

УДК 575.116:575.2

О.І.Метлицька, кандидат сільськогосподарських наук  
Інститут свинарства ім. О.В. Квасницького НААНУ  
Поліщук В.П., доктор сільськогосподарських наук, професор  
Головецький І.І., кандидат сільськогосподарських наук  
Скрипник В.В., науковий співробітник  
Національний університет біоресурсів і природокористування України

## **ДИНАМІКА МІКРОЕВОЛЮЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ У ПОПУЛЯЦІЇ БДЖІЛ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ПІД ВПЛИВОМ СЕЛЕКЦІЙНОГО ТИСКУ**

*Генетико-популяційний аналіз бджіл української степової породи Хмельницького типу в аспекті часу за ДНК- маркерами RAPD та ISSR дозволив встановити особливості динаміки змін її генетичної структури та морфологічної характеристики, що може свідчити про тривалість процесу генетичної консолідації тварин за комплексом бажаних селекційних ознак.*

**Ключові слова:** RAPD, ISSR, ампліфікація, локус, гетерозиготність, генетична схожість, генетична консолідація, ознаки екстер'єру, внутрішньопородний тип.

Бджола медоносна, як продуцент меду, біологічно активних речовин і запилювач ентомофільних культур посідає чільне місце в сільськогосподарських екосистемах. Проблема збереження та удосконалення генофонду місцевої бджоли *Apis mellifera acervorum* (українська степова порода) є актуальною в Україні і потребує пошуку нових сучасних методологічних засад щодо отримання інформації про стан фенетичного резерву провідних популяцій для успіху подальшої селекційної роботи з ними.

Оскільки бджола медоносна є, насамперед, біологічним об'єктом, тому для її ефективного відтворення необхідна популяційно-генетична інформація щодо оптимальних параметрів адаптивності наявних структурних одиниць породи. Популяції з оптимальним рівнем біорізноманіття є збалансованими системами за багатьма алелями, що забезпечує найкращу їх пристосованість та ефективне відтворення.

Більшість проведених до теперішнього часу генетичних досліджень соціальних комах ґрунтується на електрофоретичному розділенні алозимів [23, 25]. Проте високий рівень білкового консерватизму та низький рівень фактичної гетерозиготності безперечно призвели до необхідності пошуку інформативніших маркерних систем.

Генетичні маркери, що базуються на виявленні ДНК-поліморфізму, безперечно, є надійними інструментами дослідження мінливості біологічних об'єктів і дозволяють отримати інформацію щодо походження тварин, репродуктивного розсіювання, ступеня спорідненості, тощо.

Метод молекулярно-генетичного контролю ДНК-маркіруванням є перспективним для ідентифікації порід та результатів селекційних досягнень і, очевидно, найближчим часом перетвориться на передову технологію. Так звані системи полілокусного типування при дослідженні геному *Apis mellifera* найчастіше використовуються для генетико-популяційних досліджень. Насамперед, поліморфізм випадково ампліфікованої ДНК (RAPD) успішно був використаний при створенні генетичної карти бджоли медоносної, завдяки гаплоїдності трутнів [21], диференціації підвидів та оцінки ступеня експансії бджіл африканського походження в європейській популяції [4], особливостей спадкування ознак у гапло-диплоїдних комах [22]. Незважаючи на низький рівень відтворюваності результатів RAPD типування та переважно домінантний характер успадкування ДНК-ампліконів, цей метод зарекомендував себе як надійний спосіб оцінки генетико-популяційної ситуації окремих екотипів соціальних комах, критерій визначення ступеня впливу паратипових та селекційних чинників на структуру досліджуваних вибірок, а також інструмент генетичної паспортизації порід *Apis mellifera* [17].

Генетична система міжмікросателітного аналізу ISSR, запропонована Евою Зіткевич як метод фінгерпринтного аналізу будь-яких біологічних об'єктів [31], характеризується вищими характеристиками відтворюваності результатів ДНК-аналізу, порівняно з RAPD технологією, завдяки довжині

праймерів порядку 18-20 п.н. та високій температурі їх випалювання в полімеразній ланцюговій реакції. Проте, підбір ISSR-праймерів для отримання інформативних ДНК-спектрів є дещо проблематичним з приводу низької насиченості геномів джмелів [2] та бджіл [28] мікросателітними повторами, що потребує наявності колекції довільних праймерів у арсеналі дослідника, або використання генетичних карт *Apis mellifera* [20, 21].

Застосування ISSR технології при дослідженні геномів комах дозволило ідентифікувати певні ДНК-фрагменти, пов'язані із термостійкістю лялечок шовкопряда *Bombyx mori* [29], резистентністю до варроатозу бджіл [18], що може бути використано в селекційних програмах, спрямованих на закріплення бажаних ознак.

Збереження і раціональне використання наявного генофонду бджіл української степової породи є першочерговим завданням як практиків-бджолярів, так і науковців, тому отримання чіткої інформації щодо генетико-популяційних процесів, які відбуваються у бджолосім'ях внаслідок копіткої племінної роботи на внутріпородній основі впродовж певного часу має не лише суто дослідницький інтерес, але й з практичного боку дозволить скорегувати дії селекціонера для отримання цінного племінного матеріалу високого рівня адаптивності.

**Мета досліджень та методика їх проведення.** Робота присвячена дослідженню динаміки генетичної структури внутріпородного типу бджіл української степової породи «Хмельницький» племрозплідника «Прибузькі медобори» в аспекті часу в період його затвердження 2007-2010 р.р шляхом комплексного RAPD, ISSR ДНК- типування робочих бджіл провідних сімей.

Відбір робочих бджіл проводили у кількості 10-15 особин від кожної сім'ї і зберігали в 70% етанолі при мінус 20<sup>0</sup>С.

Пробопідготовка передбачала ретельне розтирання кожної бджоли у скляному гомогенізаторі із поступовим додаванням 200 мкл лізисного буфера; для виділення ДНК використовували 150 мкл отриманого гомогенату. Екстракцію ДНК проводили за використання стандартного

комерційного набору «Сорб – Б» фірми «Амплісенс» (НДІ епідеміології РАН, Москва, Росія) гуанідинізоціонатним методом за прописом виробника.

Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в термоциклері «Терцик» («ДНК-технології», Росія) за такою програмою:

Для ампліфікації в техніці ISSR:

1-й цикл (денатурація ДНК): 94°C, 4хв;  
2-й - 31-й цикл: 57°C- 2хв; 72°C – 4хв; 94°C – 1хв;  
32-й цикл: 57°C - 3хв; 72°C - 7хв.

Для ампліфікації в техніці RAPD:

1-й цикл (денатурація ДНК): 94°C, 3хв;  
2-й - 35-й цикл: 36°C- 30с; 72°C – 1хв; 94°C – 1хв;

Структура використаних праймерів:

S1: 5'- AGC AGC AGC AGC AGC AGC C- 3' (ISSR)

B15: 5'-GGA GGG TGT T-3' (RAPD)

OPA-1: 5'-AGC AGC GTG G-3' (RAPD)

OPA-4: 5'-AAT CGG GCT G-3' (RAPD).

Генотипування бджіл проводили пропорційним змішуванням зразків ДНК, виділених від п'яти особин однієї сім'ї, ДНК-суміш розводили бідистильованою водою у співвідношенні 1:10, розчин використовували для проведення ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції).

Для здійснення ампліфікації використовували стандартний набір фірми «Тапотілі» (НДІ Генетики РАН, Москва, Росія), реакційна суміш для проведення ПЛР з праймерами ISSR та RAPD містила:

2,5мкл реакційного буфера (16,6 ммоль/л  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 67,0 ммоль/л Тріс-НСl (рН 8,8); 0,01% Tween-20; 2,0 ммоль/л  $\text{MgCl}_2$  ; 2 ммоль/л кожного dNTP)

100 пМ праймера (0,7-1мкл);

2-4 одиниці активності Таg-полімерази – (0,1-0,2мкл);

1-2нг ДНК-зразка (1-2мкл);

вода деіонізована до загального об'єму суміші 25 мкл.

Продукти ампліфікації розділяли горизонтальним електрофорезом в 1ХТВЕ буфері за використання 1,5 %-вого агарозного геля [11], фарбувалиня розчином бромистого етидію, гель-документацію виконували шляхом фотографування електрофореграм, розміщених на транслюмінаторі при УФ опромінюванні з довжиною хвилі 340 нм за використання оранжевого світлофільтра. Розмір отриманих ампліконів контролювали за допомогою стандартного маркера молекулярної маси 1kb-Ledder plus («Fermentas», Литва). ISSR та RAPD-профілі відображали на папері з нанесеною міліметровою сіткою у масштабі 1:2, згідно з відстанню (мм) між смугами маркера молекулярної маси. Для визначення алельних частот на основі опрацьованих профілів вибірки створювали матрицю вихідних даних з присутності (1) або відсутності (0) смуги в певному положенні профілю за результатами трьох виконаних ампліфікацій для кожної проби ДНК. Матрицю вихідних даних вносили у відповідний файл стандартної комп'ютерної програми, призначеної для обробки даних полілокусного типування [26]. Вірогідність отриманих закономірностей оцінювали за рекомендаціями М.О. Плохинського [14].

**Результати досліджень.** Для генетико-популяційних досліджень української породи бджіл обрали три праймери для технології RAPD та один для ампліфікації ДНК в техніці міжмікросателітного аналізу ISSR. Структура праймерів наведена в методиці досліджень.

Сумарно при дослідженні вибірок бджіл хмельницького типу всі чотири обрані маркерні системи виявляли доволі високий рівень генетичного поліморфізму. Так, сумарна кількість ампліконів, що утворювалися в ПЛР з обраними праймерами, коливалася від 18 для RAPD затравки B15 до 33 з праймером ОРА-4 (табл.1). Молекулярна маса бендів на електрофореграмах коливалася в значних межах і була максимальною для праймера ОРА-4 (220-3000 п.н.). Синтез фрагментів високої молекулярної маси свідчить про оптимум обраної методики виділення і очищення нуклеїнової кислоти, що дозволяє отримання ДНК високої нативності. Єдиним недоліком цього

методу є нетривалий час збереження ДНК – не більше 1 міс. за температури мінус 20 °С. Всі залучені до аналізу генетичні системи характеризувались високою інформативністю: рівень очікуваної гетерозиготності, що виявлявся за кожним з праймерів у популяціях бджіл української породи, коливався в межах 0,396 (В15) – 0,702 (ОРА-4) при значеннях маркерного індексу 3,01-4,67. Найменшим показником маркерного індексу характеризувався праймер S1, проте кількість алелей, що виявлялася за його допомогою, була найвищою – 5,95 при значному рівні сумарної гетерозиготності (0,698). Таким чином, всі обрані системи були придатними для оцінки генетичної гетерогенності геному бджіл і проведення генетико-популяційних досліджень.

#### 1. Інформативність ДНК-маркерів для оцінки генетичного поліморфізму бджіл української степової породи

Праймер	Сумарна кількість смуг	Сумарна кількість локусів	Сумарна гетерозиготність	Діапазони мол.маси смуг	Кількість алелей на локус	Маркерний індекс
S1	21	3,36	0,698	270-1500	5,95	2,35
ОРА-4	33	6,67	0,702	220-3000	4,95	4,67
ОРА-1	30	7,18	0,562	230-2000	4.18	3,99
В-15	18	7,60	0,396	400-1400	2.37	3,01

Генетико-популяційні параметри бджіл хмельницького типу у 2007 р. на момент затвердження впродовж чотирьох років змінювалися доволі динамічно за мінімального рівня генетичної гетерогенності особин. При цьому зафіксований найнижчий рівень гетерозиготності особин - 5,9% за максимального значення показника генетичної гомогенності популяції – рівень внутрігрупової схожості бджіл у цей період становив 0,941 (табл.2). У наступному, 2008 р. спостерігали зменшення кількості ідентифікованих локусів при вірогідному зниженні загальної кількості ДНК-смуг за чотирма маркерними системами сумарно (34,267 проти 44,238,  $p < 0,001$ ). Досліджувана генерація українських бджіл у 2009 р. була перевезена із бджолорозплідника «Прибузькі медобори» в Миколаївську область.

Незважаючи на спрацьовування низки адаптаційних механізмів, які зазвичай впливають на генетичну структуру особин, перенесених в інші екологічні, кліматичні та фуражні умови, основні популяційно-генетичні параметри бджіл хмельницького типу майже не відрізнялись в часовому річному інтервалі: спостерігали незначне зниження рівня внутрігрупової схожості (0,616), порівняно з особинами генерації 2008 р. (0,630) при несуттєвому зниженні показника гетерозиготності (0,403 проти 0,416, різниця не вірогідна) (табл.2).

## 2. Основні генетико-популяційні параметри поколінь українських бджіл хмельницького типу в аспекті часу.

Популяція	Рівень внутрігрупової схожості	Рівень гетерозиготності	Сумарна кількість смуг	Кількість ідентифікованих локусів	Відсоток поліморфних локусів	Кількість алелей на локус
I. 2010 р.	0,750 <sup>b</sup>	0,195 <sup>b***, a**</sup>	42,200 ±2,311	35,324	0,292	1,897
II. 2009 р.	0,616 <sup>b***, a***</sup>	0,403 <sup>b</sup>	34,200*** ±1,781	24,369	0,631	3,160
III. 2008 р.	0,630 <sup>a***</sup>	0,416 <sup>a***</sup>	34,267 <sup>***</sup> ±1,548	24,195	0,628	2,645
IV. 2007 р.	0,941 <sup>a</sup>	0,059 <sup>a</sup>	44,238 <sup>a</sup> ±0,468	41,782	0,115	1,245

Значну зацікавленість викликає генетична характеристика генерацій українських бджіл у 2010 р., оскільки спостерігали зниження генетичної гетерогенності сімей, що наближається до показників, отриманих при дослідженні індивідів у 2008. В межах річного інтервалу відбулося зниження гетерозиготності до 19,5% проти 40,3% в 2009р. ( $p < 0,001$ ), що є відбитком зменшення загального рівня генетичного поліморфізму популяції (29,2% поліморфних локусів) і збільшення її генетичної консолідованості, показником якої може виступати значення рівня внутрігрупової схожості вибірки (0,750 проти 0,616 в минулому році,  $p < 0,001$ ).

Таким чином, дослідження бджіл хмельницького типу впродовж суміжних чотирьох років показало хвилястий характер зміни генетичної гетерогенності вибірки провідних сімей. Безперечно, будь-яке

формоутворення (виникнення нових підвидів під впливом суто природних факторів чи створення нових порід тварин сільськогосподарського призначення під жорстким селективним антропогенним тиском) супроводжується проходженням низки генетико-автоматичних процесів всередині популяції.

Питання динаміки генетичної структури культурних комах, їх механізми дотепер залишаються маловивченими. Лише роботами Ю.П.Алтухова із співавторами, при дослідженнях техногенного впливу на генерації популяційних систем дрозофіли встановлена наявність адаптивного резерву, що зумовлює підтримку популяції в гомеостатичному стані [1].

Загальнобіологічні властивості систем різного рівня передбачають дотримання принципу гомеостазу, тобто прямування до врівноваженого стану генетичної структури популяції, що зумовлено властивістю організму як цілісної системи до підтримки стабільності фізико-хімічних умов середовища при впливі екзогенних факторів [12, 13]. На нашу думку, оптимальним рівнем генетичної гетерогенності популяція бджіл хмельницького типу характеризувалася в 2008-2009 рр., коли значення гетерозиготності за полілокусними ДНК-системами становили 0,403-0,416.

На момент затвердження нового типу всередині української породи бджіл, досліджені особини характеризувались низьким рівнем генетичного поліморфізму, проте в наступні роки відбувалося динамічне підвищення загальної гетерозиготності популяції. Гапло-диплоїдні бджоли, очевидно, мають захисний механізм від негативного впливу інбридингу (при обмеженій кількості неспоріднених трутнів), який призводить до природної загибелі гомозиготних особин чоловічої або знищення робочими бджолами носіїв небажаних алелей вже на стадії личинки (наприклад, при гомозиготності робочих бджіл за геном статі SDL-локусу), до того ж *Apis mellifera* характеризується підвищеним рівнем геномних рекомбінацій (19 сМ/Мб), що перевищує цей показник у ссавців майже в чотири рази [19, 21] і може бути одним з можливих механізмів забезпечення адаптивного резерву популяцій

комах обмеженої чисельності, навіть за умов штучного добору за певними господарськокорисними ознаками.

Дослідники доводять, що адаптивний резерв популяції зумовлений ступенем її гетерозиготності, оскільки доведений зв'язок між цим параметром та життєздатністю особин [7]. Так, відмічено вірогідне перевищення генетичної гетерогенності за локусами алозимів вибірки дерев сосни, що знаходилися в жорстокіших екологічних умовах [1]. Дерев з підвищеним рівнем гетерозиготності мали і вищий рівень продукції насіння, проте якість їх була суттєво нижчою, порівняно з особинами середнього рівня гетерозиготності, через утворення порожнього та загиблого насіння, не придатного до використання [6]. Проводячи паралелі між генетичними процесами, що відбуваються у популяціях рослин і бджіл можна припустити, що комахи з підвищеним рівнем генетичної гетерогенності матимуть підвищену життєздатність та продуктивність. Це частково пояснює використання бджолярами гібридних сімей при зниженні їх репродуктивної здатності в наступних генераціях [17].

Таким чином, підвищення гетерозиготності понад певний оптимальний рівень є процесом небажаним для популяції в цілому, але на рівні окремих особин забезпечує кращу пристосованість до змінних умов навколишнього середовища.

Провідні вчені в галузі генетики популяцій наголошують на існуванні природного механізму підтримки рівня генного різноманіття, що ґрунтується на селективному паруванні, обмеженні генетичної рекомбінації та добором, що варіює на різних етапах онтогенезу в особин різної статі [8, 17, 27].

Очевидно, що досліджувана напівізольована популяція бджіл української породи хмельницького типу не може вважатися панміктичною, оскільки під час заміни маток проводиться міжсімейний обмін генетичним матеріалом при існуванні випадкового дрейфу генів і дії штучного та природного добору, тому в динаміці часу можна спостерігати хвильоподібні процеси зміни рівня гетерозиготності.

Порушення врівноваженого стану популяції на момент затвердження типу може бути наслідком як низької ефективної чисельності популяції, так і інтенсивним добором окремих сімей за ознаками медопродуктивності, зимостійкості, резистентності до захворювань та етологічних характеристик.

Найбільшу зацікавленість являє феномен зниження загального рівня гетерозиготності популяції українських бджіл у 2010 р. (майже в 2 рази, порівняно з генерацією робочих бджіл 2009 р.) що, з нашої точки зору, може бути наслідком сумарного ефекту впливу штучного та природного добору – підвищеної життєздатності робочих бджіл, максимально пристосованих до медозбору та вирощування розплоду в умовах аномально високої кліматичної температури в літній період цього року. Згідно з математичною моделлю Ю.Ф. Картавцева [8] лише в одному випадку має місце негативна кореляція між ступенем прояву кількісної ознаки (КО) та гетерозиготністю – якщо полігенна селекціонована ознака має адитивний характер спадкування. Сила зв'язку між маркерними генами та значенням кількісної ознаки може бути незначною (як, наприклад для біохімічних маркерів [10]), що суттєво знижує сумарне значення залежності між гетерозиготністю та ступенем прояву кількісної ознаки. В нашому випадку, за використання анонімних полілокусних маркерів, для яких не встановлений ступінь зв'язку з бажаними фенотиповими ознаками бджіл, їх переважна «нейтральність» може зумовлювати різноспрямовані кореляції між гетерогенністю генетичних локусів і КО, що визначається різними комбінаціями генетичних ефектів залежно від фаз життєвого циклу тварин і від покоління до покоління. Тобто, негативний зв'язок між ступенем селективного тиску та гетерозиготністю для досліджуваної популяції бджіл хмельницького типу може бути пояснений як адитивністю полігенів кількісних ознак, так і переважною «нейтральністю» локусів ДНК-маркерів, обраних для аналізу.

Грунтовним питанням селекціонера, який створює нову породу чи внутріпородну групу, є встановлення критеріїв їх генетичної консолідованості, тобто терміну закінчення породотворних та генетико-

автоматичних процесів і ступеня племінної цінності як потенціалу передачі бажаного комплексу ознак в наступних генераціях.

Для визначення ступеня генетичної консолідованості внутріпородних структур авторами запропоновано декілька математичних алгоритмів, одним з яких є оцінка стабільності частотного розподілу алелей впродовж певного проміжку часу (визначається терміном повної зміни поколінь і залежить від виду об'єкта сільськогосподарського призначення, певною мірою це стосується ссавців) [4], другим передбачається розрахунок індексу генетичної схожості між суміжними генераціями тварин, значення якого має наближатись до максимального значення індексу (1) у випадку встановлення врівноваженого генетичного стану популяції (генетичної консолідованості) [24].

Розрахунок індексів генетичної схожості в програмі Gelstat на основі частот смуг, отриманих внаслідок аналізу бджолосімей методами RAPD, ISSR аналізу показав незначний рівень розбіжностей цього показника в чотирирічному інтервалі досліджень (від 0,404 – між генераціями бджіл 2010 та 2008 років, до максимального значення 0,515 – між бджолами 2007 та 2010 року (табл.3). Тобто, найбільш схожими виявилися популяції трирічного часового інтервалу досліджень, що поряд з невірогідним коливанням індексу протягом декількох років може вважатися свідченням генетичної консолідованості популяції бджіл хмельницького типу. Слід зазначити, що у добре відселекціонованих інбредних лініях свійських тварин (свиней, овець, великої рогатої худоби) індекси схожості суміжних генерацій сягають 0,95-0,99 [26], проте виведені критерії не можуть бути екстрапольовані на вид *Apis mellifera* внаслідок значної генетичної гетерогенності кожної бджолосім'ї, зумовленої особливостями репродукції

3. Індeksi схожості (генетичні дистанції між генераціями бджіл хмельницького типу української породи), розраховані на основі типування за RAPD, ISSR системами ДНК-маркерів.

D/I	I.	II.	III.	IV.
I.	—	0,432	0,404	0,515
II.	0,568	—	0,472	0,434
III.	0,596	0,528	—	0,473
IV.	0,485	0,566	0,527	—

Примітка: Індeksi схожості – верхня діагональ, генетичні дистанції – нижня діагональ, I-2010р., II – 2009р., III-2008р., IV – 2007р. (роки проведення дослідження).

маток (заплідненням декількома неспорідненими трутнями – поліандрогенією), високим рівнем генетичних рекомбінацій, як зазначено вище, і інтенсивною зміною робочих бджіл, життєвий цикл яких дорівнює в середньому від 1 до 6 міс. Якщо припустити, що зміною поколінь у бджільництві вважається заміна маток, яка відбувається при їх інтенсивному використанні через 2-3 роки, то ми виходимо на показник 0,515. Тобто, досліджувані сім'ї споріднені на 50%, що зумовлено генотипом матки, за яким і ведеться лінійна селекція в бджільництві з невірогідним відхиленням значень цього показника при дослідженні популяції в інші роки існування.

Міра міжсімейної мінливості та стабілізації ознак робочих бджіл пов'язана з участю у відтворному процесі чоловічих особин сім'ї як біологічної одиниці з властивою їй особливістю – поліморфізмом. Спільний фон трутнів, який створюється на території спаровування маток за набутої поліандрії, діє на майбутніх нащадків через партеногенез генетичною силою материнської переваги. Тому справжня соціальність, досягнута медоносною бджолою, як вища форма організації живого, накладає на відтворний процес природний добір і селекційну роботу певні відмінності, які потребують різнобічних досліджень.

Одним із завдань в нашій роботі було з'ясування стабілізації ознак екстер'єру бджіл – нащадків бджолиних маток, від яких засновано генеалогічні

групи створеного внутрішньопородного типу «Хмельницький». В процесі його селекції спочатку дослідили бджіл із сімей, матки яких належать до I-III поколінь. Протягом періоду подальшого розвитку генеалогічних груп дослідженнями екстер'єрних ознак було охоплено бджолині сім'ї з матками наступних поколінь (F<sub>4</sub>-F<sub>8</sub>) дев'яти генеалогічних груп. Результати вивчення за роками характеру змін промірів бджіл за чотирма породовизначальними ознаками порівнювали з середніми даними в поколіннях F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub> та їх родоначальницями. Порівнянно з ними проаналізували також середні дані за весь період розвитку селекційного продукту (табл. 4).

Довжина хоботка бджіл є достатньо контрастною ознакою при порівнянні української породи з сірою гірською кавказькою (6,70-7,20 мм) та поліською популяцією середньоросійської породи (5,80-6,30). Як видно з отриманих у дослідках даних, довжина хоботка у бджіл останніх п'яти років виявилась більш консолідованою (6,42-6,47 мм) порівняно з матками в поколіннях F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub> (6,35-6,51 мм) і бджіл безпосередньо маток-родоначальниць (6,35-6,61 мм). При цьому важливою особливістю є вирівняніший характер показника в сучасних бджіл, ніж він був у минулі роки, коли засновувались генеалогічні групи.

Важливо відмітити й те, що середні показники довжини хоботка бджіл за роками відповідають нормам української породи – 6,4-6,6 мм. Лише в окремі роки у бджіл генеалогічних груп № 100, 180, 119 та 111 спостережали зниження середнього показника менше 6,4 мм. Так, наприклад, у сучасних нащадків F<sub>4</sub>-F<sub>8</sub> від сімей, в яких бджоли родоначальниці мали порівняно довгий хоботок (6,61; 6,58; 6,57 мм), відбулось укорочення його відповідно на 0,15, 0,23 і 0,06 мм. Якщо ж у сім'ях родоначальниць бджоли були з коротшим хоботком (6,35-6,37 мм), то в поколіннях F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub> він подовжувався до 6,44-6,46 мм і у бджіл наступних років не змінювався (6,43-6,47 мм). Збільшення до сучасної довжини порівняно з вихідним матеріалом з цих трьох генеалогічних групах становить 0,06-0,12 мм.

4. Довжина хоботка робочих бджіл внутрішньопородного типу «Хмельницький» в поколіннях генеалогічних груп

Генеалогічна група	Родоначалниця	Покоління маток						Коливання в часі, F <sub>1</sub> -F <sub>8</sub>
		F <sub>1</sub> -F <sub>3</sub>		F <sub>4</sub> -F <sub>8</sub>		F <sub>1</sub> -F <sub>8</sub>		
		середнє	зміни (+, -)	середнє	зміни (+, -)	середнє	зміни (+, -)	
90	6,61	6,46	-0,15	6,45	-0,16	6,45	-0,16	6,40-6,52
163	6,35	6,44	+0,09	6,47	+0,12	6,46	+0,11	6,39-6,52
38	6,37	6,46	+0,09	6,43	+0,06	6,44	+0,07	6,40-6,63
86	6,35	6,45	+0,10	6,45	+0,10	6,45	+0,10	6,32-6,56
55	6,52	6,50	-0,02	6,46	-0,06	6,48	-0,02	6,32-6,51
119	6,55	6,44	-0,11	6,44	-0,11	6,44	-0,09	6,34-6,53
100	6,45	6,46	+0,01	6,43	-0,02	6,44	-0,01	6,36-6,50
111	6,58	6,35	-0,23	6,42	-0,14	6,40	-0,18	6,26-6,55
180	6,57	6,51	-0,06	6,46	-0,11	6,48	-0,11	6,37-6,55
Середнє	6,48	6,45	-	6,45	-	6,45	-	-
Межі коливань	6,35-6,61	6,35-6,51	-	6,42-6,47	-	6,40-6,48	-	6,32-6,33

Якщо порівнювати зміни середніх показників довжини хоботка бджіл маток-продовжувачок I-III поколінь і IV-VIII поколінь, то можна спостерігати однакову тенденцію у сім'ях маток-нащадків відносно родоначалниць груп. Так, у генеалогічній групі № 90 в перших трьох довжина хоботка скоротилась на 0,15 мм і в наступних п'яти поколіннях він був майже таким самим на 0,16 мм меншим порівняно з показниками родоначалниці. Подібні зміни відбулися і в інших групах, бджоли яких відзначались від родоначалниць більшим хоботком (6,57 і 6,58 мм). Лише в генеалогічній групі № 100 робочі бджоли маток I-III поколінь мали на 0,01 мм довший хоботок, а бджоли IV-VIII покоління маток – менший на 0,02 мм порівняно з родоначалницею.

Як видно з проаналізованих даних, хоботок відзначається консервативністю щодо змін його довжини, яка властива українській породі в межах типової величини 6,4 до 6,6 мм. Звичайно в селекції бджіл доцільно

віддавати перевагу тим сім'ям, які поряд з іншими бажаними рисами, характеризуються тенденцією до збільшення довжини, хоботка, що відповідає природному процесу еволюційного пристосування бджіл збирати якомога більше корму з квіток рослин.

На прикладі аналізу даних довжини хоботка бджіл – найстійкішої екстер'єрної їх ознаки щодо породної належності, що досліджували упродовж восьми поколінь від родоначальниць дев'яти генеалогічних груп, простежується суттєва консолідація морфологічної характеристики робочих бджіл сімей внутрішньопородного типу в напівзакритій популяції. Привертає увагу факт збільшення в динаміці часу величини промірів до середньостатистичного значення у всіх генеалогічних групах. Помітні відхилення в один та інший бік (у межах параметрів породи) за промірами у бджіл сімей, що були обрані засновницями, знівелювались на самому початку структурування типу на генеалогічні групи. Достатньо було пройти в розвитку селекційного процесу три покоління, щоб у подальший період відмінності у бджіл залишились менш значними. Подібні тенденції виявлено також за даними мікрометричних промірів інших частин екзоскелета досліджуваних бджіл у восьми поколіннях маток генеалогічних груп.

Узагальнений показник довжини хоботка бджіл внутрішньопородного типу «Хмельницький» в цілому для дев'яти зареєстрованих генеалогічних груп за час його створення шляхом селекції становить на 6,45 мм. Варто порівняти цю величину з первинними даними, опублікованими дослідниками в різні часи майже 100-річного періоду. Вперше такі дані щодо довжини хоботка сімей різних порід оприлюднені в роботі Б. Хохлова [16]. У бджіл української породи вона дорівнювала в середньому 6,43 мм, за даними К.П. Кульжинської – 6,54 мм [9], О.П. Волосевич [3] – 6,60; 6,53 і 6,62 мм. Біоморфологічним стандартом, за даними І.К. Давиденка [5], визначено межі коливань у типових бджіл цієї породи 6,40-6,60 мм, створеного хмельницького типу – 6,34-6,63 мм [15].

Дослідження розвитку генеалогічних груп бджолиних сімей у структурі внутрішньопородного типу після його створення, змін і стабілізації ознак чистопородності бджіл за показниками їх екстер'єру впродовж 10-річного періоду є оригінальним науковим матеріалом щодо впливу на відселекціонований продукт у бджільництві. Адже об'єктом селекції у виду *Apis mellifera* L. є бджолина сім'я як біологічна одиниця, у складі якої двом особинам відведена функція відтворення нащадків, а третій (робочим бджолам) – роль створення умов життєзабезпечення. При цьому оцінка чистопородності останніх за ознаками екстер'єру є важливою складовою і має значення в сукупній характеристиці з показниками генетичного аналізу, морфології, фізіології та етології.

**Висновки.** Зроблена перша спроба оцінки складних генетико-автоматичних процесів, що відбуваються в штучних популяціях бджоли медоносною під селективним тиском різної природи, результати якої такі.

Протягом останніх чотирьох років спостерігається динамічна зміна генетичної структури популяції бджіл хмельницького типу, що є наслідком подальшого процесу породотворення за наявності внутрішнього адаптивного резерву, який повертає популяцію до врівноваженого стану генетичної гетерогенності – оптимальної для існування внутрішньопородного типу в цілому.

Індекс генетичної схожості між суміжними генераціями тварин (при заміні матки в сім'ї і отримання від неї нащадків) може слугувати критерієм генетичної консолідованості популяцій бджіл за використання маркерів полілокусного типування. Статистичний підхід, що ґрунтується на визначенні рівня стабільності розподілу алельних частот може бути не зовсім коректним, з огляду на існуючі генетичні особливості виду *Apis mellifera* і певні характеристики обраних молекулярно-генетичних маркерів, локуси яких мають високі рівні рекомбінації.

Математично виведені критерії показників генетичної консолідованості внутріпородних структур у тваринництві, де об'єктами досліджень є

представники типу ссавців, не можуть бути екстрапольовані на соціальних комах. Згідно з результатами наших експериментальних даних, значення максимального індексу генетичної схожості між суміжними генераціями при оцінці бджіл маркерами полілокусного типування має становити не менше 0,5., проте встановлення точнішого значення потребує подальших поглиблених досліджень на статистично значущих вибірках тварин в динаміці часу.

Підсумовуючи даний суперечливий матеріал, який певною мірою має дискусійний характер, можна підкреслити, що інтенсивна селекційна робота із бджолою медоносною не тільки можлива, але й може бути значно інтенсифікована із застосуванням сучасних ДНК-технологій. Проте необхідно пам'ятати, що існує певна межа адаптивності для цього виду, тому зниження генетичного різноманіття може призвести до небажаних результатів, одними з яких може бути зменшення бажаного рівня продуктивних ознак, резистентності до захворювань, зимостійкості, тощо. Селективне удосконалення порід бджіл також має певний припустимий ліміт, що визначається механізмами природної авторегуляції і призводить до повернення популяції до гомеостатичного стану.

### Список літератури

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях.- М.: ИКЦ «Академкнига», 2003.-431с.
2. Березовская О.П. Внутри- и межвидовые различия в ISSR-PCR характеристике шмелей (HYMENOPTERA: BOMBINAE) /О.П.Березовская, О.Ю. Мороз, А.П.Сидоренко //Цитология и генетика.- 2002.- 36, № 3.- С.28-35.
3. Волосевич О.П. Про продуктивність укрупнених бджіл. // Досягнення науки і передового досвіду в бджільництві. Наукові праці. – К.: Українська академія сільськогосподарських наук., 1961. – Том 3. – С. 21-26.

4. Глазко В.И. Изменение генетических расстояний в процессе породообразования // Журнал общей биологии.- 1987.-Т.68, N 3.- С.389-397.
5. Давиденко И.К. Экспресс-метод контроля чистопородности медоносных пчел //Методические указания по контролю чистопородности медоносных пчел, определению пыльцевой продуктивности и содержания воска в прополисе. - М.: ВАСХНИЛ, 1985. – С. 3-6.
6. Духарев В.А. Адаптивность биохимического полиморфизма популяций сосны обыкновенной /В.А.Духарев, Л.А.Животовский // Тезисы Всесоюз. совещ. по вопросам адаптивности древесных растений к экстремальным условиям среды. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1981. С. 31–33.
7. Злотин А.З., Головкин В.О. Экология популяций и культур насекомых.- Харьков: РИП «Оригинал», 1998.-232с.
8. Картавцев Ю.Ф. Связь между гетерозиготностью и количественным признаком: внутрилукусные взаимодействия и мультилокусное усреднение// Генетика.-2005.- Т.41.-№1.-С. 100-111.
9. Кулжинская К.П. Роль кормового фактора в формировании пчелиных особей и их признаков. //Сборник научных трудов. – К.: 1957. - Выпуск 1. – С.49-52.
10. Левонтин Р. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978.-351с.
11. Маниатис Т. Молекулярное клонирование /Т.Маниатис., Э.Фрич., Д.Сэмбрук //пер. с англ. под ред. А.А.Баева.- Москва: Мир, 1984.- 479 с.
12. Маркина Т.Ю. Гомеостаз искусственных популяций насекомых: механизмы поддержания и возможности контроля / Т.Ю.Маркина, А.З. Злотин //Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія біологія, 2009.-Вип.3.- №18.- С.20-27.
13. Нефедов В.П. Гомеостаз на различных уровнях организации биосистем / В.П.Нефедов, А.А.Ясайтис, В.Н.Новосельцев //Новосибирск: Наука, 1999.- 232с.
14. Плохинский И.А. Руководство по биометрии для зоотехников – М.: Колос, 1969. – 256с.

15. Поліщук В.П. Пасіка. Навчально-публіцистичне видання К.: Перфект Стайл. – 2008. – С.58-60.
16. Хохловъ Б.П. Исследование длины хоботка у рабочей пчелы. // Пчелопольное хозяйство. – М., 1916. – Вып. 2. – С. 16-40.
17. Чудинов О.С. Молекулярно-генетические методы дифференциации пород пчелы медоносной *Apis mellifera* L.// дис. канд. с.-х наук 06.02.01.-Рыбное.-2002.-139с.
18. Al-Otaibi S.A. Genetic variability in mite-resistant honey bee using ISSR molecular markers// Arab J. Biotech.-2008.- Vol. 11.- №2. – P. 241-252.
19. Beye M. Exceptionally high levels of recombination across the honey bee genome /M.Beye, I.Gattermeier, M.Hasselmann, T.Gempe, Schioett F., J.F.Baines, D.Schlipalius, F.Mougel, E.Christine, O.Rueppell, A. Sirviö, E.Guzmán-Novoa, G.Hunt, M.Solignac, R.E.Page // Genome Research. – 2006.-V.16. – P.1339-1344.
20. Human Genome Sequencing Center at Baylor College of Medicine. Honey Bee Genome Project. 2006. <http://www.hgsc.bcm.tmc.edu/projects/honeybee>.
21. Hunt G.J. Linkage map of the Honey Bee, *Apis mellifera*, based on RAPD markers / G.J.Hunt, R.E. Page // Genetics.-1995. – V.139. – P.1371-1382.
22. Hunt G.J. Patterns of inheritance with RAPD molecular markers reveal novel types of polymorphism in the honey bee / G.J.Hunt, R.E.Jr.Page // TAG. – 1992. – V. 85, # 1. – P. 15-20.
23. Mestriner M.A. The P-3 and EST loci in the honeybee *Apis mellifera*/ M.A. Mestriner, E.P. Contel // Genetics.-1972.-V.72. – P.733-738.
24. Nei M. Molecular population genetics and evolution.-Amsterdam : North-Holland. Publ. Comp.- 1975.- 360 p.
25. Pamilo P. Molecular population genetics of social insects / P.Pamilo, P.Gertsch, P.Thor'en, P.Seppä // Annu. Rev. Ecol. Syst. - 1997. – V.28. – P.1-25.
26. Rogstad S. GELSTATS: a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data/ S.Rogstad, S. Pelican //Bio Techniques.- 1996. -V.21 - №6.- P. 187-196.

27. Ruzafa A.P. Effects of fishing protection on the genetic structure of fish populations / A.P. Ruzafa, M.G.Wangu // Elsevier.-2006.-V129.-P.244-255.
28. Solignac M. A microsatellite-based linkage map of the honeybee, *Apis mellifera* L. //Genetics.- 2004.-V.167. – P.253-262.
29. Srivastava P.P. Identification and association of ISSR markers for thermal stress in polyvoltine silkworm *Bombyx mori* /P.P.Srivastava, P.K.Kar, A.K. Awasthi, U. S. Rajе //Генетика.- 2007.-Т.43.-№8. – С.1038-1045.
30. Suazo A.Differences Between African and European Honey Bees (*Apis mellifera* L.) in Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) / A.Suazo, R.McTiernan, H.G.Hall //Journal of Heredity.- 1998. – V. – 89. – P.32–36.
31. Zietkiewicz E. Genome finger-printing by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification / E.Zietkiewicz, A.Rafalski, D.Labuda // Genomics.-V.20.-1994. – P.176-183.

Динамика микроэволюционных процессов в популяции пчел украинской породы под влиянием селекционного давления. Метлицкая Е.И., Полищук В.П., Головецкий И.И., Скрипник В.В.

*Генетико-популяционный анализ пчел украинской степной породы хмельницкого типа во временном аспекте с использованием ДНК-маркеров RAPD и ISSR позволил установить существенную динамику изменений их генетической структуры, что может свидетельствовать о продолжении процесса генетической консолидации животных по комплексу желательных селекционируемых признаков.*