بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده کشاورزی

گروه گیاه‌پزشکی

پایان‌نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد (M. Sc.)

در رشته حشره‌شناسی کشاورزی

بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های زنبور عسل (*Apis mellifera meda*) شمال‌غرب ایران با استفاده از خصوصیات مرفولوژیک و ریزماهواره‌ها

تحقیق و نگارش

مصطفی ملایی

اساتید راهنما

دکتر لطفعلی دولتی

دکتر غلامحسین طهماسبی

بهمن ماه ۱۳۹۱

تشکر و قدردانی:

الحمدلله الاول بلا اول کان قبله والآخر بلا آخر یکون بعده،

اگر این ناچیز بگویم، خدا را شکر، ادعایی بجاست چون هیچ انسانی غیر از معصومین به این بیان نرسیده است. به یکی از پیامبران وحی شد که ای پیغمبر، شکر کن. عرض کرد الهی چگونه میتوانم؟ چون ابزار و حال شکر گفتن، خود شکری دیگر می طلبد. خطاب رسید اگر اینگونه نمی گفتی از مقام نبوت خلع می شدی. لذا اعتراف می کنم که خدایا بنده عاجزم از اینکه حق شکرگزاریت را ادا کنم و لیکن باز با این همه عرض می کنم که خدا را شکر که مرا توفیق علم آموزی عطا فرمود. همچنین بر خود واجب می دانم به پیروی از حدیث نبوی "لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق" از اساتید راهنمای محترم و ارجمندم جناب آقای دکتر دولتی و جناب آقای دکتر طهماسبی که در کلیه مراحل انجام پایان نامه با صعه صدر و کرامت نفسانی خود، مرا راهنمایی و ارشاد نمودند، قدردانی نموده و برایشان دعای خیر مسئلت دارم. از برادران و دوستان بسیار خوبم آقایان سعید حسین پور و سعید حسین خانی که در جمع آوری نمونه ها همکاری داشتند، سپاسگزارم. از مسئولین محترم آزمایشگاههای حشره شناسی و باکتری شناسی آقای مهندس کریمی و خانم مهندس سعادتی و خانم مهندس سرافراز نیکو که حضور مرا در آزمایشگاه تحمل نمودند، صمیمانه تشکر می کنم. از کلیه اساتید گرامی و همه بزرگوارانی که برایم زحمت کشیده اند، علی الخصوص جناب آقای دکتر موحدی فاضل، دکتر رحمانی، دکتر صراف معیری، ، دکتر کاوسی، دکتر معرفت و خانم دکتر همتی و همچنین از اساتید محترم گروه علوم دامی خانم دکتر سپهری و جناب آقای دکتر هرکی نژاد از صمیم قلب سپاسگزارم. در پایان از همکاری دانشجویان آزمایشگاه مهندسی ژنتیک، آقای مهندس فاطمی و خانم مهندس محمدی و تمامی عزیزانی که در این راه گام گردند نیز نهایت تشکر را دارم.

تقدیم به

پیشگاه مقدس حضرت زهرا (س) و حضرت بقیه ا... الاعظم (عج)

و تقدیم به

پدر و مادرم

و تقدیم به

کلیه ۶۵ هزار زنبوردار با پروانه رسمی زحمت کش ایران که با مشقات فراوان در جاده ها و کوهستانها، مزارع و باغات مشغول تولید هستند

وتقدیم به

دوستان کوچک شگفت آور زنبوران عسل که حقیقتاً خدمات منحصر به فردشان برای انسان، محصولات کشاورزی و محیط زیست قابل تقدیر است.

چکیده

زنبور عسل ایرانی (*Apis mellifera meda*) یکی از ۲٤ نژاد زنبور عسل موجود در دنیاست که علاوه بر ایران، در شمال عراق و جنوب‌شرقی ترکیه و حتی در شمال سوریه وجود دارد. این نژاد از نظر خصوصیات مرفولوژیک ظاهراً شبیه نژاد ایتالیایی است و از نظر خصوصیات بیولوژیک نیز نژادی است با تمایل به بچه دهی‌زیاد، قدرت جمع‌آوری بره‌موم زیاد، قدرت زمستان‌گذرانی خیلی خوب و رفتار تهاجمی بالا که مجموعاً این نژاد را از سایر زیر گونه‌های منطقه متمایز می‌سازد. در راستای اهمیت حفظ تنوع در نژادها و شناسایی ذخایر ژنتیکی و با توجه به اینکه اولین گام برای نیل به اصلاح نژاد هدفمند، مشخص نمودن میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌هاست، در این تحقیق تلاش شد تنوع ژنتیکی جمعیت زنبور عسل شمال‌غرب ایران مورد ارزیابی قرار گیرد. پس از تعیین میزان تنوع موجود، می‌توان برای اصلاح نژاد جمعیت‌ها برنامه‌ریزی و در طی برنامه‌های بلندمدت و هدفدار، صفات اقتصادی موردنظر را در آن جمعیت متمرکز و صفات نامطلوب را حذف نمود. چندشکلی آنزیمی در زنبور عسل به دلیل سیستم هاپلودیپلوئیدی چندان زیاد نیست، در نتیجه نمی‌توان از آن برای مطالعهٔ تنوع ژنتیکی در زنبور عسل استفاده کرد. استفاده از آلل‌های جهش یافته نیز به دلیل پایین‌بودن احتمال حفظ این آلل‌ها و همچنین غیرقابل کنترل بودن آمیزش در زنبور عسل (بجز در موارد تلقیح مصنوعی)، کاربرد زیادی ندارد. در این تحقیق برای بررسی تنوع ژنتیکی حقیقی، همزمان از نشانگرهای مولکولی و مرفولوژیک استفاده گردید. نمونه‌برداری در تیرماه و مردادماه سال ۱۳۹۰ انجام شد. از ٤ استان شامل زنجان، کردستان، آذربایجان‌غربی، آذربایجان‌شرقی و از هر استان ٤ شهرستان و از هر شهرستان ٤ زنبورستان و از هر زنبورستان ۵ کلنی و از هر کلنی ۱۰ زنبور کارگر جوان از نظر مرفولوژیک و یک نمونه از نظر مولکولی (در مجموع ۳۲۰۰ زنبور کارگر جوان از نظر مرفولوژیک و ۳۲۰ زنبور از لحاظ مولکولی) مورد

بررسی قرار گرفت. چهار جایگاه ریزماهواره‌ای مهم زنبور عسل شامل A24, A28, A29 و A113 و نه صفت ظاهری شامل طول بال جلو، عرض بال جلو، شاخص کوبیتال، طول خرطوم، طول پای عقب، طول ترژیت سوم و چهارم (قد زنبور)، شاخص استرنیت ششم (ضریب لاغری)، رنگ ترژیت سوم و رنگ سپرچه در زنبورهای کارگر اندازه‌گیری شد. جهت مطالعات مولکولی پس از استخراج DNA به روش CTAB و بهینه‌سازی شرایط و انجام PCR، تمامی جایگاه‌ها بخوبی تکثیر و فرآورده‌های PCR بر روی ژل اکریل آمید غیرواسرشته‌ساز ۸ درصد الکتروفورز شدند. در این پژوهش میانگین تعداد آلل مشاهده شده و موثر در جمعیت زنجان بیشترین و در جمعیت آذربایجان‌غربی کمترین میزان بود. همچنین، بیشترین میانگین تعداد آلل مشاهده شده و موثر در جایگاه A29 مشاهده شد. بیشترین و کمترین میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده به ترتیب در جایگاه‌های A28 و A113 و بیشترین و کمترین میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار به ترتیب در جایگاه‌های A29 و A113 مشاهده شد. با لحاظ شدن میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار کلیهٔ جایگاه‌ها به ازاء جمعیت‌ها، میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار در جمعیت زنجان بیشتر از میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار سایر جمعیت‌ها بود که حاکی از بالا بودن تنوع ژنتیکی این جمعیت است. همچنین میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار در جمعیت آذربایجان غربی کمتراز میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار سایر جمعیت ها بود. جایگاه A28 در جمعیت کردستان، جایگاه A113 در جمعیت آذربایجان‌غربی و جایگاه A24 در جمعیت آذربایجان‌شرقی، در تعادل هاردی- وینبرگ بودند و بقیه جایگاه‌ها با آزمون مربع‌کای انحراف معنی‌داری را از تعادل هاردی- وینبرگ نشان دادند (P<۰/۰۵). شاخص اطلاعات شانون در جمعیت-های زنجان، کردستان، آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی به ترتیب ۱/۳۲۸، ۰/۹۳۷، ۱/۰۷٦ و ۰/۸۰۵ محاسبه شد. همچنین با لحاظ جایگاه‌ها به ازای جمعیت‌ها، بیشترین میزان شاخص شانون مربوط به جایگاه A29 جمعیت آذربایجان شرقی و کمترین میزان آن مربوط به جایگاه A113 آذربایجان غربی بود. با تجزیه واریانس مولکولی تنوع ژنتیکی درون جمعیتی ۷۰ درصد و تنوع بین جمعیتی ۳۰ درصد برآورد گردید. از نظر محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) بیشترین و کمترین مقدار PIC به‌ترتیب مربوط به جایگاه A29 (۰/۷۰۱) و A113 (۰/۵۷۰) بود. همچنین بر اساس تجزیه خوشه‌ای به روش NJ با ۱۰۰۰ بوت استراپینگ، جمعیت زنبوران عسل شمال‌غرب ایران در چهار گروه دسته‌بندی گردید. بر اساس آنالیز داده‌های مرفولوژیک با استفاده از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)، مؤلفه‌های اصلی اول و دوم مجموعاً بیش از ۷۲ درصد تنوع شهرستان‌ها را شامل شد. بیشترین سهم را در مؤلفه اصلی اول، صفات طول خرطوم، طول بال جلو و قد زنبور با ضرائب مثبت و در مؤلفه اصلی دوم، طول پای عقب و شاخص کوبیتال با ضرائب مثبت ایفا کرد. همچنین، تجزیه خوشه‌ای با روش Ward و بر اساس فاصله

اقلیدسی انجام شد. تقسیم‌بندی در فاصله ۵ صورت گرفت و جمعیت مورد مطالعه به دو گروه تقسیم شد.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، زنبور عسل نژاد ایرانی، نشانگرهای ریزماهواره، صفات مرفولوژیک، هتروزایگوسیتی

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه ۲

۱-۱- کلیاتی درباره زنبور عسل ۲

۱-۱-۱- رده‌بندی زنبور عسل ۳

۱-۱-۲- نژادهای مختلف زنبور عسل معمولی ٦

۱-۱-۳- زنبور عسل نژاد ایرانی ۷

۱-۲- تنوع ژنتیکی و اهمیت مطالعه آن در زنبور عسل ۸

۱-۳-کلیاتی درباره نشانگرها ۱۰

۱-۳-۱- نشانگرهای مرفولوژیک ۱۱

۱-۳-۲- میکروستلایت‌ها ۱۳

۱-۳-۲-۱- میکروستلایت‌ها بعنوان نشانگرهای ژنتیکی ۱٤

۱-۳-۲-۲- منشا میکروستلایت‌ها ۱٥

۱-۳-۲-۳- فراوانی، توزیع و سازماندهی میکروستلایت‌ها در داخل ژنوم ۱٦

۱-۳-۲-٤- بیولوژی میکروستلایت‌ها ۱۷

فصل دوم: بررسی منابع ۲۱

فصل سوم: مواد و روش‌ها ۳۱

۳-۱- نمونه‌برداری ۳۱

۳-۱-۱- تعداد نمونهٔ مورد نیاز برای استفاده از میکروستلایت‌ها ۳۳

۳-۱-۲- شرایط نمونه‌برداری مناسب ۳٤

۳-۲- صفات مرفولوژیک اندازه گیری شده ۳۵
۳-۳- اندازه گیری صفات مرفولوژیک ۳۹
۳-٤- استخراج DNA ٤۰
۳-٤-۱- محلول‌ها و مواد شیمیایی استخراج ٤۱
۳-٤-۱-۱- بافر استخراج ٤۱
۳-٤-۱-۲- **بافر** TE ٤۲
۳-٤-۱-۳- اتانول مطلق ٤۲
۳-٤-۱-٤- اتانول ۷۰ درصد ٤۲
۳-٤-۱-۵-کلروفرم – ایزوآمیل الکل ٤۲
۳-۵- تعیین کمیت و کیفیت DNA ژنومی استخراج شده ٤۲
۳-۵-۱- روش اسپکتروفتومتری ٤۳
۳-۵-۲- روش الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ٤۳
۳-٦- رقیق نمودن DNA استخراج شده ٤٤
۳-۷- جایگاه‌های میکروستلایتی مورد مطالعه ٤٤
۳-۸- محتویات و برنامه PCR ٤٦
۳-۹- الکتروفورز محصولات PCR ٤٦
۳-۹-۱- تهیه ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد ٤٦
۳-۹-۲- بارگذاری فرآورده‌های PCR ٤۷
۳-۱۰- تجزیه و تحلیل داده‌ها ٤۸
فصل چهارم: نتایج و بحث ۵۱

٤-١- بررسی‌های مولکولی ٥١
٤-١-١- DNA استخراج شده ٥١
٤-١-٢- دامنه آللی جایگاه‌های مورد مطالعه ٥١
٤-١-٣- چند شکلی مشاهده شده در جایگاه‌ها ٥٢
٤-١-٣-١- جایگاه A28 ..... ٥٣
٤-١-٣-٢- جایگاه A113 ..... ٥٥
٤-١-٣-٣- جایگاه A29 ..... ٥٧
٤-١-٣-٤- جایگاه A24 ..... ٥٩
٤-١-٤- میانگین آللی جایگاه‌ها ٦١
٤-١-٥- تنوع ژنی یا هتروزایگوسیتی موجود در جمعیت‌ها ٦٢
٤-١-٦- شاخص اطلاعات شانون (I) ٦٥
٤-١-٧- تنوع ژنتیکی درون جمعیتی و بین جمعیتی ٦٩
٤-١-٨- بررسی تعادل هاردی- وینبرگ ٧٠
٤-١-٩- فاصلهٔ ژنتیکی ٧٢
٤-١-١٠- احتمال همسانی(PI) و محتوای اطلاعات چندشکلی(PIC) ٧٤
٤-١-١١- آزمون تخصیص ٧٨
٤-١-١٢- تجزیه خوشه‌ای ٨٠
٤-٢- بررسی‌های مرفولوژیک ٨٣
٤-٢-١- اندازه صفات مرفولوژیک مورد مطالعه ٨٣
٤-٢-٢- همبستگی بین صفات مرفولوژیک مورد مطالعه ٨٦

٤-٢-٣- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) ٨٩

٤-٢-٤- تجزیه خوشه‌ای ٩٨

٤-٢-٥- تجزیه واریانس ٩٩

فصل پنجم: نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها ١٠٤

٥-١- نتیجه‌گیری ١٠٤

٥-٢- پیشنهادها ١٠٥

منابع ١٠٨

فصل اول

مقدمه

فصل اول : مقدمه

ارزش تولیدات زنبور عسل، اعم از عسل، موم، بره موم، ژله رویال، گرده و غیره به عنوان مواد خوارکی یا دارویی برهمگان شناخته شده است، اما در بهره‌جویی از زنبور عسل در کشاورزی همواره اهداف ارزنده تری مطرح می‌باشد، بطوریکه طبق برآوردهای انجام شده توسط طهماسبی(۱۳۷۲) ارزش اقتصادی حاصل از دخالت زنبور عسل در عمل گرده‌افشانی گیاهان ۹۰ برابر بیشتر از تولیدات مستقیم آن است.

اجرای برنامه‌های خاص اصلاح نژادی در زنبور عسل می‌تواند در افزایش بهره‌وری بسیار مهم باشد. از طرفی اولین گام برای نیل به اصلاح نژاد هدفمند، مشخص نمودن میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌ها می‌باشد. پس از تعیین میزان تنوع موجود، می‌توان برای اصلاح نژاد جمعیت‌ها برنامه‌ریزی و در طی برنامه‌های بلندمدت و هدفدار، صفات اقتصادی موردنظر را در آن جمعیت متمرکز و صفات نامطلوب را حذف نمود.

چندشکلی[1] آنزیمی در زنبور عسل به دلیل سیستم هاپلودیپلوئیدی چندان زیاد نیست، در نتیجه نمی‌توان از آن برای مطالعهٔ تنوع ژنتیکی در زنبور عسل استفاده کرد. استفاده از آلل‌های جهش یافته نیز به دلیل پایین‌بودن احتمال حفظ این آلل‌ها و همچنین غیرقابل کنترل بودن آمیزش در زنبور عسل (بجز در موارد تلقیح مصنوعی)، کاربرد زیادی ندارد (Estoup *et al.* 1995). برای مدت طولانی بررسی‌های مولکولی بر روی زنبور عسل محدود به تعیین اندازه ژنوم، تعیین توالی تعداد کمی ژن، چند مورد توالی تکرارشونده و نقشه RAPD بود. در بین نشانگرهای ژنتیکی بکار رفته، استفاده از DNA میتوکندریایی و میکروستلایت‌ها کاربردهای وسیع‌تری داشته اند، اما داده های حاصل از میتوکندری ها به تنهایی برای تعیین وضعیت ژنتیکی

[1] - Polymorphism

کلنی های زنبور عسل کافی نبوده و برای این نوع بررسی‌ها نشانگرهای میکروستلایت در حال حاضر و آینده کاربرد وسیع تری خواهند داشت (De La Rua *et al.* 2003).

برای بررسی تنوع ژنتیکی حقیقی[۲] می‌توان با استفاده همزمان از نشانگرهای مولکولی و مرفولوژیک اطلاعات ارزشمندی را بدست آورد و معایب این دو نوع نشانگرها را با کاربرد همزمان پوشاند. مزیت دیگر بکارگیری همزمان اطلاعات مرفولوژیک و مولکولی، یافتن نشانگرهای آگاهی‌بخش در نمونه‌های تحت بررسی می‌باشد (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). در این تحقیق، تنوع ژنتیکی توده زنبور عسل معمولی شمال‌غرب ایران با استفاده از صفات مرفولوژیک و ریزماهواره‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

۱-۱-کلیاتی درباره زنبور عسل

۱-۱-۱- رده‌بندی زنبور عسل

زنبور عسل از شاخه بندپایان[۳]، رده حشرات[۴]، راسته بال‌غشاییان[۵]، بالا خانواده آپوئیده[۶] و خانواده آپیده[۷] است. خانواده آپیده به سه زیر خانواده بومبینه[۸] (زنبورهای بامبل)، ملیپونینه[۹] (زنبورهای بدون نیش) و آپینه[۱۰] (زنبورهای عسل دارای رقص جهت‌یابی نعل اسبی شکل) تقسیم می‌شود. تمام گونه‌های زنبور عسل در زیر

2 - True Genetic Diversity
3 - Arthropoda
4 - Insecta
5 - Hymenoptera
6 - Apoidea
7 - Apidae
8 - Bombinae
9 - Meliponinae
10 - Apinae

خانواده آپینه دارای زندگی اجتماعی پایدار و از جنس آپیس هستند. تا کنون ۹ گونه زنبور عسل در دنیا گزارش شده است:

۱- زنبور عسل کوچک یا *Apis florea* F.

۲- زنبور عسل بزرگ یا *Apis dorsata* F.

این دو گونه بصورت آزاد زندگی کرده و هرگز در داخل محیط بسته کندو قادر به ادامه حیات نیستند و فقط یک شان درست می‌کنند و سیستم مکالمه بین آنها ابتدایی است. تعداد کروموزوم در نرها هشت و در ماده‌ها ١٦ عدد می‌باشد (عبادی و احمدی، ۱۳۸۵).

۳- زنبور عسل آسیایی یا هندی یا *Apis cerana* F.

٤- زنبور عسل معمولی یا اروپایی یا *Apis mellifera* L.

این دو گونه در داخل کندو یا محوطه بسته در روی شان‌های متعددی که درست می‌کنند زندگی می‌کنند. سیستم مکالمه و ارتباط بین افراد این دوگونه تکامل زیادی یافته و از نظر اقتصادی اهمیت زیادی دارند. تعداد کروموزوم در نرها ١٦ و در ماده‌ها ۳۲ عدد می‌باشد (عبادی و احمدی، ۱۳۸۵).

۵- زنبور عسل ریز یا *Apis andreniformis* W.

این گونه عمدتاً در جنوب شرقی آسیا، جنوب چین، و در مالزی و برونئی وجود دارد. این گونه از نظر خصوصیات ظاهری و بیولوژیک به گونه *A. florea* بسیار شباهت دارد،گرچه هنوز اطلاعات کافی در مورد بیولوژی این گونه در دست نیست (مستأجران و ادریس، ۱۳۷۹).

٦- زنبور عسل هیمالیایی یا *Apis laboriosa* S.

این گونه از نظر جثه بزرگترین زنبور عسل جهان بوده و شباهت زیادی به گونه *A. dorsata* دارد. این گونه در جنوب شرقی آسیا خصوصاً در نپال پراکنده است (بصیری، ١٣٨٦).

٧- زنبور عسل قرمز یا *Apis koschevnikovi* B.

این گونه اگرچه شباهت‌هایی با *A. cerana* دارد ولی تفاوت‌های مرفولوژیک و بیولوژیک متعددی دارد که موجب تفکیک آنها از یکدیگر شده است. مناطق پراکنش این گونه عمدتاً در شمال برونئی و در صبای مالزی است (بصیری، ١٣٨٦).

٨- *Apis nigrocincta*

انتشار این گونه در بخش‌هایی از اندونزی و جنوب شرقی آسیا است. از نظر ظاهری شبیه گونه *A. koschevnikovi* است ولی اندازه های بدن آنها متفاوت بوده مضافاً اینکه بطور کامل قابل تلاقی نیستند و منطقه جغرافیایی متفاوتی را اشغال می کنند (مستأجران و ادریس، ١٣٧٩).

٩- *Apis nuluensis*

این گونه از صبای مالزی گزارش شده است که شباهت به گونه *A. cerena* دارد (مستأجران و ادریس، ١٣٧٩).

۱-۱-۲- نژادهای مختلف زنبور عسل معمولی

نژادهای گونه زنبور عسل معمولی برمبنای سیستم طبقه بندی دوپراو[11] (۱۹٦٤) به چهار گروه بر حسب گسترش جغرافیایی آنها بشرح زیر دسته بندی شده‌اند: (عبادی و احمدی، ۱۳۸۵)

الف- نژادهای آفریقایی:

1-*Apis mellifera scutellata*
2-*Apis mellifera adansonii*
3-*Apis mellifera monticola*
4-*Apis mellifera litorea*
5-*Apis mellifera unicolor*
6-*Apis mellifera capensis*
7-*Apis mellifera lamarkii*
8-*Apis mellifera yemenitica*

ب- نژادهای خاور نزدیک:

9-*Apis mellifera cypria*
10-*Apis mellifera syriaca*
11-*Apis mellifera anatoliaca*
12-*Apis mellifera meda*
13-*Apis mellifera armeniaca*
14-*Apis mellifera caucasica*
15-*Apis mellifera adami*

ج-نژادهای منطقه مدیترانه مرکزی و جنوب شرقی اروپا:

16-*Apis mellifera cercopia*
17-*Apis mellifera carnica*
18-*Apis mellifera ligustica*
19-*Apis mellifera sicula*

11 - Dupraw

20-*Apis mellifera macadonica*
21-*Apis mellifera sahariensis*
22-Apis mellifera intermissa
23-*Apis mellifera iberica*
24-*Apis mellifera mellifera*

۱-۱-۳- زنبور عسل نژاد ایرانی (*A. m. meda*)

از نه گونه زنبور عسل موجود در دنیا، دوگونه *Apis mellifera* L. و *Apis florea* F. در ایران وجود دارند. *A. mellifera* در تمام نقاط ایران به جز مناطق کویری انتشار داشته (Ruttner *et al*. 1985) و تودهٔ موجود در ایران همان *A. mellifera meda* می‌باشد و از نژادهای اروپایی وارد شده به ایران فاصلهٔ زیادی دارد (طهماسبی، ۱۳۷۵).

مدا نامی است که پروفسور گتس[۱۲] در دانشگاه بن، بر روی زنبورهای نژاد ایرانی گذاشته و کلمه meda از نام سلسه پادشاهان ماد گرفته شده که قبل از هخامنشیان در ایران حکومت می کردند (فرشینه‌عدل و ملایی، ۱۳۸۹). گاهی به این نژاد پرسیکا[۱۳] و ایرانیکا[۱۴] نیز می‌گویند (بصیری، ۱۳۸٦). موطن این نژاد کوههای البرز و ایران مرکزی است و در سالهای قبل هیچ نوع زنبور عسل معمولی در شرق امتداد خط مشهد، کرمان و بندر عباس وجود نداشت (شهرستانی، ۱۳۷٦).

در این نژاد رنگ بدن در قسمت شکم زرد متمایل به قهوه ای تیره و سه حلقه اول شکم روشن تر است. تمایل به نیش زدن و بچه دادن و جمع آوری بره موم زیاد است. مقدار غذای لازم برای زمستان گذرانی آن از همه نژادها کمتر است و از لحاظ رشد بهاره خوب بوده و در اردیبهشت و اوایل خرداد ماه به حداکثر

12 - Goetze
13 - *A. m. persica*
14 - *A. m. iranica*

رشد سالانه خود می رسد. تمایل به غارت دارد و زمستانهای سرد را به خوبی تحمل می کند (بصیری، ۱۳۸٦ و مستأجران و ادریس، ۱۳۷۹)

عملکرد این نژاد در حد پایینی بوده ولی با توجه به صرفه‌جو بودن و زمستان‌گذرانی خوب، برای زنبوردار اقتصادی است (شهرستانی، ۱۳۷٦).

نژاد ایرانی در ایران، شمال عراق و جنوب شرق ترکیه و حتی شمال سوریه وجود دارد که در شرقی‌ترین قسمت پراکنش گونه زنبور عسل معمولی است. این نژاد از نظر خصوصیات مرفولوژیک ظاهراً شبیه نژاد ایتالیایی است و از نظر خصوصیات بیولوژیک نیز نژادی است با تمایل به بچه دهی زیاد، قدرت جمع‌آوری بره‌موم زیاد، قدرت زمستان‌گذرانی خیلی خوب و رفتار تهاجمی بالا که مجموعاً این نژاد را از سایر زیر گونه‌های منطقه متمایز می‌سازد (طهماسبی، ۱۳۷۵).

۱-۲- تنوع ژنتیکی و اهمیت مطالعه آن در زنبور عسل

تنوع موجود در جمعیت‌های مختلف زنبور عسل، ناشی از تنوع محیطی و اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط است. زنبور عسل از موجوداتی است که محیط و اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط، صفات اقتصادی آن را شدیداً تحت تأثیر قرار می‌دهد (مستأجران و ادریس، ۱۳۷۹). بررسی تنوع ژنتیکی و مطالعات فیلوژنتیک از اساسی‌ترین جنبه‌های علوم زیستی محسوب می‌شود. توفیق برنامه‌های اصلاح نژادی که در جهت بهبود وضعیت تولیدی نژادها عمل می‌نمایند به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌ها بستگی دارد (اسماعیل-خانیان، ۱۳۸۵). اولین گام برای نیل به اصلاح نژاد هدفمند، مشخص نمودن میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌ها می‌باشد. پس از تعیین میزان تنوع موجود، می‌توان برای اصلاح نژاد جمعیت‌ها برنامه‌ریزی و در

طی برنامه‌های بلندمدت و هدفدار، صفات اقتصادی موردنظر را در آن جمعیت متمرکز و صفات نامطلوب را حذف نمود (اسدی، ۱۳۸٤). متخصصین اصلاح نژاد، از تنوع ژنتیکی برای رسیدن به دام‌های اصلاح شدهٔ پرتولید و مقاوم به شرایط نامناسب استفاده می‌نمایند. نبود تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های پایه قدرت انتخاب برای رفع نیازهای آتی را محدود می‌سازد. کاهش تنوع ژنتیکی به صورت از دست دادن نژادها و سویه‌ها خود را بروز می‌دهد. تنوع درون نژادی پیوسته با ورود تنوع جدید ناشی از جهش مواجهه است، ولی تنوع ژنتیکی بین نژادی را نمی‌توان به راحتی بازسازی نمود، بنابراین می‌توان گفت هر نژاد مجموعه منحصر به فردی از ژن‌هاست که مخزن ژنی آن نژاد را می‌سازد. با حفظ نمونهٔ پایه از تمامی نژادهای یک گونه که دارای بیشترین تنوع ژنتیکی می‌باشند، می‌توان حداکثر تنوع ژنتیکی را حفظ نمود. این نمونه‌ها شامل نژادهایی هستند که دارای آلل‌ها یا ترکیبات آللی منحصربه فرد می‌باشند. شرح کامل تفاوت ژنتیکی داخل هر نژاد امکان‌پذیر نیست ولی معیارهای فاصلهٔ ژنتیکی، بهترین شرح در دسترس برای بیان تفاوت ژنتیکی آنها می‌باشند (زاهدی و همکاران، ۱۳۸۷؛ توکلیان، ۱۳۸۷). سازمان خوار و بار جهانی[۱۵] بوسیلهٔ کشورهای عضوش متولی مدیریت منابع ژنتیکی جهانی شده و پیشرفت‌های مهمی طی سال‌های اخیر در این زمینه صورت گرفته است. اولویت‌ها برای حفاظت نژاد، برنامه‌های توسعهٔ نژاد و مطالعات تکاملی تنظیم شده است و نژادهای با رده‌بندی مشخص برای حفاظت مود توجه قرار گرفته‌اند. هدف از این برنامه‌های حفاظتی، نگهداری حداکثر تنوع ژنتیکی هر یک از گونه‌های دامی است. تنوع ژنتیکی مادهٔ اصلی اصلاح‌گر دام است و کمبود یا فقدان این تنوع قدرت انتخاب‌های ژنتیکی را کاهش می‌دهد (قره‌یاضی، ۱۳۷۵). ذیلا درباره اهمیت تنوع ژنتیکی در زنبور عسل و ضرورت مطالعه آن به اختصار و تنها به ذکر چند مورد اکتفا می‌شود:

15 - FAO

کاهش تنوع ژنتیکی یا تقلیل هتروزایگوسیتی از یک طرف و عوامل سیتوپلاسمی مربوط به ملکه زنبور عسل که از طریق تخم به نوزادان منتقل می‌گردد و همچنین، اثر متقابل این عوامل مجموعاً باعث بروز صفات نامطلوب می‌گردد (De La Rua *et al*., 2004). یکی از مشکلاتی که دراصلاح نژاد زنبور عسل وجود دارد همین مورد است که وقتی درداخل یک نژاد در بین لاین های انتخاب شده تلاقی های مکرر انجام می شود صفات نامطلوب به تدریج ظاهر می شود. در پرواز جفت‌گیری وقتی درجه قرابت نر و ماده با یکدیگر از متوسط درجه قرابت در جمعیت آنها بیشتر باشد همخونی در آن افراد ظاهر می‌شود و باعث کاهش قدرت ادامه حیات در نوزادان، حساسیت نسبت به بیماریها و کاهش عملکرد آنها می‌گردد و ضمناً سایر رفتارهای نوزادان نیز ممکن است تحت تاثیر واقع شود و پیدایش این گونه صفات نامطلوب به علت از دست رفتن تنوع ژنتیکی در نوزادان حاصل از قرابت‌های نزدیک است.

طاشی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند به علت پایین بودن تنوع ژنتیکی در زنبوران عسل، آلودگی کندوها به کنه واروآ نسبت به نمونه های شاهد خیلی بالا می‌باشد. این موضوع باعث کاهش وزن بدن زنبوران عسل و حتی از بین رفتن ضمائم موثر بخصوص در ملکه می‌شود (Daly *et al*., 1998).

۱-۳- کلیاتی درباره نشانگرها

تا چندین سال قبل برای بررسی تنوع ژنتیکی از ویژگی‌های مرفولوژیک، اطلاعات شجره‌ای و نشانگرهای پروتئینی استفاده می‌شد. امروزه، با توسعه نشانگرهای DNA و با توجه به قدرت تمایز، قطعیت و فراوانی آن‌ها، به طور گسترده‌ای از این نشانگرها استفاده می‌شود. در طول دهه‌های اخیر بکارگیری روش‌های مبتنی بر ژنتیک جمعیت و آمار منجر به توسعهٔ حیواناتی با بازده بالا شده است و ترکیب این