

(Pagal priemonę „Moksliniai tyrimai bitininkystės sektoriuje“ atlikto tyrimo ataskaitos forma)

**VALSTYBINIS MOKSLINIŲ TYRIMŲ INSTITUTAS GAMTOS TYRIMŲ CENTRAS**

(nurodomas tyrimą atlikusios institucijos pavadinimas)

**I. PAGRINDINIAI DUOMENYS APIE TYRIMĄ**

Pavadinimas

(Nurodomas tyrimo pavadinimas, ne daugiau kaip 100 spaudos ženklų)

**Dviejų *Apis mellifera* bičių porūšių surinktų žiedadulkių spektrų palyginimas**

Kryptis

(Nurodoma, kuriai kryptčiai pagal 2023–2027 m. strateginio plano sektorinės intervencinės priemonės priskiriamas tyrimas)

Projekto tematika atitinka dvi kryptis:

8.3.2. bičių produktų savybių tyrimai

8.3.3. bičių biologijos, veislininkystės, ekologijos ir genetiniai tyrimai

**II. TYRIMO VYKDYTOJAI**

(Aprašomi asmenys, kurie vykdė tyrimą, surašomi nurodyti duomenys)

| Eil. Nr.               | Pareigybė atliekant tyrimą (pasirenkama) | Mokslo laipsnis  | Vardas, pavardė          | Telefonas, el. paštas                       | Darbovietės pavadinimas, pareigos   |
|------------------------|--|------------------|--------------------------|---|---|
| Tyrimo vadovas         |  |                  |                          |   |   |
| 1.                     | Tyrėja pagal autorinę sutartį            | Dr.              | Laima Blažytė-Čereškienė | +37068584622,<br>laima.blazyte@gamtc.lt     | Valstybinis mokslinių tyrimų institutas Gamtos tyrimų centras (GTC), vyresnioji mokslo darbuotoja |
| Kiti tyrimo vykdytojai |  |                  |                          |   |   |
| 2.                     | Tyrėjas pagal autorinę sutartį           | Prof. Habil. dr. | Vincas Būda              | +37068534539<br>vincas.buda@gamtc.lt        | GTC, vyriausiasis mokslo darbuotojas  |
| 3.                     | Tyrėja pagal autorinę sutartį            | Dr.              | Rasa Čepulytė            | +37060312688<br>Rasa.cepulyte@gamtc.lt      | GTC, vyresnioji mokslo darbuotoja   |
| 4.                     | Tyrėja pagal autorinę sutartį            | Dr.              | Laura Gedminienė         | +37066365794<br>Laura.gedminiene@gamtc.lt   | GTC, mokslo darbuotoja  |
| 5.                     | Tyrėjas pagal autorinę sutartį           |                  | Martynas Skulskis        | +37069619199<br>martynas.skulskis@gmail.com | GTC, doktorantas  |

**III. SANTRUMPOS IR SUTARTINIAI ŽENKLAI**

| Santrumpa ar sutartinis ženklas | Paaškinimas |
|---------------------------------|-------------|
|---------------------------------|-------------|

|          |  |
|----------|--|
| SNP      | vieno nukleotido polimorfizmo (angl. <i>single nucleotide polymorphism</i> ) |
| COI–COII | citochromo c oksidazės I ir II subvienetai                                   |
| DNR      | dezoksiribonukleorūgštis   |

#### IV. PAGRINDINIŲ REZULTATŲ SANTRAUKA

*Glaustai pateikiami pagrindiniai tyrimo rezultatai lietuvių kalba (ne daugiau kaip 4 000 spaudos ženklų).* Vakarinė medunešė bitė (*Apis mellifera*) yra plačiai paplitusi rūšis, kurios porūšiai formavosi skirtingose klimatinėse ir augalijos zonose, prisitaikydami prie vietinių aplinkos sąlygų. Lietuvoje, be vietinio *A. m. mellifera*, bitininkystėje naudojami ir įvežtiniai porūšiai (*A. m. carnica*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*, buckfast hibridai). Vietinis porūšis laikomas geriausiai prisitaikiusiu prie vietos sąlygų, tačiau porūšių mitybos strategijų skirtumai toje pačioje buveinėje iki šiol menkai ištirti. Tyrimo tikslas – palyginti *A. m. carnica* ir *A. m. mellifera* surinktų žiedadulkių spektrą skirtingose ekologinėse aplinkose. Morfometrinių ir SNP analizės atskleidė, kad abi porūšių grupės yra stipriai hibridizuotos su kitų porūšių bitėmis. Iš viso identifikuotos 113 augalų rūšių žiedadulkės: didžiausia įvairovė nustatyta urbanizuotose teritorijose, mažiausia – žemės ūkio vietovėse. Nepaisant hibridizacijos, *A. m. mellifera* daugelyje vietovių rinko žiedadulkes iš daugiau augalų rūšių nei *A. m. carnica*. Miškuose vyravo *Vicia* tipo žiedadulkės, tačiau *A. m. carnica* dažniau rinko *Brassica napus* tipo žiedadulkes, rodančias lankymąsi už miško ribų. Kai kuriuose mėginiuose aptiktos augalams patogeninių grybų sporos. Tyrimas parodė, kad porūšių mitybos strategijos skiriasi ir šiuos skirtumus gali lemti tiek genetinė sudėtis, tiek aplinkos sąlygos.

#### V. TURINYS

##### ĮVADAS

##### 1. TYRIMO METODAI

- 1.1. Tyrimo objektas ir vietos
- 1.2. Genetiniai hibridizacijos tyrimai - vieno nukleotido polimorfizmo analizė
- 1.3. Morfometriniai tyrimai
- 1.4. Žiedadulkių tyrimai
  - 1.4.1. Mėginių atrinkimas tyrimams
  - 1.4.2. Mėginių analizė
  - 1.4.3. Žiedadulkių atpažinimas

##### 2. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

- 2.1. Bičių šeimų hibridizacijos lygio nustatymas
- 2.2. Žiedadulkių analizė

##### IŠVADOS IR REKOMENDACIJOS

##### NAUDOTOS LITERATŪROS SĄRAŠAS

*ĮVADAS (glaustai pristatomas tyrimo tikslas, objektas ir nurodomi uždaviniai, kuriuos buvo siekiama išspręsti; ne daugiau kaip 2 000 spaudos ženklų).*

Vakarinė medunešė bitė (*Apis mellifera*) yra plačiai paplitusi rūšis, aptinkama įvairiose klimatinėse ir augalijos zonose. Tokiose sąlygose formavosi izoliuotos populiacijos, kurios evoliucijos eigoje diferencijavosi į skirtingus porūšius, pasižyminčius specifine elgsena ir biologinėmis savybėmis, prisitaikiusiomis prie vietinių aplinkos sąlygų (Ruttner, 1988; Han et al., 2012). Vien Europoje identifikuota dešimt *A. mellifera* porūšių (De la Rúa et al., 2009), kurių atsiradimą nulėmė ilgalaikės adaptacijos prie konkretaus klimato, vietinės augalijos ir geografinės izoliacijos. Šios adaptacijos lėmė skirtingas mitybos strategijas, susijusias su įvairių maisto šaltinių – ypač žiedadulkių ir nektaro – naudojimu.

Lietuvoje bitininkystėje dažniausiai naudojami šie porūšiai: *A. m. carnica*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*, *A. mellifera* × buckfast hibridai bei jų mišrūnai. Dauguma šių porūšių kilę iš pietinių

regionų ar kalnuotų vietovių ir buvo dirbtinai selekcionuoti siekiant padidinto produktyvumo, ramaus elgesio bei kitų žmogui palankių savybių.

Lietuva patenka į istorinį *A. m. mellifera* paplitimo arealą, todėl šis porūšis yra geriausiai prisitaikęs prie vietinių aplinkos sąlygų. Manoma, kad jis pasižymi platesniu maisto šaltinių spektru, įskaitant didesnę vietinių augalų įvairovę. Nepaisant to, mitybos strategijų skirtumai tarp skirtingų *A. mellifera* porūšių, ypač gyvenančių toje pačioje buveinėje, yra menkai ištirti. Kai kurie tyrimai, pavyzdžiui, atlikti Pietų Amerikoje, atskleidė, kad Europos ir Afrikos bičių porūšiai naudoja skirtingus nektaro ir žiedadulkių šaltinius (Villanueva, 1994; Basualdo et al., 2000). Vis dėlto Vokietijoje atliktas tyrimas, lyginęs keturis porūšius (*A. m. capensis*, *A. m. ligustica*, *A. m. carnica*, *A. m. mellifera*), skirtumų žiedadulkių spektruose neparodė (Köppler et al., 2007). Pažymėtina, kad abiem atvejais buvo tiriamos bičių šeimos, introdukuotos iš kitų geografinių regionų ir neadaptuotos vietos sąlygoms.

Šiame tyrime palyginome dviejų *A. mellifera* porūšių motinines linijas turinčių bičių surinktų žiedadulkių spektrus skirtingose ekologinėse aplinkose. Tyrimui pasirinkti du porūšiai: vietinis, Lietuvos aplinkai prisitaikęs *A. m. mellifera* ir įvežtinis *A. m. carnica*, kilęs iš kalnų regionų.

Tikslas – palyginti dviejų vakarinių medunešių bičių *Apis mellifera* porūšių (*A. m. carnica* ir *A. m. mellifera*) surinktų žiedadulkių spektrą.

Uždaviniai:

- 1) Sudaryti dviejų porūšių *A. m. carnica* ir *A. m. mellifera* bičių šeimas ir įkurdinti jas tuose pačiuose bityno skyriuose skirtingose ekologinėse aplinkose.
- 2) Atlikti bičių motinų grynumo tyrimus panaudojant vieno nukleotido polimorfizmo (angl. *single nucleotide polymorphism*, *SNP*) metodus.
- 3) Atlikti bičių šeimų morfometrinių ir genetinių analizę bei įvertinti jų atitikimą porūšio parametrui.
- 4) Tyrimo metu kiekvieną mėnesį paimti bičių renkamų žiedadulkių mėginius ir atlikti jų mikroskopinę analizę, nustatyti jų botaninę sudėtį, dominuojančias žiedadulkes, tolygumą ir įvairovę.
- 5) Atlikti dviejų porūšių bičių skirtingose ekologinėse aplinkose surinktų žiedadulkių palyginimą.
- 6) Pateikti išvadas apie galimus bičių porūšių mitybos strategijų skirtumus.

DĖSTOMOJI ATASKAITOS DALIS (išdėstoma tyrimų metodika, įvertinamas jos patikimumas ir tikslumas, išvardijami pagal paraiškoje pateiktą kalendorinį darbų planą numatyti atlikti darbai, nurodoma, kurie darbai atlikti, kurie ne; dėl neatliktų darbų paaiškinama, kodėl jie neatlikti. Pateikiami svarbiausi tyrimo rezultatai (lyginant su kitų tyrėjų rezultatais), nurodoma jų reikšmė. Jei gauti rezultatai išdėstyti ataskaitos prieduose pateikiamų mokslinių publikacijų kopijose, priimtų ar parengtų spaudai straipsnių ir kt. kopijose, ataskaitoje jie tik cituojami, t. y. pažymimi nuorodose ar išnašose (ataskaitos apimtis neribojama). Ataskaitoje turi būti pateikta tik ta informacija, kurią galima skelbti viešai).

## 1. TYRIMO METODAI

### 1.1. Tyrimo objektas ir vietos

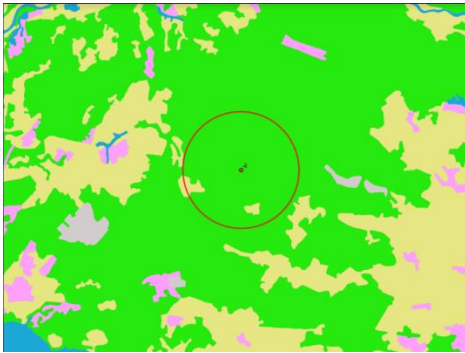
Tyrimams buvo pasirinkta 30 bičių šeimų, iš kurių 15 turėjo *A. m. mellifera* ir 15 – *A. m. carnica* motinos liniją. *A. m. mellifera* šeimų motinos buvo išaugintos iš vietinio porūšio žinomo mitotipo motinų ir susiporavę Dzūkijos nacionalinio parko teritorijoje esančiame motinų poravimo punkte. *A. m. carnica* motinos įsigytos iš šio bičių porūšio motinų veisėjo, importuojančio bičių motinas iš Lenkijos ir poruojančio motinas Kauno rajone. Motinų grynumui nustatyti atlikta genetinė SNP analizė ir bičių šeimų darbininkės vertintos pagal morfometrinius požymius.

Siekiant palyginti dviejų bičių porūšių lankomus augalus ir iš jų surenkamas žiedadulkes, buvo suformuoti 5 skyriai po 6 bičių šeimas (viename skyriuje po 3 *A. m. mellifera* ir 3 *A. m. carnica* šeimas).

Bityno skyriams įkurdinti, buvo pasirenkamos skirtingos ekologinės aplinkos: natūralioje/miško, žemės ūkio ir urbanizuotoje teritorijose. Urbanizuotoje teritorijoje - Kauno mieste, siekiant šiuos du bičių porūšius palyginti 3 skirtingose miesto vietovėse, atsižvelgiant į skirtingas miesto zonas pasirinktos: miegamasis rajonas; judri miesto teritorija; pramoninė miesto zona. Visos teritorijos buvo pasirinktos vertinant tyrimais pagrįstą bičių skrendamą nuo avilio atstumą - 3 km (atstumo nuo avilio spindulys).

Pasirinktos teritorijos:

1. Natūrali/miško - teritorija Kaišiadorių r. sav., Užusalių sen. (koordinatės: 54.9627, 24.2931). Teritorijoje vyraavo miškai 96,8% ir tik 3,19% sudarė žemės ūkio žemė. Teritorija neapėmė urbanizuotų vietų (1 pav.). Bičių laikymas buvo suderintas ir išduotas leidimas numatytoje teritorijoje laikyti bites.



1 pav. Natūrali/miško - teritorija Kaišiadorių r. sav., Užusalių sen. (koordinatės 54.9627, 24.2931) pagal CORE žemėlapi.

2. Žemės ūkio – teritorija Kaišiadorių r. sav., Rusonių k. pakraštys (koordinatės: 54.8425, 24.2932). Teritoriją sudaro: 89% žemės ūkio žemė, 7% miškas, 3,27% urbanizuotos teritorijos ir 0,02% vanduo (2 pav.). Bičių skraidomu spinduliu beveik nebuvo urbanizuotų teritorijų, o auginamos žemės ūkio kultūros išsiskyrė savo įvairovė.



2 pav. Žemės ūkio - teritorija Kaišiadorių r. sav. (koordinatės: 54.8425, 24.2932) pagal CORE žemėlapi.

3. Urbanizuota teritorija – vietos identifikuotos Kauno mieste, vadovaujantis ta pačia metodika pagal bičių nuskrendamą atstumą nuo avilio (3 pav.). Miesto teritorija, supanti tyrimo vietą, daugiausia buvo gyvenamoji, tačiau net Kauno miesto gyvenamieji rajonai yra iš esmės žali, nes dalis individualių namų turi sodus. Apylinkėse taip pat yra keli viešieji parkai, sporto aikštynai ir vietovės, kuriose bitės galėtų prisidėti prie augalų apdulkinimo.



3 pav. Pasirinktos trijų tipų urbanizuotos teritorijos Kauno miesto sav. pagal CORE žemėlapi.

- 1) pirmoji pasirinkta urbanizuotos teritorijos vieta buvo miegamasis Šilainių mikrorajonas, kuriame vyrauja daugiabučiai ir individualieji namai. (koordinatės: 54.9205, 23.8472). Teritoriją sudarė: urbanizuotas plotas 66,80%; žemės ūkio plotas 11,77%; miško plotas 8,13%; vanduo 7,61%.
- 2) antroji pasirinkta urbanizuotos teritorijos vieta buvo Žaliakalnis, aviliai pastatyti istoriniame Jono Prapuolenio namo kieme, šalia Kauno klininkų (koordinatės: 54.9161, 23.9231). Teritorijoje vyrauja didelis eismas, aplink yra įvairios paskirties pastatų, vyrauja individualūs namai su tam tikrais ūkinės veiklos požymiais (kiemuose auga vaismedžiai, gėlynai ir pan.). Teritoriją sudarė: urbanizuotas plotas 95%; miško plotas 1%; vanduo 3,5 %.
- 3) trečiaji vieta buvo pasirinkta rytinė miesto teritorija, kurioje vyrauja pramoninės paskirties objektai, aviliai pastatyti Draugystės gatvėje (koordinatės: 54.9070, 23.9973). Teritoriją sudarė: urbanizuotas plotas 83,6 %; žemės ūkio plotas 5,5%; miško plotas 7,07%; vanduo 3,7%.

## 1.2. Genetiniai hibridizacijos tyrimai - vieno nukleotido polimorfizmo analizė

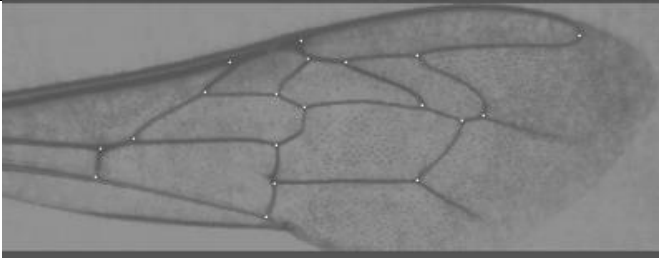
Vieno nukleotido polimorfizmo (SNP) analizė buvo atlikta siekiant nustatyti motinų grynumą arba hibridizacijos lygį branduolinėje DNR. SNP analizei iš kiekvienos bičių šeimos buvo imama 30 tranų lėliukių iš uždengtų korio akelių. Lėliukės buvo transportuojamos į laboratoriją etanolyje. Nukirpus kiekvieno trano lėliukės po vieną anteną ir jas sudėjus į 200  $\mu$ L etanolio 1,5 mL mėgintuvėliuose (Eppendorf, Vokietija), antenų mėginiai išsiųsti tyrimui. Tyrimas leido įvertinti daugiau nei 70 000 polimorfinių vietų bičių genome. Šis metodas užtikrina aukštą genetinę variacijos aptikimo tikslumą ir yra ypač tinkamas genetinio grynumo bei introgresijos laipsnio vertinimui.

SNP analizė buvo atlikta laikantis standartizuotų genotipavimo procedūrų Genų diagnostikos centre (Vokietija) užsakant paslaugą įmonėje „Apigenix“ (Šveicarija). Gauti duomenys buvo analizuojami pasitelkus bioinformatinius metodus, siekiant identifikuoti genetinius žymenis, būdingus skirtingiems bičių porūšiams.

## 1.3. Morfometriniai tyrimai

Bičių darbininkių mėginiai buvo užpilti etanoliu ir analizuoti laboratorijoje. Vieną mėginį sudarė 20–30 bičių darbininkių. Sparnų preparatų nuotraukos buvo parengtos naudojant stereomikroskopą „Motic SMZ-140“ su fotografavimo ir matavimo įranga.

Morfometriniai tyrimai atlikti naudojant programą Deepwings (<https://deepwings.ddns.net/>), kuri, įkėlus sparnų nuotraukas, automatiškai pažymi sparno gyslų susikirtimo taškus, apskaičiuoja tris kiekvieno sparno parametrus ir pateikia porūšio tikimybę (4 pav.). Pagal pateiktą tikimybę, vertinta bičių šeimos grynumo/susimišrinimo laipsnis.



4 pav. Deepwings programoje ant sparno nuotraukos sudėta 19 taškų, naudojamų analizeje.

## 1.4. Žiedadulkių tyrimai

### 1.4.1. Mėginių atrinkimas tyrimams

Žiedadulkių mėginiai buvo imami (2025 liepos 1-2 d.) naudojant bičių žiedadulkių rinktuvus. Iš kiekvienos bičių šeimos (15 *A. m. mellifera* ir 15 *A. m. carnica*), kiekvienoje tyrimų vietoje (miškas, žemės ūkio ir 3 urbanizuotos teritorijos) surinkta po vieną žiedadulkių mėginį. Iš viso surinkta 30 žiedadulkių mėginių, kuriems suteikti kodai:

- MM4, MM5, MM6 – *A. m. mellifera*, miškas;
- MC35, MC37, MC56 – *A. m. carnica*, miškas;
- LC38, LC78, LC79 - *A. m. carnica*, žemės ūkio teritorija;
- LM4, LM5K, LM6 - *A. m. mellifera*, žemės ūkio teritorija;
- KC58, KC61, KC97 – *A. m. carnica*, urbanizuota-1;
- KM4, KM5, KM6 - *A. m. mellifera* urbanizuota -1;
- CC18, CC82, CC86 - *A. m. carnica*, urbanizuota -2;
- CM4, CM5, CM6 - *A. m. mellifera*, urbanizuota -2;
- GC57, GC81, GC85 – *A. m. carnica*, urbanizuota -3;
- GM4, GM5, GM6 - *A. m. mellifera* urbanizuota -3.

Surinkti mėginiai buvo transportuoti į VMTI GTC Cheminės ekologijos ir elgsenos laboratoriją ir užšaldyti -20°C temperatūroje. Iš kiekvieno mėginio ketvirčiavimo būdu atrinkti 2 g žiedadulkių ėminiai. Šių ėminių žiedadulkės paskleidus jas ant Petri lėkštelės suskirstytos pagal spalvas (5 pav.). Kiekvienos spalvos grūdelių kiekis buvo suskaičiuotas ir duomenys įrašyti į mėginių registracijos žurnalą.



5 pav. 2 g žiedadulkių ėminio suskirstymas Petri lėkštelėje pagal spalvą.

### 1.4.2. Mėginių analizė

Kiekvienas 2 g mėginys, suskirstytas pagal spalvą, buvo analizuojamas naudojantis šviesiniu mikroskopu, analizuojant bent po du vienos spalvos grūdelius, siekiant patikrinti ar tos pačios spalvos grūdeliai yra sudaryti iš to paties augalo žiedadulkių. Esant nesutapimam, kartojama analizė, kol ištiriamas pilnas grūdeliuose esančių žiedadulkių spektras. Kiekvieno grūdelio tyrimui imta pusės grūdelio medžiaga (6 pav.). Medžiaga patalpinama ant stikliuko, sumaišoma su glicerinu kol grūdelis visiškai išsiskirsto glicerine ir uždengiama dengiamuoju stikliuku. Kiekvienas žiedadulkių rutuliukas tirtas x20-80 objektyvais, padidinančiais vaizdą iki 200 – 400 – 800 – net 1000 kartų. Mėginys peržiūrimas preliminariai per visą paruoštą stikliuką, įvertinant bendrą žiedadulkių pasiskirstymą ant jo, paskui skaičiuojama ne mažiau nei 500 augalų žiedadulkių, maksimaliai įvertinant kiekvieno grūdelio žiedadulkių spektrinę sudėtį. Gauti duomenys surašomi į mėginių registracijos žurnalą.



6 pav. Žiedadulkių grūdelio ėminys ant stikliuko prieš užlašinant gliceriną (a), užlašinus glicerino (b) ir uždengus dengiamuoju stikliuku (c).

### 1.4.3. Žiedadulkių atpažinimas

Augalų žiedadulkės apibūdinamos, matuojamos ir fotografuojamos, siekiant išvengti galimų neatitikimų dėl panašių (giminingų) augalų žiedadulkių. Iš gautų susistemintų duomenų, buvo ruošiamos lentelės, kuriose pateikiamas žiedadulkių pasiskirstymas procentais. Žiedadulkių procentinė sudėtis skaičiuojama įvertinus žiedadulkių santykinį kiekį kiekviename grūdelyje, padauginus iš grūdelių skaičiaus. Į žiedadulkių dydį ir skaičių kiekviename grūdelyje neatsižvelgta, nes skirtingų augalų grūdelyje (pvz. itin mažų žiedadulkių *Echium plantagineum* ir didelių pvz. *Violaceae* ar *Onagraceae*) gali būti surinktas skirtingas žiedadulkių kiekis dėl šių žiedadulkių skirtingo dydžio. Taigi koncentracija skaičiuota pagal spektrinę sudėtį esančią tame  $\geq 500$  žiedadulkių kiekyje. Žiedadulkių atpažinimui naudota žiedadulkių duomenų bazės <https://www.palдат.org/>, <https://pollen.tstebler.ch/MediaWiki/index.php?title=Kategorie:Gattung>, <https://keys.landcareresearch.co.nz/nzbeepollen/key/nzbeepollen/media/html/9.htm>, knygos (Beug, 2004), žiedadulkių elektroninių nuotraukų katalogas, parengtas Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Žemdirbystės instituto autorių kolektyvo (vadovė Violeta Čeksterytė). Taip pat atitinkamai paruoštais augalų ėminiais. Atrinktų sezoninių augalų žiedadulkės surinktos kiekvieno skirtingo augalo žiedus patalpinus į mėgintuvėlį, įpylus kelis lašus glicerino ir stikline lazdele maišant kol nuo augalo atsiskirs žiedadulkės. Vėliau lašas paruošto augalo žiedadulkių ir glicerino preparato analizuojamas šviesiniu mikroskopu, jo žiedadulkės lyginamos su bičių suneštų žiedadulkių preparatais bei žiedadulkių atlasais.

Žiedadulkių mikroskopiniai atvaizdai fotografuoti VMTI kvartero tyrimų laboratorijoje esančio mikroskopo „Nicon Elipse Ci“ ir prie jo primontuota fotokamera su IC Measure 2.0.0.286 programine įranga naudojant įvairių padidinimą. Šioje kameroje yra įmontuota kalibruota matavimo skalė kuri leido gana tiksliai išmatuoti žiedadulkių poliarinės ašies ilgį, skersmenį. Žiedadulkės preparatuose būna išsidėsčiusios įvairiomis plokštumomis, todėl, siekiant stebėti įvairius žiedadulkių vaizdus (sienelės, paviršių), mikroskopas nuolat fokusuotas, derintas apšvietimas ir padidinimas naudojant skirtingus objektyvus pagal poreikį.

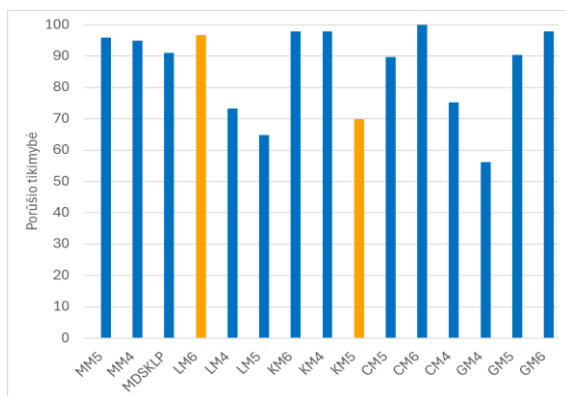
Daugelio žiedadulkių negalima identifikuoti iki genties ar rūšies, todėl tokie pavadinimai turėtų būti vartojami tik tuo atveju, jei jie buvo patikimai nustatyti. Priešingu atveju po mokslinio pavadinimo reikėtų pridėti pastabą, nurodant, kad terminas vartojamas platesne prasme, pvz. pridėdant žodį „tipas“ (žiedadulkės, kurios yra identiškios arba labai panašios savo forma ir morfologinėmis savybėmis, bet gali priklausyti ir kitai rūšiai). Jei nėra išsamių žinių arba nepavyko atlikti tikslesnio identifikavimo, žiedadulkės susietos su didesnėmis grupėmis (formomis arba tipais), arba dažniausiu atveju identifikuotos iki šeimos. Siekiant išreikšti augalų įvairovę, buvo pasirinkta prie galimo identifikuoto augalo prirašyti „tipas“.

## 2. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

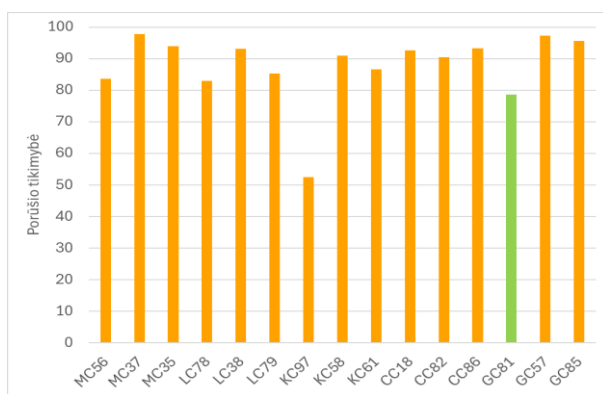
### 2.1. Bičių šeimų hibridizacijos lygio nustatymas

Atlikus morfometrinę analizę nustatyta, kad tiek *A. m. mellifera*, tiek *A. m. carnica* motinines linijas turinčios bičių šeimos yra susimišrinusios su kitų porūšių bitėmis.

DeepWings analizė parodė, kad iš 15 *A. m. mellifera* motinas turėjusių šeimų porūšio požymius atitinka 8 šeimų bitės darbininkės su 90% ir daugiau procentų tikimybe (7 pav.). Dviejų šeimų LM6 ir KM5 bitės labiau atitiko *A. m. carnica* morfometrinius požymius nei *A. m. mellifera*.



7 pav. Tirtų *A. m. mellifera* porūšio motinos liniją turinčių bičių šeimų atitikimo porūšiui tikimybė pagal DeepWings morfometrinę analizę. Mėlyna spalava - *A. m. mellifera* porūšiui; geltona – *A. m. carnica* porūšiui.

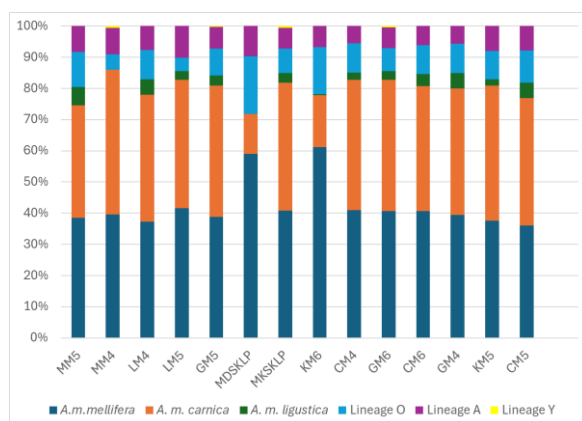


8 pav. Tirtų *A. m. carnica* porūšio motinos liniją turinčių bičių šeimų atitikimo porūšiui tikimybė pagal DeepWings morfometrinę analizę. Geltona spalava - *A. m. carnica* porūšiui; žalia – *A. m. ligustica* porūšiui.

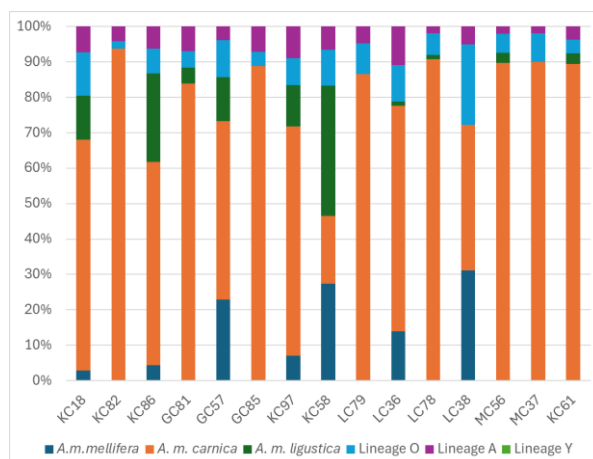
Atlikus 15 *A. m. carnica* motinas turėjusių šeimų analizę, paaiškėjo, kad su 90% ir daugiau procentų tikimybe porūšio požymius atitinka 9 šeimų bitės darbininkės (8 pav.). Vienos šeimos GC81 bitės labiau atitiko *A. m. ligustica* morfometrinius požymius nei *A. m. carnica*.

SNP analizė parodė, kad visos tirtų šeimų motinos (tranų SNP tyrimai parodo kokia yra bičių motina) pasižymi skirtingo laipsnio kitų porūšių genų introgresija.

*A. m. mellifera* motinose šio porūšio genų dalis buvo vidutiniškai 42% (36 % iki 61,1%). Visose šiose motinose *A. m. carnica* genai sudarė vidutiniškai 37 % (12,9% – 46,0%), O evoliucinės linijos (*A. m. caucasica*) - apie 10 %, *A. m. ligustica* - apie 3 % ir A evoliucinės linijos (galimai dėl kryžminimosi su *A. mellifera* x buckfast) - apie 7 % (9 pav.).



9 pav. Kitų porūšių medunešių bičių genų introgresija tirtose *A. m. mellifera* bičių šeimose.



10 pav. Kitų porūšių medunešių bičių genų introgresija tirtose *A. m. carnica* bičių šeimose.

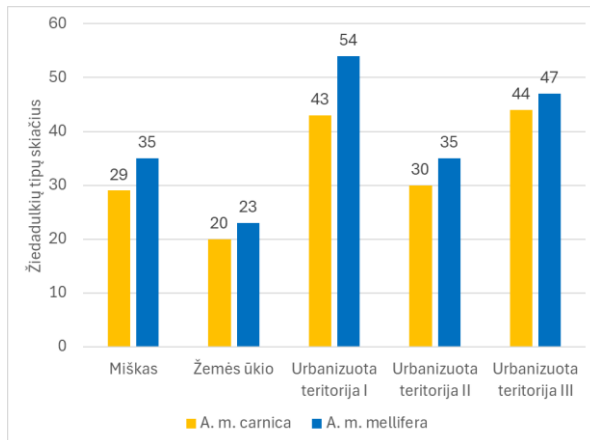
Iš 15 tirtų *A. m. carnica* motinų, dviejose kitų porūšių genų introgresijos laipsnis buvo mažesnis procentų, kitose vidutiniškai po 8 % sudarė *A. m. mellifera*, *A. m. ligustica* ir O evoliucinės linijos (*A. m. caucasica*) genai ir apie 6 % A evoliucinės linijos (galimai dėl kryžminimosi su *A. mellifera* x buckfast) genai (10 pav.).

Tyrimas atskleidė, kad tiek *A. m. mellifera*, tiek *A. m. carnica* tyrime dalyvavusios šeimos pasižymi gana dideliu hibridizacijos laipsniu ir neabejotinai šių porūšių genai veikia bičių šeimų elgseną ir žieddulkių rinkimo elseną.

## 2.2. Žieddulkių analizė

Iš bičių surinktų žieddulkių ėminiuose esančių žieddulkių sudėtis ir kiekis parodo, iš kokių augalų jos sunėtos, kokie augalai gausiausiai žydėjo ir traukė bites. Žieddulkių sudėtis atskleidžia atskirų regionų ir pasirinktų vietų gamtos ypatumus, agrokultūrinių, miško, laukų, miesto nektaringųjų augalų sudėtį bei bičių elgsenos ypatumus, maisto šaltinių pasirinkimą ir tuo pačiu medunešių bičių indėlį į augalų apdulkinimą. Viso tyrimo metu identifikuota 113 augalų, tarp kurių pavienės kelios rūšys nemedingųjų, galimai vėjo praneštų augalų (Migliniai (Poaceae), viksvos

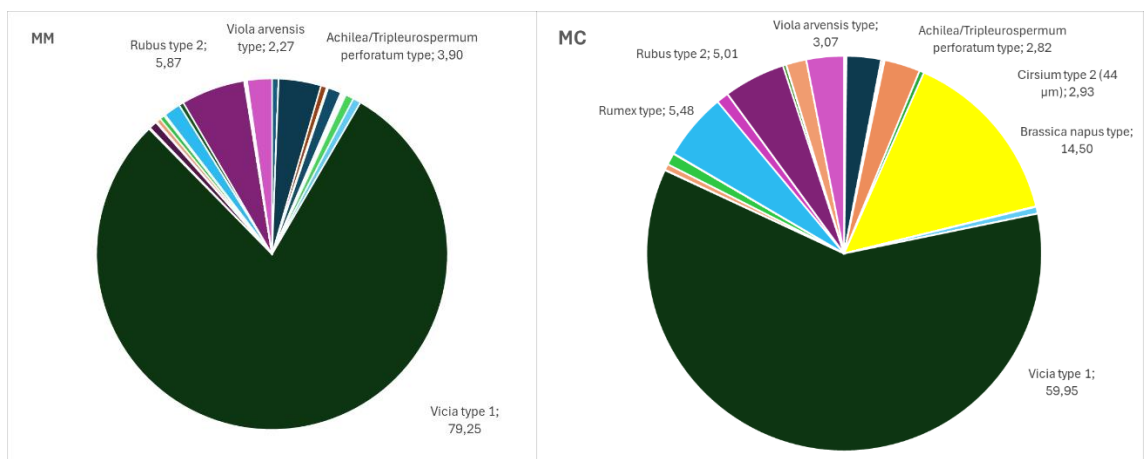
(Cyperaceae), pušies (*Pinus*) žiedadulkės. Nustatytų žiedadulkių tipų skaičius atskleidė, kad didžiausia žiedadulkių įvairovė buvo urbanizuotoje teritorijoje, mažesnė – natūralioje aplinkoje miške ir mažiausia – žemės ūkio teritorijoje (11 pav.).



11 pav. *A. m. mellifera* ir *A. m. carnica* motinos linijas turinčių bičių šeimų skirtingose ekologinėse aplinkose surinktų žiedadulkių tipų skaičiaus palyginimas.

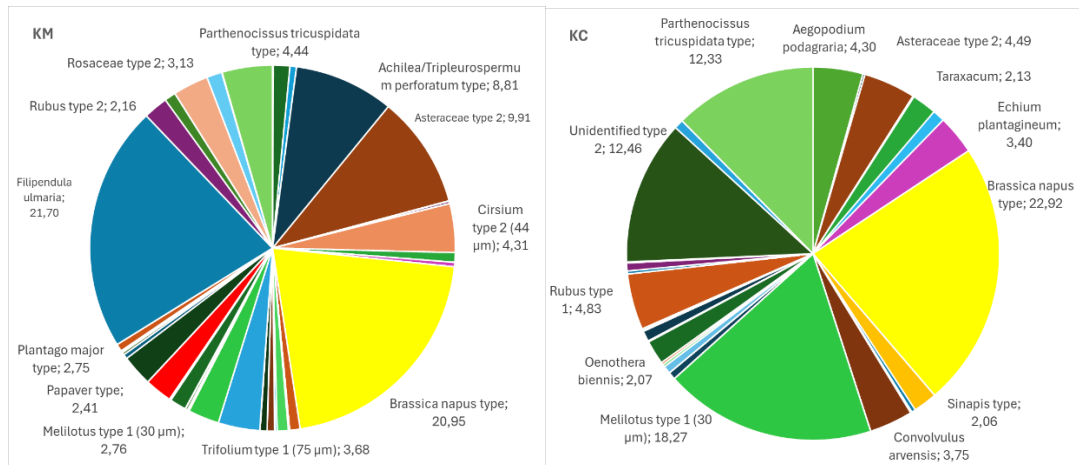
Vietinio *A. m. mellifera* ir įvežtinio *A. m. carnica* porūšio motinines linijas turinčių bičių šeimų surinktų žiedadulkių analizė atskleidė, kad skirtingų porūšių bičių surinktos žiedadulkės skiriasi savo botanine sudėtimi. Visose tirtose vietose (miškas, žemės ūkio žemė ir 3 tipų urbanizuotos teritorijos) *A. m. mellifera* porūšio bičių šeimos rinko žiedadulkes nuo daugiau augalų rūšių, nei *A. m. carnica* porūšio bičių šeimos (11 pav.).

Natūralioje miško ekosistemoje *A. m. mellifera* lankė bent 35 augalų rūšių, tuo tarpu *A. m. carnica* lankė bent 29 augalų rūšis. *A. m. mellifera* surinktose žiedadulkėse dominavo *Vicia* 1 tipo žiedadulkės (79,25 %), o daugiau nei po 2 % sudarė *Rubus* 2 tipo, *Viola arvensis* tipo ir *Achilea/Tripleurospermum perforatum* tipo žiedadulkės (12 pav.). Kitos 31 rūšies žiedadulkės sudarė mažiau nei po 2 % bendro kiekio. *A. m. carnica* surinktose žiedadulkėse taip pat vyravo *Vicia* 1 tipo žiedadulkės (59,95 %). Panaši dalis, kaip ir *A. m. mellifera*, buvo *Rubus* 2 tipo, *Viola arvensis* tipo ir *Achilea/Tripleurospermum perforatum* tipo žiedadulkių. Be to, virš 2 % sudarė *Rumex* tipo bei *Cirsium* 2 tipo žiedadulkės. Reikšminga, kad *A. m. carnica* bitės surinko ženkliai *Brassica napus* tipo žiedadulkių (14,5%). Panašu, kad šios bitės atrado sėjamojo rapsu laukus, esančius už miško teritorijos t. y. toliau nei 3 km nuo bityno (12 pav.).



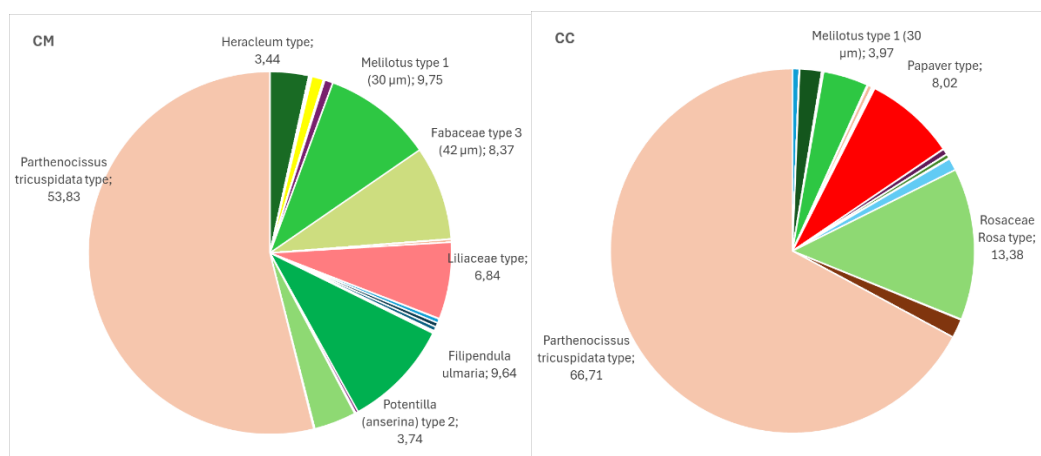
12 pav. Miško aplinkoje surinktų žiedadulkių įvairovė ir gausumas skirtingų motininių linijų (MM - *A. m. mellifera* (N = 3), MC - *A. m. carnica* (N = 3)) bičių šeimose.

Urbanizuotoje teritorijoje *A. m. mellifera* aplankė ne mažiau kaip 35-54 augalų rūšis, o *A. m. carnica* – 30-44 rūšis. Didžiausią žiedadulkių įvairovę (54 tipai) surinko *A. m. mellifera* šeimos I urbanizuotoje teritorijoje. Čia surinktų žiedadulkių ženklų dalį sudarė *Filipendula ulmaria* tipo (21,7 %), *Achilea/Tripleurospermum perforatum* tipo (8,81 %), Asteraceae 2 tipo (9,91 %) ir *Brassica napus* tipo (20,95 %) žiedadulkės. *A. m. carnica* bičių surinktose žiedadulkėse aptikome 43 tipus. Kaip ir *A. m. mellifera* surinktose žiedadulkėse, čia taip pat ženklų dalį sudarė *Brassica napus* tipo (22,92 %) žiedadulkės. Tuo tarpu kitos, sudarančios ženklų dalį, *A. m. carnica* surinktose mėginiuose skyrėsi: *Parthenocissus tricuspidata* tipo (12,33 %), *Melilotus* 1 tipo (18,27 %) ir neidentifikuotas 2 tipas (12,46 %) (13 pav.).



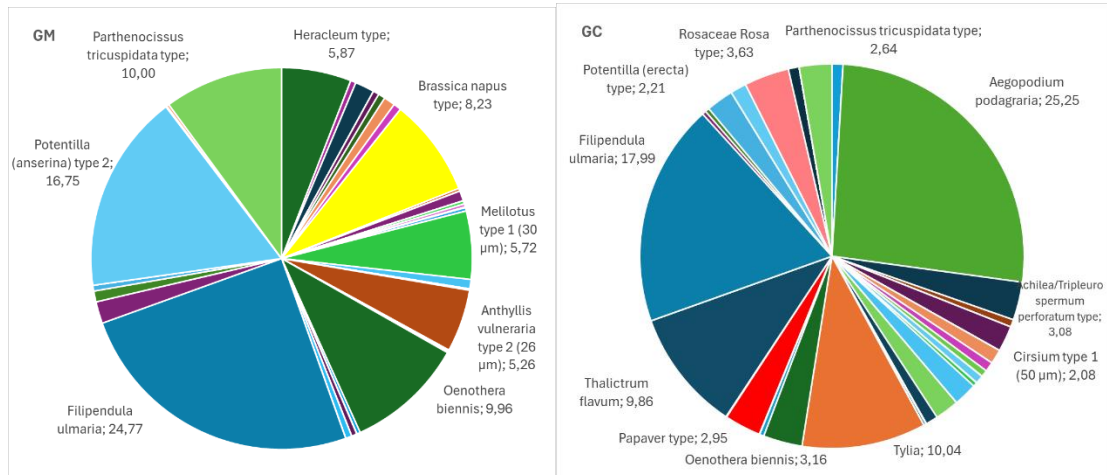
13 pav. Urbanizuotoje I teritorijoje surinktų žiedadulkių įvairovė ir gausumas skirtingų motininių linijų (KM - *A. m. mellifera* (N = 3), KC - *A. m. carnica* (N = 3)) bičių šeimose.

Mažiausia įvairovė iš urbanizuotų vietų buvo miesto centre - II urbanizuotoje teritorijoje. Tiek *A. m. mellifera*, tiek *A. m. carnica* surinktose žiedadulkėse vyravo *Parthenocissus tricuspidata* tipo žiedadulkės (atitinkamai 53,83% ir 66,71%). Porūšiai išsiskyrė kitų, mažiau surinktų žiedadulkių tipais: *A. m. mellifera* surinktuose mėginiuose buvo daugiau Fabaceae 3 tipo (8,37 %), Liliaceae tipo (6,84 %), *Filipendula ulmaria* tipo (9,64 %), *Potentilla (anserina)* tipo (3,74 %) ir *Heracleum* tipo (3,44 %) žiedadulkių, tuo tarpu *A. m. carnica* surinktuose mėginiuose – *Papaver* tipo (8,02 %) ir Raseceae *Rosa* tipo (13,38 %) žiedadulkių (14 pav.).



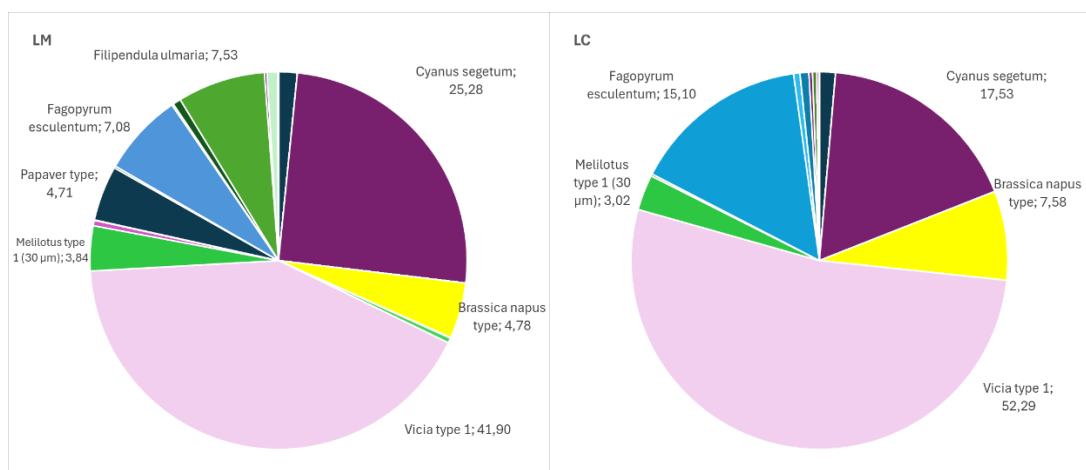
14 pav. Urbanizuotoje II teritorijoje surinktų žiedadulkių įvairovė ir gausumas skirtingų motininių linijų (CM - *A. m. mellifera* (N = 3), CC - *A. m. carnica* (N = 3)) bičių šeimose.

III urbanizuotoje teritorijoje, kur vyravo pramoninė zona, *A. m. mellifera* ir *A. m. carnica* surinktų žiedadulkių spektrai mažai skyrėsi įvairovė, bet labai skyrėsi vyraujančiomis rūšimis. *A. m. mellifera* surinktuose mėginiuose ketvirtadalį surinktų žiedadulkių sudarė *Filipendula ulmaria* tipo (25 %) žiedadulkės, o *A. m. carnica* – *Aegopodium podagraria* tipo žiedadulkės (25 %). *A. m. mellifera* surinktuose mėginiuose daugiau kaip po 2 % sudarė 7 tipų žiedadulkės, o *A. m. carnica* surinktuose mėginiuose – 10 tipų (15 pav.).



15 pav. Urbanizuotoje III teritorijoje surinktų žiedadulkių įvairovė ir gausumas skirtingų motininių linijų (GM - *A. m. mellifera* (N = 3), GC - *A. m. carnica* (N = 3)) bičių šeimose.

Žemės ūkio teritorijoje, kur vystoma intensyvi žemės ūkio veikla, surinktų žiedadulkių įvairovė buvo mažiausia ir skirtumai tarp tirtų bičių porūšių bene mažiausi – *A. m. mellifera* surinktose žiedadulkėse identifikuota 23 žiedadulkių tipai, o *A. m. carnica* – 20 tipų. Tiek *A. m. mellifera*, tiek *A. m. carnica* surinktose žiedadulkėse vyravo *Vicia* 1 tipo žiedadulkės (atitinkamai 41,9 % ir 52,29 %). Keturių tipų (*Fagopyrum esculentum* tipo, *Cyanus segetum* tipo, *Melilotus* 1 tipo ir *Brassica napus* tipo) žiedadulkės sudarė ženkliai dalį abiejų porūšių mėginiuose. *A. m. mellifera* žiedadulkių mėginiai išsiskyrė surinktomis laukinių augalų rūšių žiedadulkėmis, tokiomis kaip *Filipendula ulmaria* tipo (7,53 %) (16 pav.).



16 pav. Urbanizuotoje III teritorijoje surinktų žiedadulkių įvairovė ir gausumas skirtingų motininių linijų (MM - *A. m. mellifera* (N = 3), MC - *A. m. carnica* (N = 3)) bičių šeimose.

Be augalų žiedadulkių, surinktuose mėginiuose aptikti augalams patogeninių grybų elementai: vieni iš jų Urediniospores (rūdys) bičių rinktos kaip žiedadulkės ir sudarė net 100 % viso rinkto žiedadulkių kamuoliuko ir/ar kaip pavienės (2-3 rutuliukai) aptiktos keliuose aviliuose.

Kartais bitės juos surenka su nektaru arba kartais bitės juos supakuoja į granules, kaip žiedadulkes (Maurizio, 1959). Urediniospores tipo sporos dažnai pasitaikė po kelis rutuliukus abiejų porūšių bičių surinktuose žiedadulkių mėginiuose: MC56, GC57, CM6, GM4, GC85, GM5, pavienės sporos rastos GC81, MM6 mėginiuose.

Tyrimas parodė, kad tiek *A. m. mellifera*, tiek *A. m. carnica* bičių šeimos yra smarkiai susikryžminusios su kitų porūšių bitėmis. Morfometrinių analizė patvirtino, kad tik dalis šeimų atitiko savo porūšio požymius, o SNP tyrimai atskleidė įvairaus laipsnio kitų porūšių genų introgresiją (*A. m. carnica*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica* ir *A. m. x buckfast*), galinčią daryti įtaką bičių elgesiui bei žiedadulkių rinkimo strategijoms. Žiedadulkių analizė leido identifikuoti 113 augalų rūšių; didžiausia įvairovė nustatyta urbanizuotose teritorijose, mažiausia – žemės ūkio vietovėse. Nepaisant didelės hibridizacijos, skirtingas motinines linijas turinčios bičių šeimos skyrėsi surenkamų žiedadulkių spektrais. Daugelyje vietovių *A. m. mellifera* rinko žiedadulkes nuo daugiau augalų rūšių nei *A. m. carnica*, o vyraujantys augalai skyrėsi pagal aplinkos tipą: miškuose abiejuose porūšiuose dominavo *Vicia* tipo žiedadulkėmis, urbanizuotose vietovėse skirtumai pasireiškė dominuojančių rūšių pasirinkime, o žemės ūkio teritorijose abu porūšiai lankė mažiau augalų rūšių ir rinko daugiau vienodų tipų žiedadulkių.

**IŠVADOS IR REKOMENDACIJOS** (pateikiamos išvados ir rekomendacijos, nors jos ir yra išdėstytos ataskaitos prieduose (ne daugiau kaip 4 000 spaudos ženklų)).

1. Morfometrinių ir SNP analizės parodė, kad tiek *A. m. mellifera*, tiek *A. m. carnica* bičių šeimos yra smarkiai hibridizuotos su kitų porūšių bitėmis; tik dalis šeimų atitiko savo porūšio morfologinius požymius, o genetinė sudėtis atskleidė įvairaus laipsnio *A. m. carnica*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica* ir *A. m. x buckfast* genų introgresiją.
2. Tyrimo metu identifikuotos 113 augalų rūšių žiedadulkės; didžiausia įvairovė nustatyta urbanizuotose teritorijose, mažesnė – miško aplinkoje, mažiausia – žemės ūkio teritorijose.
3. Nepaisant didelės hibridizacijos, porūšiai išlaikė skirtumus žiedadulkių rinkime: *A. m. mellifera* daugelyje vietovių rinko žiedadulkes nuo daugiau augalų rūšių nei *A. m. carnica*.
4. Miškuose abiejų porūšių mėginiuose dominavo *Vicia* tipo žiedadulkės, tačiau *A. m. carnica* dažniau rinko *Brassica napus* tipo žiedadulkes, rodančias lankymąsi už miško ribų. Urbanizuotose vietovėse skirtumai pasireiškė vyraujančių rūšių pasirinkimu, o žemės ūkio teritorijose abu porūšiai rinko mažiau rūšių ir daugiau vienodų tipų.
5. Kai kuriuose mėginiuose aptikti augalams patogeninių grybų (*Urediniospores*) elementai, surinkti kartu su žiedadulkėmis.
6. Gauti duomenys rodo, kad bičių porūšių mitybos strategijos skiriasi ir gali būti susijusios su genetinės sudėties bei aplinkos sąlygų įtaka.

#### NAUDOTOS LITERATŪROS SĄRAŠAS.

Basualdo M., Bedascarrasbure E., De Jong D. 2000. Africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) have a greater fidelity to sunflowers than European bees. *J. Econ. Entomol.* 93, 304–307.

Beug, H.-J. (2004): Guide to pollen determination for Central Europe and adjacent areas (Beug, H. J. Leitfaden der Pollenbestimmung für Mitteleuropa und angrenzende Gebiete; 2004. Munich, Pfeil.),

Han F., Wallberg A., Webster M.T. 2012. From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate? *Ecol. Evol.*, 2: 1949-1957.

Köppler, K., Vorwohl, G., & Koeniger, N. 2007. Comparison of pollen spectra collected by four different subspecies of the honey bee *Apis mellifera*. *Apidologie*, 38(4), 341-353.

Ruttner F. 1988. Biogeography and Taxonomy of Honeybees, Springer Verlag, Berlin.  
Villanueva G.R. 1994. Nectar sources of European and Africanized honeybees (*Apis mellifera* L.) in the Yucatan Peninsula, Mexico. J. Apic. Res. 33, 44–58.

PRIEDAI (20...–20... m. tyrimo rezultatų priimtų spaudai mokslinių publikacijų kopijos, taip pat parengtų spaudai rankraščių kopijos ir kita informacija).

Tyrimų rezultatų pagrindu numatoma parengti mokslinę bei populiarią publikaciją

Projekto vadovė, vyres. m. d.

Laima Blažytė-Čereškienė

(Vadovo ar įgalioto asmens  
pareigų pavadinimas)

(Parašas)

(Vardas, pavardė)