/1755-8166-4-24
- Oliveira SG, Cabral-de-Mello DC et al. (2012) Heterochromatin, sex chromosomes and rRNA gene clusters in *Coprophanaeus* beetles (Coleoptera, Scarabaeidae). *Cytogenet Genome Res* 138:46–55. doi: 10.1159/000339648
- Pieler T, Hamm J, Roeder RG. (1987) The 5S gene internal control region is composed of three distinct sequence elements, organized as two functional domains with variable spacing. *Cell* 48:91–100. doi: 10.1016/0092-8674(87)90359-X
- Pinhal D., Yoshimura TS et al. (2011) The 5S rDNA family evolves through concerted and birth-and-death evolution in fish genomes: an example from freshwater stingrays. *BMC Evol Biol* 11:151. doi: 10.1186/1471-2148-11-151
- Polishchuk VP, Gaidar VA. (2008) *Apiary*. Kiev: Perfect style, Ukraine.
- Qin QB, Liu QW et al. (2019) Molecular organization and chromosomal localization analysis of 5S rDNA clusters in autotetraploids derived from *Carassius auratus* Red Var. (♀) × *Megalobrama amblycephala* (♂). *Front Genet* 10:437. doi: 10.3389/fgene.2019.00437
- Ruttner F. (1988) *Biogeography and taxonomy of honeybees*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH. doi: 10.1007/978-3-642-72649-1
- Ruttner F. (1992) *Naturgeschichte der Honigbienen*. Munich: Ehrenwirth, Gemany
- Schiebelhut LM, Abboud SS et al. (2017) A comparison

- of DNA extraction methods for high-throughput DNA analyses. *Mol Ecol Res* 17(4):721–729.
- Sharp SJ, Garcia AD. (1988) Transcription of the *Drosophila melanogaster* 5S RNA gene requires an upstream promoter and four intragenic sequences elements. *Mol Cell Biol* 8(3):1266–1274
- Simon L, Rabanal FA et al. (2018) Genetic and epigenetic variation in 5S ribosomal RNA genes reveals genome dynamics in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res* 46(6):3019–303. doi: 10.1093/nar/gky163
- Slathia I, Tripathi NK. (2016) Genetic diversity of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Insecta) – A review. *J New Biol Rep* 5(3):148–164.
- Stanimirovic Z, Glavinic U et al. (2019) Looking for the causes of and solutions to the issue of honey bee colony losses. *Acta Vet-Beogr* 69(1):1–31. doi: 10.2478/acve-2019-0001
- Tihelka E, Cai C et al. (2020) Mitochondrial genomes illuminate the evolutionary history of the western honey bee (*Apis mellifera*). *Sci Rep* 10:14515. doi: 10.1038/s41598-020-71393-0
- Tynkevich YO, Volkov RA. (2019) 5S ribosomal DNA of distantly related *Quercus* species: molecular organization and taxonomic application. *Cytol Genet* 53(6):459–466. doi: 10.3103/S0095452719060100
- Tyler BM. (1987) Transcription of *Neurospora crassa* 5s rRNA genes requires a TATA box and three internal elements. *J Mol Biol* 196:801–811. doi: 10.1016/0022-2836(87)90406-2
- Vierna J, Wehner S et al. (2013) Systematic analysis and evolution of 5S ribosomal DNA in metazoans. *Heredity* 111:410–421. doi: 10.1038/hdy.2013.63
- Vizioso M, Vierna J et al. (2011) The 5S rDNA gene family in mollusks: characterization of transcriptional regulatory regions, prediction of secondary structures, and long-term evolution, with special attention to mytilidae mussels. *J Heredity* 102(4):433–447. doi: 10.1093/jhered/esr046
- Vozarova R, Herklotz V et al. (2021) Ancient origin of two 5S rDNA families dominating in the genus *Rosa* and their behavior in the Canina-type meiosis. *Front Plant Sci* 12:643548. doi: 10.3389/fpls.2021.643548
- Whitfield CW, Behura SK, Berlocher SH et al. (2006) Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science* 314(5799):642–645. doi: 10.1126/science.1132772

Надійшла в редакцію 29.05.21  
Після доопрацювання 10.06.21  
Прийнята до друку 18.09.21