

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

**تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی (*Apis mellifera meda*) با
استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره**

پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی

محسن صفائی

اساتید راهنما

دکتر بهرام شریف نبی

دکتر مجید طالبی



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی حشره‌شناسی کشاورزی آقای محسن صفائی
تحت عنوان

**تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی (*Apis mellifera meda*) با استفاده از
نشانه‌های مولکولی ریزماهواره**

در تاریخ ۱۳۹۲/۰۶/۳۰ توسط کمیته‌ی تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

- | | |
|------------------------------------|-------------------------------|
| دکتر بهرام شریف نبی | ۱- استاد راهنمای پایان‌نامه |
| دکتر مجید طالبی | ۲- استاد راهنمای پایان‌نامه |
| دکتر غلامحسین طهماسبی | ۳- استاد مشاور پایان‌نامه |
| دکتر جهانگیر خواجه علی | ۴- استاد داور |
| دکتر بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی | ۵- استاد داور |
| دکتر جهانگیر خواجه علی | سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده |

سپاس بیکران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید.

حال که توفیق جمع آوری و تهیه این مجموعه را یافته‌ام بر خود واجب می‌دانم از تمامی عزیزانی که در طی انجام این پژوهش از راهنمایی و یاری‌شان بهره‌مند گشته‌ام تشکر و قدردانی کنم و برای ایشان از درگاه پروردگار مهربان آرزوی سعادت و پیروزی نمایم.

در ابتدا صمیمانه‌ترین تقدیرها تقدیم به خانواده عزیز و مهربانم که همواره حامی و مشوقم بوده‌اند و پیمودن روزهای سخت و آسان زندگی‌ام بدون دعای خیر، و برکت وجودشان غیرممکن بود.

از اساتید راهنمای ارجمند جناب آقای دکتر بهرام شریف نبی و جناب آقای دکتر مجید طالبی که با سعه صدر و صبوری مرا راهنمایی نموده و با ارائه نظرات سازنده و رهنمودهای بی‌دریغشان در پیشبرد این پایان‌نامه سعی تمام مبذول داشتند، کمال تشکر را دارم.

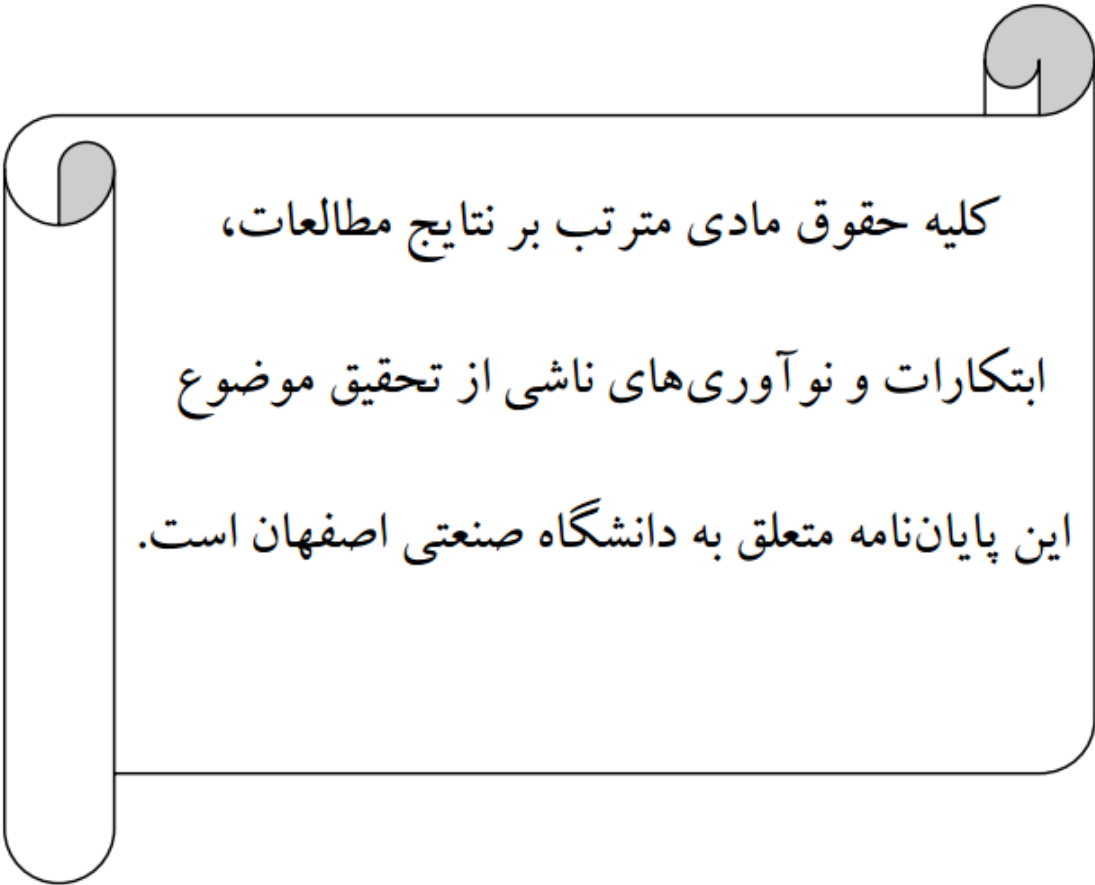
از استاد مشاور ارجمند جناب آقای دکتر غلامحسین طهماسبی که در طول این تحقیق با رهنمودها و تشویق‌های خود مرا مورد لطف خویش قرار دادند، صمیمانه سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر اردشیر آریانا که در ابتدای این تحقیق مرا یاری کردند صمیمانه سپاس گذارم. از داوران محترم جناب آقای دکتر جهانگیر خواجه علی و جناب آقای دکتر صدرالدین ابراهیم سید طباطبایی که زحمت بازخوانی و داوری این مجموعه را به عهده داشتند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از کلیه اساتید گران‌قدر گروه که در دوران تحصیل از محضرشان کسب فیض نمودم، تشکر می‌نمایم. از زحمات کارشناسان محترم آزمایشگاه آقایان مهندس رخشانی، مهندس حسینی و مهندس محمدی کمال تشکر و امتنان را دارم.

از همکاری آقای مهندس محمد صفائی و سرکار خانم مهندس اکبری که در تایپ و بازخوانی این مجموعه بنده را یاری کردند تشکر می‌کنم.

و در نهایت از تمامی دوستان و هم‌کلاسی‌های عزیزم که در طول این مدت افتخار آشنایی و مصاحبت با آنها را داشتم، به پاس محبت‌های بی‌دریغشان سپاسگزارم.



کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،
ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع
این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم بہ:

پدرم بہ استواری کوہ

مادرم بہ زلالی چشمہ

و

ہمسرم بہ صمیمیت باران

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
هشت	فهرست مطالب
۱	چکیده
	فصل اول: مقدمه و بررسی منابع
۲	۱-۱ اهمیت و اهداف تحقیق
۵	۲-۱ رده بندی زنبور عسل
۵	۱-۲-۱ انواع گونه های زنبور عسل
۶	۳-۱ نژادهای مختلف زنبور عسل معمولی
۷	۱-۳-۱ نژادهای آفریقایی
۷	۲-۳-۱ نژادهای خاور نزدیک
۷	۳-۳-۱ نژادهای منطقه مدیترانه مرکزی و جنوب شرقی اروپا
	۴-۱ ویژگی های زنبور عسل نژاد ایرانی (<i>A. m. meda</i>)
۸	۵-۱ پراکنش جغرافیایی و تکامل زنبور عسل
۱۰	۶-۱ وضعیت جمعیت های زنبور عسل در خاورمیانه
۱۱	۷-۱ انواع نشانگرها جهت بررسی تنوع ژنتیکی
۱۲	۱-۷-۱ نشانگرهای مورفولوژیک
۱۲	۲-۷-۱ نشانگرهای بیوشیمیایی
۱۳	۳-۷-۱ نشانگرهای DNA
۱۴	۸-۱ DNA تکرار شونده و نشانگرهای ریزماهواره
۱۶	۱-۸-۱ نام گذاری و تعریف ریزماهواره ها
۱۷	۲-۸-۱ مزایا و معایب کاربرد نشانگرهای مولکولی SSR
۱۸	۳-۸-۱ مراحل تولید ریزماهواره ها
۱۹	۹-۱ پژوهش های انجام شده با استفاده از نشانگرهای مولکولی در زنبور عسل
	فصل دوم: مواد و روش ها
۲۴	۱-۲ نمونه برداری
۲۶	۲-۲ استخراج DNA
۲۶	۱-۲-۲ استخراج DNA به روش موری و تامسون
۲۷	۲-۲-۲ تعیین کمیت و کیفیت DNA
۲۸	۳-۲ واکنش PCR
۲۹	۱-۳-۲ بهینه سازی واکنش PCR برای آغازگرهای SSR
۳۰	۲-۳-۲ موارد مورد نیاز واکنش PCR
۳۰	۳-۳-۲ انجام واکنش PCR با آغازگرهای SSR زنبور عسل
۳۱	۴-۳-۲ برنامه دستگاه PCR
۳۱	۵-۳-۲ مشاهده محصولات PCR
۳۳	۶-۳-۲ امتیازدهی باندهای حاصل از محصول PCR
	فصل سوم: نتیجه و بحث
۳۴	۱-۳ استخراج DNA ژنومی

۳۶.....	۲-۳ بهینه سازی شرایط واکنش جهت آغازگرهای SSR
۳۷.....	۳-۳ امتیازدهی باندهای حاصل از محصول PCR
۳۹.....	۴-۳ بررسی چند شکلی جفت آغازگرهای SSR زنبور عسل
۴۳.....	۵-۳ بررسی تنوع ژنی در جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی
۴۶.....	۶-۳ تجزیه خوشه‌ای داده‌های SSR

فصل چهارم: نتیجه گیری و پیشنهادها

۵۲.....	۱-۴ نتیجه‌گیری کلی
۵۵.....	۲-۴ پیشنهادها
۵۶.....	مراجع

چکیده

زنبور عسل ایرانی (*Apis mellifera meda*) یکی از ۲۴ نژاد زنبور عسل موجود در دنیا است که علاوه بر ایران، در شمال عراق و جنوب شرقی ترکیه و حتی در شمال سوریه وجود دارد. این نژاد از نظر خصوصیات مورفولوژیک ظاهراً شبیه نژاد ایتالیایی است و از نظر خصوصیات بیولوژیک نیز نژادی است با تمایل به بچه دهی زیاد، قدرت جمع آوری بره موم زیاد، قدرت زمستان گذرانی خیلی خوب و رفتار تهاجمی بالا که مجموعاً این نژاد را از سایر زیر گونه‌ها 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، تلاش شد تنوع ژنتیکی جمعیت زنبور عسل ایرانی در سرتاسر ایران مورد ارزیابی قرار گیرد. در بین نشانگرهای مولکولی، ریزماهورها در برآورد تنوع ژنتیکی زنبور عسل در سرتاسر دنیا به طور وسیعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در این تحقیق از ۱۸ جمعیت متعلق به هشت استان کشور (خراسان رضوی، سمنان، مازندران، البرز، زنجان، همدان، آذربایجان غربی و اصفهان) نمونه برداری انجام شد و تنوع ژنتیکی آنها با استفاده از ده جفت نشانگر ریزماهوره تعیین گردید. پس از استخراج DNA به روش CTAB و بهینه سازی شرایط و انجام PCR، تمامی جایگاه‌ها به خوبی تکثیر و فرآورده‌های PCR بر روی ژل آکریل آمید غیرواسرشته ساز ۱۲ درصد الکتروفورز شدند. بر اساس نتایج تکثیر باندهای مورد نظر، ده جفت آغازگر استفاده شده در این تحقیق به دلیل ایجاد چند شکلی بالا، کارآمد تشخیص داده شدند. تعداد آلل‌های تکثیرشده توسط هر کدام از این جفت آغازگرها از ۱۱ تا ۲۶ آلل متغیر بود. متوسط تعداد آللها در هر مکان ژنی ۲۱/۹ و متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار در هر مکان ژنی ۰/۹۹۱ بود. مطابق دندروگرام رسم شده با اطلاعات حاصل از نشانگرهای SSR با استفاده از Sharedallele و روش UPGMA با نرم‌افزار Power Marker V.3.25، جمعیت‌های زنبور عسل مورد بررسی در چهار گروه تقسیم‌بندی شدند. گروه‌بندی جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی به میزان زیادی با پراکنش جغرافیایی آنها تطابق داشت. تجزیه واریانس مولکولی داده‌ها نشان داد که اختلاف بین جمعیت‌ها معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.001$) و همچنین تنوع ژنتیکی درون جمعیتی ۹۰/۵۷ درصد و تنوع بین جمعیتی ۹/۴۳ درصد برآورد گردید. در کل نتایج حاصله نشان داد که جمعیت زنبور عسل ایرانی از تنوع ژنی مناسبی برخوردار است که میزان تنوع درون جمعیت‌ها به مراتب بیشتر از میزان تنوع بین جمعیت‌ها می‌باشد.

کلمات کلیدی: ۱- زنبور عسل ایرانی ۲- تنوع ژنتیکی ۳- ریزماهورها ۴- تجزیه واریانس مولکولی

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع

۱-۱ اهمیت و اهداف تحقیق

کشور ایران به دلیل شرایط جغرافیایی خاص، دارای فون غنی از حشرات گردهافشان می باشد که در گردهافشانی گیاهان زراعی و باغی، جنگل‌ها و مراتع دخالت داشته، و نقش بسیار مهمی در احیای محیط زیست و محصولات کشاورزی دارند. در میان این حشرات، دو گونه زنبور عسل معمولی (*Apis mellifera*) و زنبور عسل کوچک (*Apis florea* Fabr.) مهم‌ترین نقش را در انجام گردهافشانی گیاهان دگرگشن داشته و در رأس حشرات گردهافشان ایران قرار می‌گیرند [۵]. زنبور عسل معمولی *Apis mellifera* گونه‌ای از زنبورها با زندگی اجتماعی^۱ می‌باشد که به خوبی با شرایط مختلف اکولوژیکی در جهان سازگاری پیدا کرده است. این گونه به دلیل تولید عسل، موم، گرده، ژله رویال، زهر و نیز فعالیت گردهافشانی در بین گیاهان دارای اهمیت اقتصادی زیادی می‌باشد و همچنین به عنوان شناساگر بیولوژیک^۲ برای شناسایی مناطق آلوده به فلزات سنگین و آلاینده‌های زیست محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۹، ۵۱ و ۶۶].

۱-Eusocial

۲-Bioindicator

تنوع ژنتیکی یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های یک جمعیت است. محیط‌ها همواره در حال تغییر هستند و تنوع ژنتیکی برای تداوم تکامل و سازگاری گونه‌ها برای زیست در شرایط جدید لازم است. مطالعه سایر گونه‌ها نشان داده است که در عمل بین جمعیت‌ها تفاوت‌های ژنتیکی وجود دارد. علاوه بر این، تنوع ژنتیکی اندک منجر به افزایش درون آمیزی شده که می‌تواند برازندگی افراد و جمعیت‌ها را کاهش دهد. بنابراین ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در یک جمعیت از مهم‌ترین اهداف در مطالعه ژنتیک جمعیت‌هاست و کاربرد بسیار مهمی در زیست‌شناسی حفاظت دارد [۸]. در گذشته بررسی تنوع موجود در جمعیت‌ها با استفاده از داده‌های فنوتیپی^۱ صورت می‌گرفت و باور کلی بر این بود که جمعیت‌هایی که از نظر ریختی از تنوع بالایی برخوردار هستند، دارای تنوع ژنتیکی بالایی نیز می‌باشند. مشکل اصلی در استفاده از داده‌های فنوتیپی برای استنباط تنوع ژنتیکی از آنجا ناشی می‌شود که رابطه ۱: ۱ بین فنوتیپ و ژنوتیپ وجود ندارد. این بدان معناست که صفات و ویژگی‌های فنوتیپی تحت تأثیر ژن‌ها و همچنین متغیرهای محیطی هستند [۱۱و۸].

شکل‌پذیری فنوتیپی^۲ می‌تواند به برآورد غلط تنوع ژنتیکی بیانجامد، یعنی سبب شود که تنوع ژنتیکی را بیش از مقدار واقعی آن برآورد کنیم. مشکلات ناشی از استفاده از صفات فنوتیپی، محققان را بر آن داشت تا با استفاده از نشانگرها به برآورد تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها پردازند. برای موفقیت در تولید داده مناسب باید نشانگر مناسب انتخاب شود [۶۹و۸]. هنگامی که جمعیت‌های مختلف باهم مقایسه می‌شوند باید توجه داشت که میزان تنوع ژنتیکی برآورد شده به نوع نشانگر مورد استفاده نیز بستگی دارد. نرخ جهش‌پذیری در بین ژنومهای مختلف متفاوت است و نشانگرهایی که روند تکامل سریع تری دارند (مانند ریزماهورها) تنوع ژنتیکی بالاتری را در مقایسه با نشانگرهایی که کندتر تکامل می‌یابند (مانند آلوزایمها) نشان می‌دهند [۸].

بنابراین این نوع نشانگرها به عنوان نشانگرهای مولکولی کارآمد در برآورد تنوع ژنتیکی جمعیت‌های یک گونه معرفی می‌شوند [۶۷و۶۲، ۴۰، ۸].

با اینکه مطالعات پایه بر روی زیر گونه‌های^۳ زنبور عسل منحصر به داده‌های شکل‌شناسی^۴ است ولی به دلیل چندشکلی^۵ پایین موجود در این صفات و این که صفات مورفولوژیک به فشار انتخاب طبیعی حساس می‌باشند استفاده از این گونه داده‌ها خالی از اشکال نیست [۱۳، ۱۴، ۵۴و۵۵].

۱- Phenotype

۲- Phenotypic Plasticity

۳- Subspecies

۴- Morphology

۵- Polymorphism

آنالیز آلوزایمها^۱ نیز اطلاعات خیلی کمی را در مورد تکامل زنبور عسل و ساختار جمعیت آنها بدست می‌دهد و دلیل این امر تغییرپذیری پایین^۲ آلوزایمها در گونه *A. mellifera* می‌باشد [۱۲ و ۱۳] که این وضعیت نتیجه‌ای از سیستم هاپلودیپلوئیدی^۳ موجود در زنبور عسل است [۴۰ و ۵۰].

در میان نشانگرهای مولکولی، نشانگرهای مبتنی بر DNA میتوکندریایی (mtDNA)^۴ و ریزماهواره‌ها^۵ در مطالعه تکامل زنبور عسل و حل روابط بین جمعیت‌های این گونه در میان و بین شاخه‌های تکاملی بسیار کارآمد و مفید می‌باشند [۳۱، ۳۷، ۴۸ و ۵۲].

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 کرد و در طی برنامه‌های بلندمدت و هدف دار، صفات اقتصادی مورد نظر را در آن جمعیت متمرکز و صفات نامطلوب را حذف نمود [۶].

کاهش تنوع ژنتیکی یا کاهش هتروزیگوسیتی^۶ 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 [۶ و ۷]. یکی از مشکلاتی که در اصلاح نژاد زنبور عسل وجود دارد همین مورد است که وقتی در داخل یک نژاد در بین لاینهای انتخاب‌شده تلاقی‌های مکرر انجام می‌شود صفات نامطلوب به تدریج ظاهر می‌شود. 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 سایر رفتارهای نوزادان نیز ممکن است تحت تأثیر واقع شود و پیدایش این گونه صفات نامطلوب به علت از دست رفتن تنوع ژنتیکی در نوزادان حاصل از قرابت‌های نزدیک است [۱].

بررسی تنوع ژنتیکی زنبور عسل ایرانی در سراسر کشور با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره از موضوعاتی است که تا به حال تحقیقی مستدل علمی در مورد آن صورت نگرفته است. هدف از این

۱- Allozymes

۲- Low variability

۳- Haplodiploidy

۴- Mitochondrial DNA

۵- Microsatellites

۶- Heterozygosities

پژوهش برآورد تنوع ژنتیکی زنبور عسل در ایران و همچنین امکان کاربرد نشانگرهای ریزماهواره برای آگاهی از تنوع ژنتیکی این گونه مفید و مهم گرده افشان می باشد.

۲-۱ رده بندی زنبور عسل

زنبور عسل حشره ای از شاخه بندپایان^۱، رده حشرات^۲، راسته بال غشائیان^۳، بالا خانواده Apoidea و خانواده Apidae است. خانواده Apidae به سه زیر خانواده Bombinae (زنبورهای بامبل)، Meliponinae (زنبورهای بدون نیش) و Apinae (زنبورهای عسل دارای رقص جهت یابی نعل اسبی شکل) تقسیم می شود. تمام گونه های زنبور عسل در زیر خانواده Apinae دارای زندگی اجتماعی پایدار و از جنس *Apis* هستند [۱۳، ۲۶ و ۴۵].

۱-۲-۱ انواع گونه های زنبور عسل

تا کنون ۹ گونه زنبور عسل در دنیا گزارش شده است [۷].

۱-۲-۱-۱ الف- زنبور عسل کوچک (*A. florea*)

۱-۲-۱-۲ ب- زنبور عسل بزرگ (*A. dorsata* Fabr.)

این دو گونه بصورت آزاد زندگی کرده و هرگز در داخل محیط بسته کندو قادر به ادامه حیات نیستند و فقط یک شان درست می کنند و سیستم مکالمه بین آنها ابتدایی است. تعداد کروموزوم در نرها ۸ و در ماده ها ۱۶ عدد می باشد.

۱-۲-۱-۳ پ- زنبور عسل آسیایی (*A. cerana* Fabr.)

۱-۲-۱-۴ ت- زنبور عسل معمولی یا اروپایی (*A. mellifera*)

این دو گونه در داخل کندو یا محوطه بسته در روی شان های متعددی که درست می کنند زندگی می کنند. سیستم مکالمه و ارتباط بین افراد این دو گونه تکامل زیادی یافته و از نظر اقتصادی اهمیت زیادی دارند. تعداد کروموزوم در نرها ۱۶ و در ماده ها ۳۲ عدد می باشد.

۱- Arthropoda

۲- Insecta

۳- Hymenoptera

۱-۲-۱-ث- زنبور عسل ریز (*A. andreniformis* Smith.)

این گونه عمدتاً در جنوب شرقی آسیا، جنوب چین، 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.

۱-۲-۱-ج- زنبور عسل هیمالیایی (*A. laboriosa* Smith.)

این گونه از نظر جنه بزرگ‌ترین زنبور عسل جهان بوده و شباهت زیادی به گونه *A. dorsata* دارد. این گونه در جنوب شرقی آسیا خصوصاً در نپال پراکنده است.

۱-۲-۱-چ- زنبور عسل قرمز (*A. koschevnikovi* Battel.)

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.

۱-۲-۱-ح- *A. nigrocincta* Smith.

انتشار این گونه در بخش‌هایی از اندونزی و جنوب شرقی آسیا است. از نظر ظاهری شبیه گونه *A. koschevnikovi* است ولی اندازه‌های بدن آنها متفاوت بوده مضافاً اینکه به طور کامل قابل تلاقی نیستند و منطقه جغرافیایی متفاوتی را اشغال می‌کنند.

۱-۲-۱-خ- *A. nuluensis* Tingek.

این گونه از صبای مالزی گزارش شده است که شباهت به گونه *A. cerana* دارد.

۳-۱ نژادهای مختلف زنبور عسل معمولی

نژادهای گونه زنبور عسل معمولی بر مبنای سیستم طبقه‌بندی دوپراو (۱۹۶۴) به چهار گروه بر حسب گسترش جغرافیایی آنها بشرح زیر دسته‌بندی شده‌اند [۷].

۱-۳-۱ نژادهای آفریقایی:

- 1-A. *mellifera scutellata*
- 2-A. *mellifera adansonii*
- 3-A. *mellifera monticola*
- 4-A. *mellifera litorea*
- 5-A. *mellifera unicolor*
- 6-A. *mellifera capensis*
- 7-A. *mellifera lamarckii*
- 8-A. *mellifera yemenitica*

۲-۳-۱ نژادهای خاور نزدیک:

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

۳-۳-۱ نژادهای منطقه مدیترانه مرکزی و جنوب شرقی اروپا:

- 16-A. *mellifera cercopia*
- 17-A. *mellifera carnica*
- 18-A. *mellifera ligustica*
- 19-A. *mellifera sicula*
- 20-A. *mellifera macadonica*
- 21-A. *mellifera sahariensis*
- 22-A. *mellifera intermissa*
- 23-A. *mellifera iberica*
- 24-A. *mellifera mellifera*

۴-۱ ویژگی‌های زنبور عسل نژاد ایرانی (*A. m. meda*)

از نه گونه زنبور عسل موجود در دنیا، دو گونه *A. mellifera* و *A. florea* در ایران وجود دارند. *A. mellifera* در تمام نقاط ایران به جز مناطق کویری انتشار داشته [۵۷] و توده موجود در ایران همان *A. m. meda* می‌باشد و از نژادهای اروپایی وارد شده به ایران فاصله زیادی دارد [۷].
 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 بندرعباس وجود نداشت [۲۶].

در این نژاد رنگ بدن در قسمت شکم زرد متمایل به قهوه‌ای تیره و سه حلقه اول شکم روشن تر است. تمایل به نیش زدن و بچه دادن و جمع‌آوری بره موم زیاد است. مقدار غذای لازم برای زمستان گذرانی آن از همه نژادها کمتر است و از لحاظ رشد بهار خوب بوده و در اردیبهشت و اوایل خردادماه به حداکثر رشد سالانه خود می‌رسد. نژاد ایرانی زنبور عسل تمایل به غارت دارد و زمستان‌های سرد را به خوبی تحمل می‌کند [۲۶ و ۶]. عملکرد این نژاد در حد پایینی بوده ولی با توجه به مصرف کم غذا در زمستان و زمستان گذرانی خوب، برای زنبوردار اقتصادی است [۲۶ و ۷].

زنبور عسل نژاد ایرانی در ایران، شمال عراق و جنوب شرق ترکیه و حتی شمال سوریه وجود دارد که این مناطق در شرقی‌ترین قسمت پراکنش گونه زنبور عسل معمولی است [۱۳ و ۱۴]. این نژاد از نظر خصوصیات مورفولوژیک ظاهراً شبیه نژاد ایتالیایی است و از نظر خصوصیات بیولوژیک نیز نژادی است با تمایل به بچه دهی زیاد، قدرت جمع‌آوری بره موم زیاد، قدرت زمستان گذرانی خیلی خوب و رفتار تهاجمی بالا که مجموعاً این نژاد را از سایر زیر گونه‌های منطقه متمایز می‌سازد [۲۶ و ۶].

۵-۱ پراکنش جغرافیایی و تکامل زنبور عسل

جمعیت‌های مختلف زنبور عسل (*A. mellifera*) به طور طبیعی در سراسر آفریقا، اروپا و آسیای غربی گسترش یافته است. بر اساس اندازه‌گیری‌های شکل شناسی ۲۴ زیر گونه متفاوت شناسایی و در چهار شاخه تکاملی^۱ گروه‌بندی شده‌اند. این چهار شاخه تکاملی عبارت‌اند از شاخه A (آفریقایی)، شاخه M (اروپای غربی)، شاخه C (جنوب شرقی اروپا) و شاخه O (خاورمیانه) [۱۴]. بر اساس مطالعات DNA میتوکندریایی یک شاخه تکاملی دیگر نیز تحت عنوان شاخه Y (اتیوپی) معرفی شد [۴۷]. دلیل تکامل زیر گونه‌های مختلف این گونه نیز مربوط به پراکنش وسیع جغرافیایی آن می‌باشد. در مطالعه‌ای مشخص شده است که

حتی زیرگونه‌هایی با بیش‌ترین تفاوت و فاصله از یکدیگر متعلق به یک گونه (*A. mellifera*) می باشند [۱۳].

ویژگی‌های خاص جنس *Apis* در اوایل دوره تریاری^۱ ظهور پیدا کرد. این تیپ اصلی از جنس *Apis*^۲ بدون تفاوت‌های مهم مورفولوژیکی و اکولوژیکی تاکنون حفظ شده است. این تیپ حفظ‌شده از جنس *Apis* در پایان دوره تریاری به دلیل رو به زوال رفتن شرایط آب و هوایی، در اروپا منقرض شد و از آن زمان پراکنش این گونه به محیط‌هایی با شرایط آب و هوایی گرمسیری محدود شد [۱۳ و ۱۴]. در اوایل دوره پلیستوسن^۳ (۱-۲ میلیون سال قبل) در مناطقی با شرایط آب و هوایی معتدل یک سری ویژگی‌های رفتاری جدیدی مثل حفر آشیانه، حفظ درجه حرارت کندو و رقص جهت برقراری ارتباط با افراد کلنی، در تیپ اصلی تکامل یافت. افراد زیرخانواده *Apinae* به واسطه این ویژگی‌های رفتاری توانستند مستقل از تأثیر شرایط محیطی گسترش وسیعی پیدا کنند و مجدداً در اروپا مستقر شوند و در آفریقا نیز استقرار پیدا کنند و به این ترتیب در مورفولوژی و اکولوژی زیرگونه‌ها، گوناگونی زیادی بوجود آمد. به دلیل سازش زیاد^۴ و انعطاف‌پذیری تیپ‌های جدید جغرافیایی، آنها توانستند به سرعت در سرتاسر مناطق آب و هوایی موجود در دنیای جدید پراکنده و گسترش یابند [۱۳].

بر اساس یک نظریه، دو گونه بسیار شبیه به هم جنس *Apis* با نام‌های علمی *A. mellifera* و *A. cerana* در سواحل جنوبی دریای خزر در دوره پلیستوسن از یکدیگر تفکیک شدند و *A. mellifera* در غرب و *A. cerana* در شرق گسترش پیدا کرد [۱۳]. زنبور عسل غربی *A. mellifera* برای زندگی در شرایط آب و هوایی مختلف مانند آب و هوای سرد، معتدل، گرمسیری، مرطوب و نیمه بیابانی سازش پیدا کرده است. بعضی از زیرگونه‌های زنبور عسل غربی مانند *A. m. anatoliaca* توانایی گذراندن زمستان‌های سرد و طولانی را دارا می‌باشند [۲۶ و ۴۰].

۱- Tertiary period

۲- Original *Apis* type

۳- Pleistocene period

۴- High fitness

۶-۱ وضعیت جمعیت‌های زنبور عسل در خاورمیانه

نژادهای زنبور عسل موجود در خاورمیانه شامل، *A. m. syriaca*، *A. m. anatoliaca*، *A. m. adami*، *A. m. caucasica*، *A. m. cyprica*، *A. m. armeniaca* و *A. m. meda* می‌باشند (شکل ۱-۱) [۱۳]. در میان این گروه زیرگونه *A. m. syriaca* و *A. m. cyprica* در مقایسه با زیرگونه‌های موجود در شمال به طور قابل توجهی کوچک و زردرنگ هستند.



شکل ۱-۱. پراکنش نژادهای گونه *A. mellifera* در خاورمیانه [۱۳].

خاورمیانه منطقه بزرگی برای ایجاد گوناگونی و تکامل زیرگونه‌های *A. mellifera* می‌باشد [۱۳]. خاورمیانه منطقه‌ای با شرایط زیست محیطی و آب و هوایی گوناگون است که زیرگونه‌های مشخصی از زنبور عسل در آن تکامل پیدا کرده‌اند [۱۳، ۱۴، ۳۹، ۴۰ و ۴۲].

آناتولی^۱ بخش آسیایی ترکیه می‌باشد که به چند دلیل نقش مهمی در تکامل زیرگونه‌های زنبور عسل ایفا می‌نماید. این منطقه دارای شرایط آب و هوایی و زمین‌شناسی متنوعی می‌باشد و ساختار توپوگرافی آن از

۱- Anatolia

یک منطقه به منطقه دیگر متفاوت است که پناهگاهی برای دوران یخبندان بوده است. آناتولی به شکل یک پل طبیعی بین آسیا، آفریقا و اروپا می‌باشد که نژادهای مختلف زنبور عسل به واسطه آن پراکنده شده، تبادل ژن انجام داده و سپس با شرایط آب و هوایی مختلف و فلور گیاهی آن مناطق سازش پیدا کرده‌اند. ترکیه با داشتن ۴/۸ میلیون کندو بعد از چین دارای بیشترین تعداد کلنی زنبور عسل در دنیا می‌باشد [۱۴]. زنبوران عسل در این منطقه با شرایط اکولوژیکی متنوعی سازش پیدا می‌کنند که شامل سه ناحیه گیاه-جغرافیای^۱، اروپایی-سیبریایی، مدیترانه ای و ایران-تورانی می‌باشد. برهمکنش بین زنبوران و ویژگی گیاهی منطقه همراه با ایجاد سازش‌های مرفولوژی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و رفتاری باعث ایجاد چندین اکوتیپ از زنبور عسل می‌شود [۱۳].

بر مبنای ویژگی‌های مورفومتری جمعیت‌های زنبور عسل ترکیه به دو گروه بزرگ تقسیم شد. اولین گروه شامل زنبورهای عسل واقع در تراس^۲ (بخش اروپایی ترکیه) با نام علمی *A. m. carnica* می‌باشد و دومین گروه شامل زیرگونه‌هایی است که در آناتولی قرار گرفته‌اند. در مطالعه‌ای دیگر بر روی جمعیت‌های زنبور عسل ترکیه سه گروه^۳ متمایز شناسایی شدند. سومین گروه که نماینده‌ای از زنبورهای نژاد ایرانی *A. m. meda* بود به نخجوان تعلق داشت. آنالیزهای DNA میتوکندریایی، جمعیت‌های زنبور عسل منطقه Hatay واقع در ترکیه را با زیرگونه‌های *A. m. lamarckii* و *A. m. meda* در یک گروه قرارداد [۴۸ و ۱۳] همچنین در مطالعه‌ای مشخص شد که جمعیت‌های زنبور عسل موجود در منطقه Hatay به شاخه تکاملی (O) تعلق دارد. با استفاده از داده‌های شکل شناسی جمعیت‌های زنبور عسل ایران، آناتولی شرقی و آناتولی مرکزی باهم مقایسه شدند. نتایج نشان داد که این جمعیت‌ها در سه گروه متمایز قرار می‌گیرند ولی در جمعیت‌های زنبور عسل نژاد ایرانی زیرجمعیت‌های جداگانه ای شناسایی نشد [۱۴].

زیرگونه *A. m. meda* در ایران، عراق و جنوب شرقی ترکیه پراکنده شده است. این زیرگونه یکی از وسیع‌ترین پراکنش‌ها را در میان زیرگونه‌های زنبور عسل دارد [۱۳].

۷-۱ انواع نشانگرها جهت بررسی تنوع ژنتیکی

هر صفتی که بین افراد، متفاوت باشد، ناشی از تفاوت موجود بین ردیف DNA کروموزوم‌های آن‌هاست که به نتاج نیز منتقل می‌شود. حتی صفاتی که تحت تأثیر شرایط محیط نیز به صورت متفاوت بروز می‌کنند، بازتاب تفاوت‌های موجود در ردیف‌های DNA هستند. این تفاوت‌ها می‌توانند به عنوان نشانه

۱- phytogeographics

۲- Thrace

۳- cluster

یا نشانگر ژنتیکی به کار گرفته شوند. تفاوت‌های مذکور تظاهر متفاوت دارند، برخی قابل رویت هستند که به این شکل از نشانگرها، نشانگرهای مورفولوژیک گویند. برخی از تفاوت‌ها در سطح پروتئین قابل بررسی بوده که به نشانگرهای بیوشیمیایی معروف هستند. برخی تفاوت‌ها در سطوح مختلف DNA هیچ تظاهری ندارند و تنها با بررسی مولکول DNA قابل ارزیابی هستند و به نشانگرهای مولکولی DNA معروف اند [۱۱].

۱-۷-۱ نشانگرهای مورفولوژیک

تفاوت‌های فنوتیپی افراد که موروثی باشند اغلب به عنوان نشانگرهای فنوتیپی به کار گرفته می‌شوند. این دسته از نشانگرها معمولاً تحت تأثیر ژن‌های کیفی بوده و ثمره جهش می‌باشند و قدمتی بسیار زیاد دارند. این نشانگرها معایبی دارند که عبارت‌اند از:

الف- اغلب دارای توارث غالب- مغلوب بوده و اثرات اپیستازی و پلیوتروپی دارند.

ب- تحت تأثیر شرایط محیطی و مرحله رشد موجود قرار می‌گیرند.

ج- فراوانی و تراکم کمی دارند.

د- گاهی برای بروز آنها نیاز به سپری شدن زمان زیادی می‌باشد.

ر- اساس ژنتیکی بسیاری از آنها هنوز مشخص نشده است [۱۱و۸].

۲-۷-۱ نشانگرهای بیوشیمیایی

این نشانگرها چند شکلی‌هایی هستند که در سطح پروتئین تظاهر می‌یابند. در واقع این نشانگرها پروتئین‌هایی هستند که ثمره بیان متفاوت ژن‌ها می‌باشند. آلوزایمها نمونه‌ای از این نشانگرها می‌باشند که در مطالعات ژنتیکی جمعیت گیاهان و جانوران بسیار استفاده شده‌اند، اما در سالیان اخیر کاربرد آنها در مقایسه با نشانگرهای DNA کاهش چشم‌گیری داشته است. به دلیل اینکه میزان تنوع مشاهده شده در این نشانگرها به جایگزینی‌های ناهمنام در ژن‌های رمزگذار پروتئین‌ها بستگی دارد، فقط بخشی از تنوع موجود در ژنوم را نشان می‌دهند [۶۹و۴].