

GAMTOS TYRIMŲ CENTRAS

TVIRTINU:

Gamtos tyrimų centro direktorius

Prof. habil. dr. Vincas Būda

2019 m. lapkričio mėn. 9 d.

**ŽEMĖS, MAISTO ŪKIO, ŽUVININKYSTĖS IR KAIMO PLĖTROS
MOKSLINIŲ TYRIMŲ IR EKSPERIMENTINĖS PLĖTROS 2015–2020 METŲ PROGRAMA**

**LIETUVOS VIETINIŲ BIČIŲ *APIS MELLIFERA MELLIFERA* GENOFONDO IŠLIKIMO
GALIMYBIŲ ĮVERTINIMAS**

**2019 m. GALUTINĖ ATASKAITA
(GALIMYBIŲ STUDIJA)**

Tyrimo vadovas

Dr. Laima Blažytė-Čereškienė

Vilnius

2019

Vykdytojų sąrašas

Gamtos tyrimų centras

vyresn. m. d. dr. Laima Blažytė-Čereškienė

vyresn. m. d. dr. Vesta Skrodenytė-Arbačiauskienė

vyresn. m. d. dr. Eduardas Budrys

m. d. dr. Svetlana Orlovskytė

TURINYS

1. ĮVADAS.....	4
Tikslas ir uždaviniai	4
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	6
2.1. <i>Apis mellifera mellifera</i> porūšiui būdingos savybės	6
2.1.1. <i>Apis mellifera mellifera</i> bičių šeimos elgsenos bruožai	6
2.2.2. <i>Apis mellifera mellifera</i> bičių porūšio morfologiniai požymiai	8
2.3. <i>Apis mellifera mellifera</i> bitė Lietuvoje.....	9
2.4. <i>Apis mellifera mellifera</i> išsaugojimo patirtis kitose Europos valstybėse	11
3. TYRIMŲ OBJEKTAS IR METODAI.....	17
3.1. <i>Apis mellifera</i> bitės genetinių žymenų kintamumo įvertinimas pagal Genų banke saugomus duomenis	17
3.2. Bičių mėginių rinkimas	17
3.3. Genetiniai tyrimai.....	19
3.3.1. Genetinės medžiagos išskyrimas.....	19
3.3.2. PGR naudoti pradmenys ir sąlygos	19
3.3.3. PGR produkto valymas ir siuntimas sekoskaitai.....	21
3.3.4. Statistinė analizė.....	22
3.4. Morfometriniai tyrimai.....	22
4. REZULTATAI	25
4.1. <i>Apis mellifera</i> bitės genetinių žymenų kintamumo įvertinimas pagal Genų banke saugomus duomenis	25
4.2. Įvežtinių <i>Apis mellifera</i> bičių porūšių tyrimai.....	26
4.3. Vietinių <i>Apis mellifera mellifera</i> bičių paieškos genetinių tyrimų rezultatai.....	30
4.4. Bičių šeimų, atitinkančių <i>Apis mellifera mellifera</i> motininę liniją, morfometrinės charakteristikos	35
4.5. Atskirų bitynų aptarimas	39
5. IŠVADOS.....	41
6. REKOMENDACIJOS VIETINĖS <i>APIS MELLIFERA MELLIFERA</i> BITĖS IŠSAUGOJIMUI...	43
7. LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	46
8. PRIEDAI	48

1. ĮVADAS

Vietinės tam tikro regiono rūšys, porūšiai ar ekotipai, susiformavę per ilgą evoliucijos laikotarpį, yra geriausiai prisitaikę išgyventi tame regione. Lietuvos ūkiniai gyvūnai – gyvūnai, kurių išskirtiniai paveldimi požymiai yra susiformavę Lietuvoje, - turi selekcinę, ekonominę, mokslinę, ekologinę, kultūrinę, istorinę svarbą ir yra svarbi pasaulinės žemės ūkio ir visos biologinės įvairovės dalis (<http://gic.lsmuni.lt>). Lietuva 1992 m. birželio 5 d. pasirašydama Biologinės įvairovės konvenciją įsipareigojo išsaugoti savo ūkinių gyvūnų nacionalinius genetinius išteklius. Atsižvelgiant į tai sudarytas saugomų lietuviškų ūkinių gyvūnų veislių sąrašas ir parengta Lietuvos ūkinių gyvūnų genetinių išteklių išsaugojimo programa (LR ŽŪ ministro 2008 m. vasario 6 d. įsakymas Nr. 3D-58).

Į saugomų ūkinių gyvūnų nacionalinių genetinių išteklių veislių sąrašą yra įtrauktos Lietuvos vietinės bitės, priklausančios medunešės bitės *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 *mellifera* porūšiui. Tačiau informacijos apie Lietuvos vietinių bičių augintojus ir jų turimą šių bičių šeimų skaičių nėra, taip pat nieko nežinoma apie galimas šios bitės natūraliai gamtoje gyvenančias šeimas. Manoma, kad Lietuvos vietinio ekotipo/ų bičių *A. m. mellifera* populiacijos padėtis kritinė arba ši bitė Lietuvoje išnykusi (Adomaitis, 2015). Todėl svarbus uždavinys nustatyti, ar yra Lietuvoje išlikusių bičių, atitinkančių *A. m. mellifera* porūšiui taikomus genetinius ir morfometrinius kriterijus. Tikėtina, kad autochtoninio ekotipo *A. m. mellifera* bičių šeimos gyvena tik tose šalies vietose, kurios nutolusios nuo stambių, pramoninių bitynų; tai gali būti draustiniai, rezervatai, nedideli bitynai miškų apsuptyje ar drevės miškuose.

Tikslas ir uždaviniai

Šios trijų metų (2017-2019) studijos tikslas – Lietuvos vietinių bičių *Apis mellifera mellifera* genofondo išlikimo galimybių įvertinimas.

Siekiant šio tikslo iškelti uždaviniai:

1. Palyginti Genų banke saugomus medunešės bitės *A. m. mellifera* genetinius žymenis, įvertinti jų kintamumą ir genetinę įvairovę.
2. Apibendrinti apie Lietuvos vietinę bitę publikuotus morfometrinius ir kitus morfologinius duomenis.
3. Atlikti morfometrinę bei genetinę analizę Lietuvoje veisiamų žinomų bičių porūšių, kurie tarnaus kaip išorinė grupė (*outgroup*) filogenetinėje analizėje.
4. Surinkti mėginius iš bitynų, naudojančių senovinius bitininkavimo metodus.

5. Surinkti medunešių bičių mėginius iš skirtingų Lietuvos regionų didžiausiuose miškų masyvuose.

6. Atlikti surinktų mėginių morfometrinę ir genetinę analizę, įvertinti įvairovę bei artimumą *A. m. mellifera*.

7. Identifikuoti Lietuvoje aptinkamų Europos miškų zonos porūšio *A. m. mellifera* bičių genetines linijas, morfometriškai artimiausias iki 1980 m. charakterizuotoms Lietuvos vietinėms bitėms, nustatyti joms būdingus genetinius požymius.

8. Tiksliai įvardyti šalies regionus ir ūkius (augintojus), kuriuose aptiktos Lietuvos vietinės bitės, arba konstatuoti, kad tokių bičių surasti nepavyko.

9. Pateikti rekomendacijas dėl tolesnių Lietuvos vietinių bičių *A. m. mellifera* išsaugojimo galimybių.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. *Apis mellifera mellifera* porūšiui būdingos savybės

Po paskutinio ledynmečio, šylant klimatui, palaipsniui Vidurio Europos tamsiosios bitės *Apis mellifera mellifera* iš Pirėnų pusiasalio miškų vakariniu Europos pakraščiu paplito tolyn į šiaurę ir šiaurės rytus, jūrinio klimato zonoje – iki Uralo kalnų (1 pav.) (Ruttner et al., 1990). *A. m. mellifera* užimtas arealas pasižymi labai skirtingomis klimatinėmis sąlygomis, todėl kiekviename regione susiformavo savitas *A. m. mellifera* bičių ekotipas su jam būdingomis savybėmis. Šiaurės vakarinėje Europos dalyje susiformavo šios bitės ekotipas, kuris prisitaikė gyventi vidutinio klimato juostoje be didelių temperatūros ir drėgmės pokyčių, Pietų Europoje ekotipas įgavo savybių, būdingų ir kitiems Viduržemio jūros regiono *A. mellifera* bičių porūšiams, o plisdamos į šiaurę šios bitės įgijo savybių, kurios leido prisitaikyti prie atšiaurių klimato sąlygų (šaltų žiemų) (Ruttner, 1988; Ruttner et al., 1990).



1 pav. Evoliuciškai susiformavę *Apis mellifera* porūšių paplitimo arealai (pagal De la Rúa et al., 2009).

2.1.1. *Apis mellifera mellifera* bičių elgsenos bruožai

Nepaisant skirtingų *Apis mellifera mellifera* ekotipų įgytų savybių prisitaikant prie klimato sąlygų, Anglijos mokslininkai, ilgą laiką tyrinėję bičių *A. mellifera* porūšius (Ruttner et al, 1990),

išskiria visiems *A. m. mellifera* ekotipams bendrus elgsenos bruožus, kuriuos aprašo ir Lietuvos tyrėjai, dirbę su šio porūšio Lietuvos vietinėmis bitėmis (Balžekas, 1990; Straigis, 2002).

Perų auginimas. *A. m. mellifera* bičių šeimos perus pradeda auginti vėlai pavasarį. Iki vidurio vasaros šeima palaipsniui stiprėja, kol pasiekia piką per didįjį medunešį. Šio porūšio bičių šeimos rudenį anksčiau baigia auginti perus nei kitų porūšių bičių šeimos (Ruttner et al., 1990), todėl šį porūšį lengviau gydyti užpuolus varozei. Lietuvos ekotipo *A. m. mellifera* bitės taip pat pasižymi lėtu pavasarinio vystymusi, vėliau už kitų porūšių bičių šeimas pradeda auginti perus (Balžekas, 1990; Straigis, 2002).

Žiemojimas. *A. m. mellifera* bičių šeimos sėkmingai žiemoja net ypač atšiauriomis sąlygomis. Žiemoti lieka nedidelės šeimos, kurios susimeta į labai glaudų kamuolį (Ruttner et al., 1990). Kadangi šeima anksti baigia auginti perus, žiemojimui liekančios bitės nebūna maitinusios perų, todėl nesunkiai išgyvena ilgą žiemos periodą ir suvartoja nedaug maisto. F. Ruttner et al. (1990) teigia, kad *A. m. mellifera* bičių šeimos lengvai peržiemoja prižiūrimos minimaliai, nereaguodamos į trumpalaikius atšilimus, kurių metu kitų porūšių bičių šeimos bando apsiskraidyti ir dažniausiai žūva. Atšilimas dažniausiai nepadidina šių bičių aktyvumo ir suvartojamo maisto kiekio, o pavasarį rečiau pasitaiko nozemozės (sukeltos *Nosema apis* (Zander, 1909)) atvejų. Lietuvos ekotipo *A. m. mellifera* bitės sėkmingai žiemoja, lyginant su kitais porūšiais, žiemojimo metu suvartoja mažiau maisto (Balžekas, 1990).

Medaus produkcija. Bičių šeimos produktyvumas priklauso nuo kelių rodiklių: bičių skaičiaus medunešio metu, bičių maisto kaupimo efektyvumo bei suvartojimo esant nepalankioms sąlygoms ir perų skaičiaus medunešio metu. F. Ruttner et al. (1990) *A. m. mellifera* bites pagal šias tris savybes apibrėžia kaip vidutines, t. y., jos puikiai prisitaikiusios prie vidutinių ir menkų medunešių, kurie gali būti sutrikdomi blogų oro sąlygų. Esant netinkamoms oro sąlygoms šios bitės nenaudoja maisto atsargų kaip kad kitų porūšių bitės, kurios blogu oru nuolat maitinasi sukauptu maistu, o kartais ir vasaros metu būna priverstos badauti. Sausu oru, kai nektaro augaluose nebūna daug, o augalus užpuola amarai, bitės renka lipčių. *A. m. mellifera* porūšio bitės yra gerokai atsparesnės lipčiaus medaus toksikozei nei kitų porūšių bitės. Kadangi *A. m. mellifera* bičių šeimos stiprios būna vasaros pabaigoje, jos gerai prisitaikiusios medunešiui iš viržių (Balžekas, 1990; Ruttner et al., 1990).

Spietlumas. Dažnai teigiama, kad *A. m. mellifera* bitės pasižymi spietlumu (Balžekas, 1990). Tačiau F. Ruttner et al. (1990) šios savybės *A. m. mellifera* porūšio bitėms nepriskiria ir teigia, kad bičių šeimų spietimasis nėra genetinis požymis, o daugiau priklauso nuo išorinių veiksnių.

Temperamentas. *A. m. mellifera* bitės apibūdinamos kaip neramos (Balžekas, 1990; Ruttner et al., 1990). Bičių šeimos apžiūros metu jos niekada nesėdi ramiai ant korių, kaip kad daro *A. m. carnica* ar kai kurių kitų porūšių bitės. *A. m. mellifera* bitės stipriai reaguoja į dūmus, bėga nuo korių, kabinasi jų apačioje. Dažnai sakoma, kad *A. m. mellifera* bitės žymiai piktesnės už kitų porūšių bites (Balžekas, 1990), tačiau F. Ruttner et al. (1990) teigia, kad grynos šio porūšio bitės nėra agresyvios, o agresyvumo požymis išryškėja joms susikryžminus su kitų porūšių bitėmis.

Pikio gamyba. *A. m. mellifera* yra laikomas vienu iš bičių porūšių, surenkančiu ir naudojančiu daugiausia pikio, kas suteikia galimybę surinkti iš jų daugiau pikio nei iš kitų porūšių bičių šeimų (išskyrus *A. m. caucasica*) (Balžekas, 1990; Ruttner et al., 1990).

Medaus dengimas. Dažnai išskiriamas požymis, kad *A. m. mellifera* bitės medų koriuose dengia sausai, baltai (Balžekas, 1990), t. y., vaško dangtelis yra gaubtas, tarp jo ir medaus yra oro tarpas. F. Ruttner et al. (1990) pažymi, kad šis požymis būdingas šiaurinėje arealo dalyje gyvenantiems šio porūšio ekotipams, o pietinių ekotipų bitės medų dengia vaško dangteliais be oro tarpo.

Ligos. Teigiama, kad, lyginant su kitais porūšiais, *A. m. mellifera* bitės dėl didesnio aktyvumo yra atsparesnės ligoms (puviniams, nozemozei, varozei) (Balžekas, 1990; Straigis, 2002).

2.2.2. *Apis mellifera mellifera* bičių porūšio morfologiniai požymiai

Apis mellifera mellifera bitės nuo kitų porūšių skiriasi stambesniu kūnu, yra tamsios spalvos, kartais su neryškiais rudais taškeliais ant 2–3 narelio. Kūnas apaugęs ilgaus, tamsiais ir retais plaukeliais. F. Ruttner et al. (1990) išskiria tris pagrindinius morfologinius požymius, kuriais *A. m. mellifera* bitės lengvai atskiriamos nuo kitų porūšių bičių: kubitaliniu indeksu, diskoidinio taško padėtimi ir plaukelių ilgiu ant pilvelio 5-o tergito. *A. m. mellifera* bičių vidutinis kubitalinis indeksas (santykis A/B) yra mažesnis už 2,0, diskoidinio taško padėtis visada neigiama, o pilvelio 5-o tergito plaukelių ilgis didesnis už 0,4 mm (Ruttner et al., 1990).

A. m. mellifera porūšio morfologinių savybių palyginimas su kitų Lietuvoje sutinkamų porūšių morfologinėmis savybėmis pateiktas 1 lentelėje.

1 lentelė. Kai kurių *Apis mellifera* porūšių pagrindinių morfologinių požymių palyginimas (Borsuk, Olszewski, 2010; Cushman, 2007; Ruttner et al., 1990; Shemetkov et al., 1983; Straigis, 1979; Woyke, 1998)

Požymis	<i>A. m. mellifera</i>	<i>A. m. ligustica</i>	<i>A. m. carnica</i>	<i>A. m. caucasica</i>	<i>A. m. x buckfast</i>
Kūnas	Stambus, kojos trumpos	Vidutinio dydžio, kojos ilgos	Vidutinio dydžio, kojos ilgos	-	-
Darbininkės kūno spalva	Tamsi	1, 2 ir 3 pilvelio nareliai geltonai oranžiniai	Tamsi su šviesiai rudais žiedais ant narelių	Tamsi su pilkų šerelių juostomis	1, 2 ir 3 pilvelio nareliai geltonai oranžiniai
Tranų kūno spalva	Tamsi	Gintarinė/geltona	Tamsi	-	-
Kubitalinis indeksas pagal Goetze metodiką vid.(min-max)	1,7 (1,3-2,1)	2,3 (2,0-2,7)	2,7 (2,4-3,0)	2,0 (1,38-3,07)	2,43 (1,71-2,83)
Kubitalinis indeksas (%) pagal Alpatov metodiką vid.(min-max)	54-66	-	~44,08	50,9 (33-63)	44,15 (32-63)
Diskoidalinio taško padėtis	Neigiama (-)	Teigiama (+)	Teigiama (+)	Nulinė (0)	-
5-jo tergito šerelių ilgis (mm)	0,4-0,6	0,2-0,3	0,25-0,35	0,025-0,4	-
Šerelių juosta ant 4-ojo tergito	Siauresnė nei ½ tergito	Platesnė nei ½ tergito	Plati, tankūs šereliai	Labai plati, tankūs šereliai	-
Šerelių spalva	Reti tamsūs šereliai	Geltoni	Rusvai pilki	Grafito pilkumo	-
Liežuvelio ilgis vid.(min-max) (mm)	6,0 (5,8-6,2)	6,5 (6,3-6,6)	6,6 (6,4-6,8)	7,0 (6,7-7,2)	6,36 (5,95-6,77)

- neaprašytas požymis

2.3. *Apis mellifera mellifera* bitė Lietuvoje

Vidurio Europos tamsioji bitė *Apis mellifera mellifera*, nuo seno gyveno Lietuvos teritorijoje. Regionui specifinės medunešio sąlygos, dažnas lipčiaus medunešis, šaltos žiemos, nepastovūs pavasariai per ilgus metus suformavo žiemojimui atsparų, prisitaikiusį Lietuvos sąlygoms vietinių bičių ekotipą (-us).

Apie Lietuvoje iki II-ojo pasaulinio karo laikytų *A. m. mellifera* bičių morfologinius požymius duomenų rasti nepavyko, tėra išlikusi informacija apie tai, kad tuo laikotarpiu Lietuvoje buvo veisiamos daugiausia vietinės *A. m. mellifera* bitės (Straigis, 1998). Pirmieji duomenys apie Lietuvoje laikytų bičių morfometrines charakteristikas yra iš 1966–1973 m. vykdytų tyrimų (Straigis, 1979). Tuo laikotarpiu įvairiose šalies vietose surinkti bičių mėginiai ir atlikti liežuvėlio ilgio, kubitalinio indekso ir diskoidinio taško padėties matavimai (2 lentelė) leido padaryti išvadą, kad Lietuvoje laikomos ir veisiamos bitės priklauso vidurio Europos tamsiųjų bičių *A. m. mellifera* porūšiui (Straigis, 1979). Autoriai, palyginę morfologinius požymius vietinių bičių ir *A. m. mellifera* bičių, gautų iš Baltarusijos, Rusijos, Latvijos, Estijos ir Prancūzijos, teigia, kad Lietuvos vietinės bitės priklauso Pabaltijo ir Baltarusijos vietinių bičių ekotipui. Deja, jau ir tuo metu dalis bičių šeimų turėjo kitų porūšių požymių (Straigis, 1979). J. A. Balžekas (1990) nurodo, kad 1969–1970 m. atliktų morfometrinių tyrimų duomenimis, apie 65,5 % bitynų dar laikė *A. m. mellifera* porūšio bites, tačiau kituose bitynuose auginti įvairiu laipsniu susikryžminę hibridai.

Intensyviai vystantis žemdirbystei sumažėjo vietinei bitei tinkamų ganyklų plotai. Apie 1970 m. Lietuvos bitynuose pradėjo plisti *A. m. caucasica* ir *A. m. carnica* bitės, geriau išnaudojančios kultūrinių augalų medunešį. Tokiose ganyklose *A. m. mellifera* bičių šeimos produktyvumu neprilygo įvežtinių bičių šeimoms, tad jau tada buvo iškeltas vietinių bičių išsaugojimo klausimas (Balžekas, 1990).

2 lentelė. Lietuvos populiacijos *Apis mellifera mellifera* bičių morfometrinės charakteristikos iki 1988 m.

Tyrimo laikotarpis	Liežuvėlio ilgis, mm	Kubitalinis indeksas	Diskoidalinio taško padėtis, (+) arba (-)	Šaltinis
1966	6,035-6,067	59,14-60,71 %*	(-) 75,5 %	Straigis, 1979
1969-1970	5,925-6,15	51,65-64,00 %*	(-)	Straigis, 1979
1969-1970	6,07±0,2	59,2±1,3 %*	(-)	Balžekas, 1990
1973	6,07±0,016	58,44±1,15 %*	(-) 75,5 %	Straigis, 1979
Iki 1979	6,13-6,2	1,81-1,90**	(-)	Mizis, 1979
1984	6,106±0,017	58,51±1,35 %*	(-) 72,5 %	Straigis, 1998
1988	6,06	58,3 %*	(-) 55,3 %	Balžekas, 1990

* pagal V. V. Alpatov (1948) metodiką;

** pagal G. Goetze (1940) metodiką.

1971 m. vietinio ekotipo *A. m. mellifera* bites mėginta išsaugoti valstybiniu mastu (LTSR Ministrų tarybos nutarimas Nr. 287, 1971) įkuriant vietinių bičių draustinį, apimančią Raseinių, dalį

Jurbarko bei Tauragės rajonų. 1979 m. susiaurinus draustinio ribas, jis apėmė Jurbarko ir Tauragės miškų masyvą ir aplink jį esančių ūkių teritorijas. Draustinyje esančiuose ūkiuose ir pas bitininkus-mėgėjus buvo registruota daugiau nei 1800 bičių šeimų (Balžekas, 1990). Juridiniais teisės aktais į draustinio teritoriją buvo uždrausta iš kitur įvežti bičių šeimas, kitų porūšių bičių motinas, o vietiniams gyventojams leidžiama laikyti tik vietines bites ir tik prie savo sodybų (LTSR Ministrų tarybos nutarimas Nr. 287, 1982).

Nuo 1974 m. vadovauti vietinių bičių išlaikymo darbui pavesta Lietuvos žemdirbystės mokslinio tyrimo institutui (dabar LAMMC ŽI), kuris vietinių bičių draustinyje suformavo 5 skyrius (Žirniškiuose, Vidugiryje, Buveiniuose, Eičiuose ir Sakalynėje) po 20–25 bičių šeimas. Juose būdavo kasmet atliekamas bičių bonitavimas, atrenkamos *A. m. mellifera* porūšio morfologinius ir elgsenos požymius atitinkančios bičių šeimos, kurios toliau naudotos veisimo programose (auginti tranai ir motinos). Surinkti duomenys parodė, kad iki 1988 m. draustinyje pavyko išlaikyti gryną vietinę *A. m. mellifera* bičių populiaciją su visais porūšiui būdingais požymiais (2 lentelė) (Balžekas, 1990).

Deja, draustinio teritorijoje medunešiai buvo prasti, bičių šeimose išplito askosferozė ir varozė. Naudotos gydymo priemonės leido sustabdyti ligą, tačiau dėl lėšų trūkumo 1992 m. bitės buvo perkeltos į Žemdirbystės instituto bityną, Akademijoje, Kėdainių rajone, kur miško zonos bitei sąlygos nebuvo pačios tinkamiausios. Negavus valstybės paramos, konstatuota, kad šių bičių išsaugoti nepavyko.

2.4. *Apis mellifera mellifera* išsaugojimo patirtis kitose Europos valstybėse

XX amžiaus pradžioje Vidurio Europos tamsioji bitė, *Apis mellifera mellifera*, sudarė net 60 % visų pasaulyje laikomų bičių, tačiau per šimtą metų padėtis gerokai pasikeitė: Vidurio Europos tamsiąsias *A. m. mellifera* bites bitynuose išstūmė *A. m. carnica*, *A. m. caucasica*, *A. m. ligustica*, *A. m. x buckfast* ir kitų porūšių bitės bei jų hibridai. Europoje susirūpinta *A. m. mellifera* bitės išsaugojimu ar atkūrimu: bitininkų iniciatyva pradėtos kurti regioninės ir tarptautinės asociacijos, privatūs bitynai, skirti šios bitės išsaugojimui; kai kurios šalys įsteigė draustinius, rezervatus, kuriuose bitės apsaugą reglamentavo teisės aktai.

1995 m. Norvegijoje buvo įkurta Tarptautinė asociacija (SICAMM), skirta Vidurio Europos tamsiajai bitei *A. m. mellifera* išsaugoti. Ją įkūrė bitininkai ir mokslininkai iš Austrijos, Danijos, Vokietijos, Norvegijos, Lenkijos, Švedijos, Šveicarijos ir Jungtinės Karalystės. Šiuo metu prie jų yra prisijungę ir daugelio kitų Europos šalių atstovai. Deja, Lietuvos atstovų šioje organizacijoje iki šiol nėra.

SICAMM organizacija skatina vyriausybes, mokslo bei aplinkosaugos įstaigas dėti pastangas identifikuoti ir išsaugoti Vidurio Europos tamsiosios bitės egzistuojančius ekotipus ir vietines populiacijas. Taip pat ši organizacija gauna ekspertų, mokslinių komitetų ir institucijų patarimus, skleidžia techninę ir mokslinę informaciją su šia bite susijusioms grupėms, asociacijoms ir institucijoms. Be to, SICAMM kasmet rengia tarptautinę konferenciją, kurioje įvairių šalių specialistai, vykdančys tyrimus ar kitokius su *A. m. mellifera* išsaugojimu susijusius darbus, dalijasi patirtimi ir idėjomis. SICAMM pasisako už teritorijų, kuriose išnyko vietinės bitės, rekolonizaciją, t. y., introdukciją populiacijų, kilmės požiūriu artimiausių buvusių vietinių bičių populiacijai <http://www.sicamm.org>.

Norvegija. Norvegija yra viena iš nedaugelio šalių, kurioje yra išlikusi gausiausia vietinio *Apis mellifera mellifera* porūšio bičių populiacija. Nors norvegai daugiausia laiko *A. m. carnica* bites (46 %), apie 29 % šalies bitininkų auginamų bičių šeimų yra grynos *A. m. mellifera* (Bouga et al., 2011). Siekiant išvengti porūšių hibridizacijos, buvo įkurti izoliaciniai motinų poravimosi punktai, sukurtos *A. m. carnica* ir *A. m. mellifera* bičių veisimo programos, už kurias atsakinga Norvegijos bitininkų asociacija. Teisės aktais yra reglamentuotos tam tikro porūšio bičių laikymo teritorijos-draustiniai, į kuriuos draudžiama įvežti kitų porūšių bites (De La Rúa et al., 2009). Pavyzdžiui, autochtoninio bičių porūšio *A. m. mellifera* laikymui ir išsaugojimui paskirta apie 3500 km² teritorijos Vest-Agder ir Rogaland rajonuose (Flekefiord, Lund, Sokndal ir Sirdal). Teisės aktais yra uždrausta į šias teritorijas įvežti ne tik kitų porūšių bites, bet ir bet kokią veisimo medžiagą (motinas, kiaušinėlius, lervas, tranus ir jų spermą), draudžiama kilnojama bitininkystė (Ruottinen et al., 2014). Taip pat šioje šalyje yra skirtos kelios tik *A. m. carnica* bitėms laikyti teritorijos, kuriose bitininkai augina tik tą bičių porūšį, tokiu būdu išvengiantys hibridų, kurie antroje ar trečioje kartoje dažniausiai yra labai agresyvūs. Siekiant išlaikyti grynus porūšius, šiose teritorijose nuolat atliekami bičių morfometrinių matavimai, po ko iš populiacijos šalinami hibridai. Norvegijoje vykdančios veisimo programos, bičių motinų izoliaciniai poravimosi punktai įkurti vietovėse, kur 10–20 km spinduliu nėra laikoma jokių bičių šeimų (Bouga et al., 2011). Be to, prieš kiekvieną tėvinių bičių šeimų įvežimą šie punktai nuolat tikrinami, ar nėra svetimų tranų. Atvežama keletas jaunų nesiporavusių motinų ir stebima, ar jos nesusiporuos be tėvinių šeimų. Po motinų susiporavimo visada atliekami ir jų pirmųjų palikuonių morfometrinių matavimai, t. y., tikrinamas požymių atitikimas porūšiui (Bouga et al., 2011). Tokia veislininkystės programa leidžia išvengti hibridų ir išlaikyti gryną bičių porūšį.

Danija. Danijoje nuo 1993 m. vietinių *Apis mellifera mellifera* bičių porūši bandoma išsaugoti Lesė (*Læsø*) saloje. Šią salą nuo žemyninės dalies skiriantis vandens plotas tampa puikiu gamtiniu barjeru, stabdančiu natūralią kitų porūšių bičių, laikomų Danijos žemyninėje dalyje, tranų migraciją. Paskelbus Lesė salą Danijos vietinės *A. m. mellifera* bites saugojimo vieta, bitininkams buvo uždrausta į ją įvežti kitų porūšių bites. Bitininkai-mėgėjai palaikė idėją išsaugoti vietinę bitę, tačiau tokia tvarka netiko komercinių bitynų savininkams, kurie norėjo auginti produktyvesnes, žemyninėje dalyje paplitusias *A. m. ligustica* bites. 2003–2007 m. vykdytų genetinių tyrimų metu buvo nustatytos grynos *A. m. mellifera* porūšio bičių šeimos (Jensen et al., 2005a; Bouga et al., 2011), kurių pasirodė visai nedaug (iki 200 bičių šeimų), dėl ko Lesė salos *A. m. mellifera* bičių populiacija yra labai homogeniška, kas lemia inbrydingą ir genų dreifą (Ruottinen et al., 2014).

Numatyta parengti naują Lesė salos grynos *A. m. mellifera* bitės išsaugojimo planą, kuriame atsirastų vietos ir komercinei bitininkystei. Atsižvelgiant į atliktus tyrimus, taip pat planuojama nustatyti efektyvų populiacijos dydį užtikrinantį ilgalaikį vietinių *A. m. mellifera* populiacijos tvarumą bei numatyti ribą, kuri išlaikytų dviejų bičių populiacijų atskirtį saloje (Bouga et al., 2011).

Švedija. Švedijoje laikoma apie 2000 *Apis mellifera mellifera* porūšio bičių šeimų, kurių pusė tinkama naudoti kaip genų rezervas; apie 100 bičių šeimų kasmet naudojama motinų auginimui (Ruottinen et al., 2014). Siekiant išsaugoti vietinių *A. m. mellifera* bičių populiaciją, įkurti du izoliuoti motinų poravimosi punktai Vänern ežero saloje Lurö ir Hästliden netoli Umeå, kur atvežtos kelių subpopuliacijų bičių šeimos galėtų apsieisti genais ir išvengti inbrydingo bei genų dreifo (Ruottinen et al., 2014). Be to, Jämtland regione įkurti keletas izoliuotų bitynų, kuriuose taip pat galimas ne tik natūralus motinų poravimasis, bet ir dirbtinis jų apsėklinimas. Kiekviena veisimo programoje dalyvaujanti bičių šeima yra bonituojama pagal kubitalinį indeksą, diskoidinio taško kampą, elgsenos ypatybes ir mitochondrinę DNR (Thompson, 2012). Morfometrinių ir biologinių savybių stebėjimas ir registravimas vykdomas tris kartus per sezoną. Vykdomus darbus iš dalies finansuoja Švedijos žemės ūkio ministerija (Ruottinen et al., 2014).

Latvija. 1971 m. vykusios mokslinės ekspedicijos metu Latvijoje rastos tik dvi bičių šeimos, atitinkančios *Apis mellifera mellifera* porūšio požymius. Per vėlesnius 20 m. Teiču nacionaliniame parke buvo suskaičiuota apie 60 šio porūšio bičių šeimų. Nuo 2000 m. *A. m. mellifera* bitės saugojimo darbus perėmė Latvijos žemės ūkio universitetas, prie kurio prisijungė Latvijos bitininkų asociacija ir bitininkai-savanoriai. 2006–2007 m. bitynas nukentėjo nuo Amerikinio puvinio (*Paenibacillus larvae*), dėl kurio dauguma bičių šeimų buvo prarastos. Visgi 2009–2010 m. *A. m. mellifera* bičių populiacija

buvo atkurta įsivežant gryno *A. m. mellifera* porūšio apvaisintas bičių motinas iš Suomijos, Lenkijos ir Švedijos (Ruottinen et al., 2014). Šiuo metu Latvijos žemės ūkio universiteto bitynas turi 4 skyrius, kuriuose laikomos ir veisiamos *A. m. mellifera* bitės, bityną prižiūri Latvijos bitininkų asociacija (Ruottinen et al., 2014).

Jungtinė Karalystė. Ilgą laiką manyta, kad Britų salyne autochtoninio porūšio *Apis mellifera mellifera* bitės yra išnykusios. Bitininkai, nepatenkinti savo laikomų bičių savybėmis, įkūrė Bičių gerinimo ir veisimo asociaciją (*Bee Improvement and Bee Breeders Association (BIBBA)*), kurios iniciatyva įvairiuose regionuose atlikta bičių sparnų morfometrinė analizė parodė, kad yra nemažai šalies vietų, kur auginamos *A. m. mellifera* porūšio arba jam labai artimos bitės (Cooper, 1986). Atlikti tyrimai parodė, kad Colonsay saloje yra išlikusi gryniausia *A. m. mellifera* porūšio linija; ją siekiama išsaugoti būtent toje vietoje, kurios ekologinėms sąlygoms ši bičių linija yra geriausiai prisitaikiusi (Jensen et al., 2005a).

2009 m. *BIBBA* organizacija inicijavo projektą, kurio metu išsikėlė tikslą ištirti Jungtinėje Karalystėje (JK) laikomų *A. m. mellifera* porūšio bičių grynumą ir nustatyti, ar išlikusi bičių populiacija gali būti tinkama naudoti *A. m. mellifera* veisimo programose. C. E. Thompson (2012) teigia, kad pirmiausia buvo numatyta įvertinti, ar yra išlikusių gamtoje laisvai gyvenančių, bitininkų neprižiūrimų laukinių bičių šeimų. Manyta, jog jeigu jų yra, jos turėtų būti labai gerai prisitaikiusios prie esamų aplinkos sąlygų ir tikrai turėtų priklausyti vietinei JK *A. m. mellifera* bičių populiacijai. Tuo tikslu šalyje buvo suregistruoti visi bitininkai, aplink kiekvieną bityną nustatyta 10 km buferinė zona (toks atstumas laikomas maksimaliu, kurį poravimose metu nuskrenda tranai ir bičių motinos (Jensen et al., 2005b)). Dėl didelio bitynų tankumo šalyje išskirtos tik trys miškingos vietovės (Kielder, Ennerdale ir Tywi miškai), kurios nepateko į buferines zonas. Atlikus lauko tyrimus su gaudyklėmis ir transektų metodu, buvo nustatyta, kad šiose vietovėse *A. m. mellifera* bičių nėra (Thompson, 2012). Tuomet *BIBBA* pakvietė į vietinės *A. m. mellifera* bitės saugojimo programą įsijungti bitininkus, bandančius savo bitynuose išlaikyti vietines *A. m. mellifera* bites. Bičių mėginius pristatę bitininkai buvo suskirstyti į 4 grupes pagal bitynų tankumą jų bitininkavimo vietovėse (salos, < 5 bitininkų/10 km², < 25 bitininkų/10 km² ir > 100 bitininkų/10 km²). Atlikus genetinius tyrimus ir įvertinus bičių šeimų grynumą paaiškėjo, kad dauguma šeimų yra mišrūnės, kuriose *A. m. mellifera* genai sudarė nuo 20 iki 90 %. *A. m. mellifera* grynumas priklausė nuo vietovės, bet ne nuo bitynų tankumo. Dideliu *A. m. mellifera* šeimų grynumu pasižymėjo ne tik kai kurios salos (pvz., Orkney, Colonsay salose jis siekė 90 %), tačiau ir kai kuriose tankiai bitininkaujamos vietovės (pvz., Stratford regione, kuriame bitynų tankumas yra >100/10 km², *A. m. mellifera* šeimų grynumas buvo net 70 %) (Thompson, 2012).

Šie tyrimai parodė, kad vietinės *A. m. mellifera* bitės išsaugojimui didesnę poveikį turi bitininkų pastangos ir veisimo programos sudarymas, o ne veisimo programos vykdymo vieta.

Ispanija. Kanarų salų vyriausybės ir bitininkų asociacijos iniciatyva buvo pradėti salose laikomų bičių genetiniai tyrimai, kurių metu nustatyta, kad vienoje iš salų, La Palmoje, yra išlikusi gryna vietinių bičių populiacija (De La Rúa et al., 2001). Teisės aktais vietinės Kanarų tamsiosios bitės *Apis mellifera mellifera* išsaugojimui ir selekcijai buvo sukurtos specialios apsaugos priemonės, nustatytos ir bitininkams paskirstytos topografiškai izoliuotos salos vietos motinų poravimuisi, o susiporavusios motinos platinamos vietiniams bitininkams (De La Rúa et al., 2009).

Lenkija. Lenkijoje 3 bičių porūšių – *Apis mellifera mellifera*, *A. m. carnica* ir *A. m. caucasica* – veisimas jau 30 m. yra reglamentuotas vyriausybės teisės aktais (Bouga et al., 2011). Tačiau, kaip ir daugelyje Europos šalių, nekontroliuojant importuojamų bičių motinų ar šeimų, šalyje pradėjo dominuoti *A. m. carnica* bitės ir jų hibridai. Siekiant išsaugoti autochtoninio porūšio *A. m. mellifera* bites, šalyje įkurti uždari bičių veisimo ir laikymo draustiniai, kuriuose saugomos ir veisiamos 4 *A. m. mellifera* porūšio bičių linijos: Augustovska, Kampinowska, Pólnocna ir Asta (Bouga et al., 2011). Prie Lenkijos-Lietuvos sienos Augustavo miške ir Kampinos nacionaliniame parke *A. m. mellifera* bičių šeimos laikomos savo natūraliame ekotope, kur jos pradėtos saugoti apie 1970 m. (Filistowicz, Martyniuk, 2013). 1999–2000 m. Pólnocna (Šiaurės Lenkijoje, Varmijos-Mozūrų vaivadijoje) ir Asta (Vidurio Lenkijoje, Lodzės vaivadijoje) populiacijos atkurtos iš regione surinktų *A. m. mellifera* bičių šeimų: Pólnocna – iš 22, Asta – iš 100 bičių šeimų (Olekso et al., 2011; Madras-Majewska, Skonieczna, 2016). Šiose teritorijose 10 km spinduliu aplink bičių saugojimo zonas draudžiama laikyti ir įvežti kitų porūšių bites. Kaip rodo atlikti naujausi genetiniai ir morfometriniai tyrimai, *A. m. mellifera* bitės išsaugojimo Lenkijoje programa sėkmingai vykdoma, mat šiuose draustiniuose bitės yra išlaikiusios visas *A. m. mellifera* porūšiui būdingas charakteristikas (Meixner et al., 2007; Olekso et al., 2011).

Šveicarija. Šveicarijoje vietinių bičių *Apis mellifera mellifera* porūšis paskelbtas saugomu 2008 m. Skelbiama, kad šalies teritorijoje yra apie 60000 bičių šeimų, kilusių iš *A. m. mellifera* porūšio (<http://www.mellifera.ch>). Dalis šių šeimų yra mišrūnės, tad bandoma genetiniais metodais jas išgryninti vykdant atranką (De la Rúa et al., 2009). Šio porūšio bičių išsaugojimui ir veisimui atrinktos kelios uždaros teritorijos Priealpių regione ir Alpių kalnuose, kur vykdoma griežta genetinė atranka; taip pat *A. m. mellifera* bitės saugojimui skirtas visas Glaros kantonas (<http://www.mellifera.ch>).

Apibendrinant galima teigti, kad didžiausios Vidurio Europos tamsiosios *Apis mellifera mellifera* bitės populiacijos yra išlikusios Norvegijoje, Švedijoje ir, galimai, Rusijoje. Austrijoje, Šveicarijoje, Prancūzijoje, Didžiojoje Britanijoje ir Lenkijoje yra išlikusių grynų *A. m. mellifera* linijų (Jensen et al., 2005a; Ruottinen et al., 2014). Danijoje, Suomijoje ir Latvijoje *A. m. mellifera* populiacijos yra labai mažos, artėjančios prie išnykimo ribos, tačiau bitininkų iniciatyva vis dar išlaikomos (Ruottinen et al., 2014). Duomenų apie Estijos, kaip ir Lietuvos, *A. m. mellifera* dabartinę bičių populiaciją nėra.

3. TYRIMŲ OBJEKTAS IR METODAI

3.1. *Apis mellifera* bitės genetinių žymenų kintamumo įvertinimas pagal Genų banke saugomus duomenis

Palyginti Genų banke saugomi medunešės bitės genetiniai žymenys (mitochondrinės DNR CO1–CO2 tarpgeninio intarpo, CO1-5', CytB, ND5 ir kt.), patalpinti tiriant Europos miškų zonos porūšio *Apis mellifera mellifera* bites. Žymenų kintamumas vertintas naudojant bendrą *p*-atstumą (pakitusių nukleotidų dalį bendrame žymens nukleotidų skaičiuje) tarp visų Genų banke saugomų to žymens sekų. Įvertinti 9 mitochondrinės DNR (mtDNR) žymenys ir 3 branduolio DNR (bDNR) žymenys. Vertintas žymenų ilgis, genų banke aptiktų tinkamų vertinimui sekų skaičius ir nustatytas bendras *p*-atstumas.

3.2. Bičių mėginių rinkimas

Siekiant suformuoti išorinę grupę (*outgroup*) filogenetinei analizei, 2017 m. tyrimams rinkti *Apis mellifera* bičių mėginiai iš bitynų, kurių savininkai teigė, kad laiko ir veisia žinomų porūšių bites: *A. m. carnica* mėginiai – iš 7 bičių šeimų (Kauno, Jurbarko, Kėdainių ir Vilniaus r.), *A. m. caucasica* – iš 2 (Šiaulių r.), *A. m. x buckfast* – iš 5 bičių šeimų (Tauragės ir Kauno r.).

Vykdam vietinės *A. m. mellifera* bitės paieškas, bičių, *A. mellifera*, mėginiai rinkti bitynuose, naudojančiuose senus bitininkavimo metodus (spiečių gaudymas, kelminiai aviliai, savaiminis motinų pasikeitimas ir t. t.) (2 pav.), esančiuose didžiuosiuose Lietuvos miškų masyvuose bei atokiai nuo stambių bitynų, užsiimančių šiuolaikine intensyvia bitininkyste.

Tokių bitynų ieškota dviem būdais:

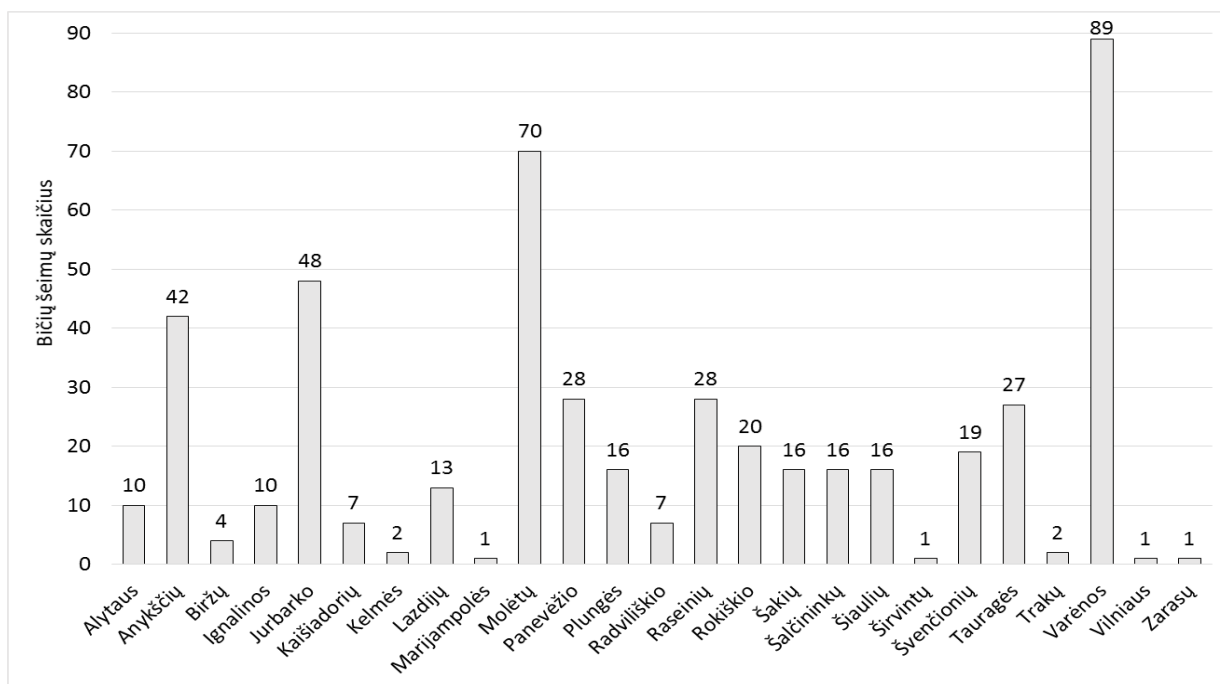
- 1) kontaktuojant su rajonų bitininkų draugijų pirmininkais ar kitais bitininkais buvo gaunama informacija apie bitininkus, pas kuriuos bitynuose galėtų būti išlikusių vietinių bičių;
- 2) vykstant į ekspedicijas po nacionalinius parkus, didžiuosius miškų masyvus ir bitynuose, esančiuose miškų apsuptyje, buvo renkami bičių mėginiai.

Bičių mėginiai rinkti 25 Lietuvos rajonuose (3 pav.), 65 bitynuose, kurių dalis išsidėstę didžiuosiuose Lietuvos miškų masyvuose: Šimonių girioje, Labanoro girioje, Žaliojoje girioje, Karšuvos girioje, Dainavos (Gudų) girioje, Rūdininkų girioje, Kazlų Rūdos miškuose. Viso surinkti mėginiai iš 494 bičių šeimų.



2 pav. *Apis mellifera* bičių mėginiai, kurie rinkti bitynuose, naudojančiuose senus bitininkavimo metodus (foto L. Blažytės-Čereškienės).

Kiekvieną mėginį sudarė apie 10 bičių darbininkių, paimtų iš vienos bičių šeimos. Kiekvieno mėginio bitės užpildos 96 % etanoliumi ir paliktos saugoti iki genetinės ir morfometrinės analizės.



3 pav. Tirtų *Apis mellifera* bičių šeimų pasiskirstymas Lietuvos rajonuose.

3.3. Genetiniai tyrimai

Apis mellifera bičių genetinės įvairovės tyrimai atlikti naudojant mitochondrinės DNR (mtDNR) žymenis (Cornuet, Garnery, 1991; Garnery et al., 1993). Nustatyta ištirtų šeimų motininės linijos priklausomybė vietiniam (M linijai) arba introdukuotam porūšiui (C linijai), įvertinta vietinio porūšio motinininių linijų (haplotipų) įvairovė.

3.3.1. Genetinės medžiagos išskyrimas

Genetiniams tyrimams naudoti 96 % etanolyje saugotų bičių krūtinės raumenų 1–2 mm³ dydžio plaušeliai. Bendros DNR išskyrimas buvo atliekamas naudojant DNR išskyrimo rinkinį „GeneJET Genomic DNA Purification Kit“ (Thermo Fisher Scientific) laikantis gamintojo protokolo. Išskirta genetinė medžiaga saugota -20°C temperatūroje iki polimerazinės grandininės reakcijos (PGR) vykdymo.

3.3.2. PGR naudoti pradmenys ir sąlygos

Polimerazės grandininės reakcijos (PGR) mišinį sudarė 25 µl Dream Taq Hot start PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific), po 0,1 µM pradmenų, 1 µl DNR ir dejonizuoto vandens (Thermo

Fisher Scientific). Nepavykus atskirti porūšių naudojant T7APIIeu-f–T3APICO2-r pradmenis, apimančius CO1–CO2 tarpgeninį intarpą, PGR vykdyta su T3Lep-f–T7Nancy-r pradmenimis, dauginančiais 750 bazių porų (bp) ilgio CO1-5' seką (3 lentelė). Neigiamai PGR kontrolei vietoje DNR naudotas sterilus distiliuotas vanduo.

3 lentelė. Specifiniai *Apis mellifera* pradmenys, naudoti tyrimuose.

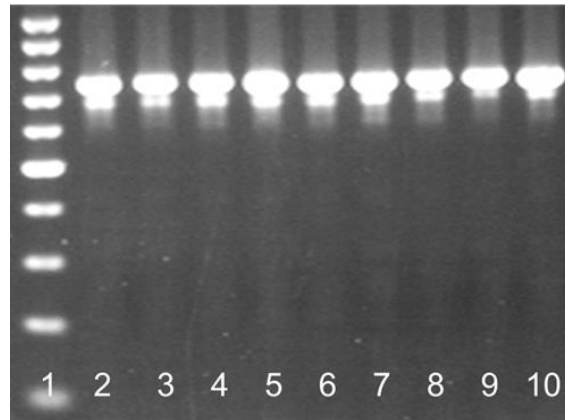
DNA žymuo	Pradmenys	PGR produkto ilgis (bp)
mtCO1-CO2 tarpgeninis intarpas	T7APIIeu (modifikuotas, forward) – T3APICO2 (modifikuotas, reverse);	<i>A. mellifera mellifera</i> >800; <i>A. mellifera</i> C grupės porūšiai (<i>A. m. carnica</i> , <i>A. m. caucasica</i> ir kt.) <600
	T3AmelCOI3-f (originalus, forward) – T7AmelCOII5-r (originalus, reverse)	<i>A. mellifera mellifera</i> >650; <i>A. mellifera</i> C grupės porūšiai (<i>A. m. carnica</i> , <i>A. m. caucasica</i> ir kt.) <450
mtCO1-5'	T3Lep (modifikuotas, forward) T7Nancy (modifikuotas, reverse)	750
sl-CSD	T3AmelCSD5- f (originalus, forward) – T7AmelCSD9-r (originalus, reverse)	780–800
	T3AmelCSD6- f (originalus, forward) – T7AmelCSD8-r (originalus, reverse)	330–360



4 pav. *Apis mellifera* porūšių mtDNR CO1-CO2 tarpgeninio intarpo PGR produktų elektroforezė. *A. m. mellifera* PGR produktų ilgis - >800 bp., *A. m. carnica* ir kitų porūšių - <600 bp.

PGR su T7APIIeu-f–T3APICO2-r pradmenimis buvo atliekamos šiomis sąlygomis: 5 min 95°C trukusi pradinė denatūracija; 35 ciklai, sudaryti iš denatūracijos 40 s 94°C, pradmenų prisijungimo 40 s 55°C ir sintezės 1 min 72°C; galutinė sintezė 7 min 72°C.

PGR su T3Lep-f-T7Nancy-r pradmenimis vykdytos šiomis sąlygomis: 5 min 95°C trukusi pradinė denatūracija; 35 ciklai, sudaryti iš denatūracijos 40 s 94°C, pradmenų prisijungimo 40 s 50°C ir sintezės 1 min 72°C; galutinė sintezė 7 min 72°C.



5 pav. *Apis mellifera* porūšių mtDNR CO1-5' sekos PGR produktų elektroforezė. PGR produktų ilgis – 750 bp. 1 – liniuotė; 2–3 – *A. m. carnica* (C5, C7); 4–5 – *A. m. x buckfast* (B4, B); 6 – *A. m. caucasica* (K2); 7–10 – *A. m. mellifera* (8, 25, 26, 29).

Gauti PGR produktai vertinti elektroforezės būdu (4 ir 5 pav.): jie buvo užnešti ant 1 % agarozės (Thermo Fisher Scientific) gelio 1x TBE buferyje (Thermo Fisher Scientific), dažyti 10 mg/ml etidžio bromidu (Carl Roth) ir fotografuoti UV šviesoje. Sekos ilgio nustatymui naudota O'GeneRuler™ 100 bp DNR liniuotė (Thermo Fisher Scientific).

3.3.3. PGR produkto valymas ir siuntimas sekoskaitai

Po sekų padauginimo, pradmenų ir dNTP perteklius šalintas pagal standartinį egzonukleazės I ir krevečių šarminės fosfatazės (*Exonuclease I/Shrimp Alkaline Phosphatase*) protokolą (Thermo Fisher Scientific). Išvalytas PGR produktas siųstas sekoskaitai į Macrogen sekvenavimo centrą (Seulas, Pietų Korėja), naudojančią BigDye® Terminator v3.1 Cycle (Applied Biosystems) sekvenavimo rinkinį.

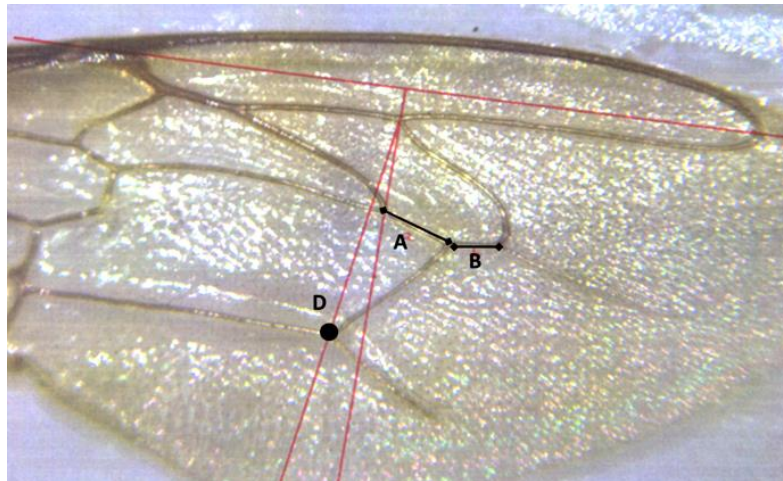
3.3.4. Statistinė analizė

Lietuvos vietinio medunešės bitės porūšio *Apis mellifera mellifera* motininių linijų (haplotipų) skaičius nustatytas pagal Jukes-Cantor modelį naudojantis DnaSP (DNA Sequence Polymorphism) v6 10.04 programa (Rozas et al., 2017). Taip pat su šia programa atliktas Tajima molekulinės DNR evoliucijos neutralumo testas (Tajima, 1989) bei patikrintas statistinis jo patikimumas. Haplotipų tinklas sudarytas pagal Medianų jungimo (Median Joining) algoritmą naudojant PopArt (Population

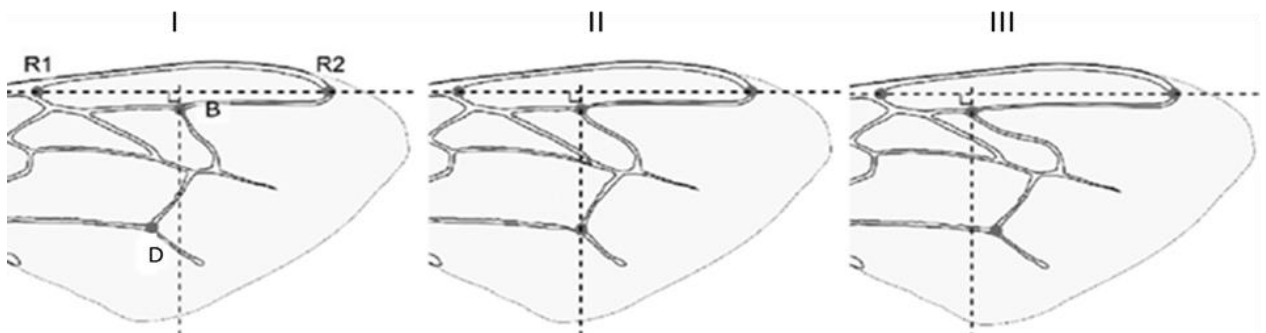
Analysis with Reticulate Trees) programą (Bandelt et al., 1999). Didžiausio tikėtimumo (Maximum Likelihood) algoritmu paremta haplotipų filogenetinio medžio rekonstrukcija atlikta naudojant programą MEGA X (Kumar et al., 2018).

3.4. Morfometriniai tyrimai

Morfometrinė analizė atlikta vertinant bitės priekinio sparno du rodiklius: kubitalinį indeksą ir diskoidalinio taško poslinkį. Išmatavus sparno kubitalines gyslas A ir B (6 pav.), skaičiuotas kubitalinis indeksas (KI) naudojant dviejų autorių metodikas: pagal G. Goetze (1940) $KI = A/B$; pagal V. V. Alpatov (1948) $KI = 100 \cdot B/A$. Diskoidalinio taško poslinkis matuotas sąlyginiais vienetais, t. y., jeigu teigiamas (+) – 1, jeigu neigiamas (-) – (-1), o jei tiesė eina per diskoidalinį tašką – 0 (7 pav.).



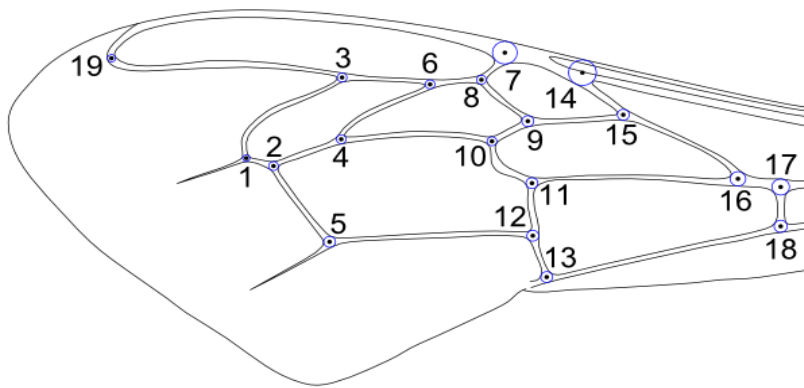
6 pav. Pagrindiniai sparno morfometriniai požymiai *Apis mellifera* porūšiams atskirti: kubitalinis indeksas (KI) (pagal G. Goetze (1940) $KI = A/B$; pagal V. V. Alpatov (1948) $KI = 100 \cdot B/A$) ir diskoidalinio taško (D) padėtis.



7 pav. Diskoidalinio taško padėties nustatymas. I – diskoidalinio taško nuokrypis neigiamas (-1); II – diskoidalinio taško padėtis nulinė (0); III – diskoidalinio taško nuokrypis teigiamas (+1)

4 lentelė. *Apis mellifera* porūšiams būdingi morfometriniai rodikliai.

Kubitalinis indeksas	Pagal Goetze metodiką	Pagal Alpatov metodiką
<i>Apis m. mellifera</i> (Lietuvoje 1966-1970)	1,81-1,90 (Mizis, 1979)	51,65-64,00 (Straigis, 1979)
<i>Apis m. mellifera</i>	1,7 (1,3–2,1)	-
<i>Apis m. carnica</i>	2,7 (2,4–3,0)	-
<i>Apis m. caucasica</i>	2,04 (1,38–3,07)	-
<i>Apis m. x buckfast</i>	2,43 (1,71–2,83)	-
Diskoidalinio taško poslinkis		
<i>Apis m. mellifera</i>		– (-1)
<i>Apis m. carnica</i>		+ (+1)
<i>Apis m. caucasica</i>		0 (0)
<i>Apis m. x buckfast</i>		+ (+1)



8 pav. Programos *IdentiFly*, nustatant *Apis mellifera* porūšį, naudojamas 19 taškų išdėstymas ant bitės darbininkės priekinio sparno (Nawrocka et al., 2018).

Norėdami palyginti mūsų tirtų potencialiai vietinių bičių diskoidalinio taško poslinkį, skaičiavome procentinį minusinio diskoidalinio poslinkio dydį, t. y. taip pat, kaip jis buvo skaičiuotas anksčiau publikuotuose apie Lietuvos vietinę bitę darbuose (Straigis, 1979; Balžekas, Straigis, 1978). Matuotų rodiklių ribos, būdingos *A. mellifera* bičių porūšiams, pateiktos 4 lentelėje.

Morfometrinių matavimų metu gauti duomenys apdoroti klasterinės analizės UPGA jungties atstumo metodu naudojantis kompiuterine programa Statsoft Statistica 6.0. Taip pat bičių *A. mellifera* porūšio nustatymui naudota kompiuterinė programa *IdentiFly* (Nawrocka et al., 2018), kuri pagal priekinių sparnų geometrinę morfometriją (8 pav.) leidžia identifikuoti konkretų *A. mellifera* bičių porūšį.

4. REZULTATAI

4.1. *Apis mellifera* bitės genetinių žymenų kintamumo įvertinimas pagal Genų banke saugomus duomenis

Vertintų *Apis mellifera* 9 mtDNR žymenų ir 3 bDNR žymenų ilgis, Genų banke aptiktų tinkamų vertinimui sekų skaičius ir nustatytas bendras p -atstumas pateikti 5 lentelėje:

5 lentelė. Genų banke aptiktų tinkamų vertinimui sekų skaičius ir nustatytas bendras p -atstumas.

Žymuo	Ilgis (bp)	Sekų skaičius	Bendras p -atstumas
mtDNR CO1-5'	585	210	0,0105
mtDNR CO1-3'	823	81	0,0083
mtDNR CO2	678	9	0,0103
mtDNR ND2	378	61	0,0042
mtDNR ND5	553	13	0,0041
mtDNR CytB	468	18	0,0064
mtDNR 16S rRNR	342	30	0,0078
mtDNR tRNR-leu-CO2 (tarpgeninis intarpas)	192-1030	89	0,0133
mtDNR D-loop (kontrolės regionas)	905-984	54	0,0182
bDNR ITS1	131	16	0,0054
bDNR ITS2	613	4	0,0033
bDNR 28S rRNR	472	6	0,0021
bDNR sl-CSD	1176-1281	68	0,0405

Vertinimo rezultatai rodo, kad mtDNR 2-as ir 5-as NADH dehidrogenazės subvienetai (ND2 ir ND5) bei bDNR žymenys ITS1, ITS2 ir 28S rRNR turi santykinai mažą kintamumą, todėl tiek porūšių atskyrimui, tiek vietinės populiacijos charakterizavimui ir atskyrimui nuo kitų to paties porūšio populiacijų yra mažiausiai tinkami iš tirtų žymenų. ND2 genas varijuoja tarp medunešės bitės C grupės porūšių (*A. m. carnica*, *A. m. carpathica*, *A. m. caucasica*, *A. m. ligustica* ir kt.), tad yra tinkamiausias jų atskyrimui, tačiau mažai varijuoja *A. m. mellifera* porūšyje. Žymenį ITS2, pasižymintį didesniu kintamumu, sudėtinga sekvenuoti dėl jo didelio ilgio, netinkamo Sangerio sekvenavimui, bei dėl genome esančių daugelio jo kopijų neidentiškumo tame pačiame organizme. Todėl išvardintų žymenų panaudojimas porūšių ar populiacijų atskyrimui yra netikslingas.

Žymuo tRNR-leu-CO2 (CO1-CO2 tarpgeninis intarpas – nekoduojanti mtDNR seka tarp leucino transportinės RNR ir citochromo oksidazės c 2-ojo subvieneto geno) yra geriausiai ištirtas ir plačiausiai naudojamas žymuo tiek porūšių atskyrimui, tiek ir atskirų populiacijų bei veisimo linijų identifikavimui. Šiuo metu genų banke publikuota apie 900 skirtingų šio DNR žymens haplotipų (mitotipų), priklausančių įvairiems medunešės bitės porūšiams (nurodomi haplotipų skaičiai apytikriai, kadangi jie keičiasi, redaguojant genų banko duomenis). Iš jų apie 170 haplotipų priklauso *A. m. mellifera* porūšio bitėms.

Porūšius taip pat puikiai skiria mtDNR žymenys CO1-5', CO1-3', CO2 ir CytB; jie pasižymi ir kintamumu porūšių viduje, tad tinkami tiek vietinės bitės *A. m. mellifera* porūšio atskyrimui nuo įvežtinių, tik ir vietinių populiacijų charakterizavimui, siekiant jas atskirti nuo kitų to paties porūšio populiacijų.

Žymuo 16S rRNR irgi pasižymi ženkliu kintamumu ir galimai yra tinkamas populiacijų charakterizavimui, tačiau Genų banke saugomų sekų pagrindu atlikę palyginimą, tinkamų požymių vietinės bitės *A. m. mellifera* porūšio atskyrimui nuo įvežtinių neaptikome.

Mitochondrinės DNR kontrolinis regionas (D-loop) pasižymi dideliu kintamumu ir leidžia charakterizuoti atskiras bičių populiacijas bei veisimo linijas, tačiau jų kintamumas porūšių viduje yra per didelis, kad jie būtų tinkami vietinės bitės *A. m. mellifera* porūšio atskyrimui nuo įvežtinių. Tad šis žymuo nėra naudingas porūšių atskyrimui, tačiau leidžia identifikuoti populiacijas ir veisimo linijas porūšio viduje. Tačiau tam, kad šį žymenį panaudoti praktikoje, jo kintamumą dar būtina papildomai tirti.

Išvardinti mitochondriniai žymenys leidžia nustatyti ir aprašyti medunešės bitės motininę liniją, tačiau neleidžia įvertinti genų introgresijos tarp porūšių bei nustatyti tėvinės linijos.

Iš ištirtų branduolio žymenų didžiausiu kintamumu pasižymintis ir tinkamiausias tėvinės linijos identifikavimui yra komplementaraus lyties nustatymo genas (sl-CSD). Genų banke publikuota apie 70 šio geno skirtingų sekų (alelių). Labai didelis šio geno kintamumas leidžia tiksliai identifikuoti medunešės bitės šeimų tėvines linijas pagal tranų genus.

4.2. Įvežtinių *Apis mellifera* bičių porūšių tyrimai

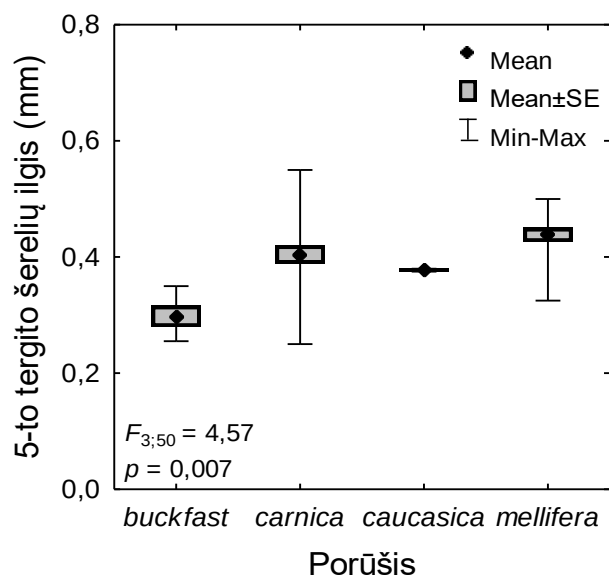
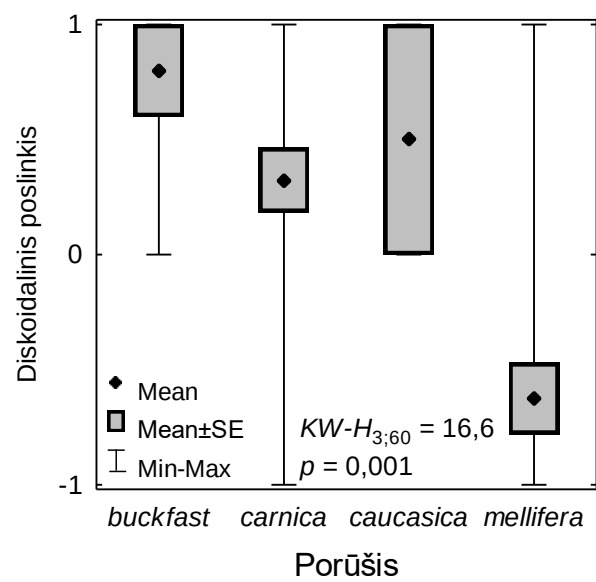
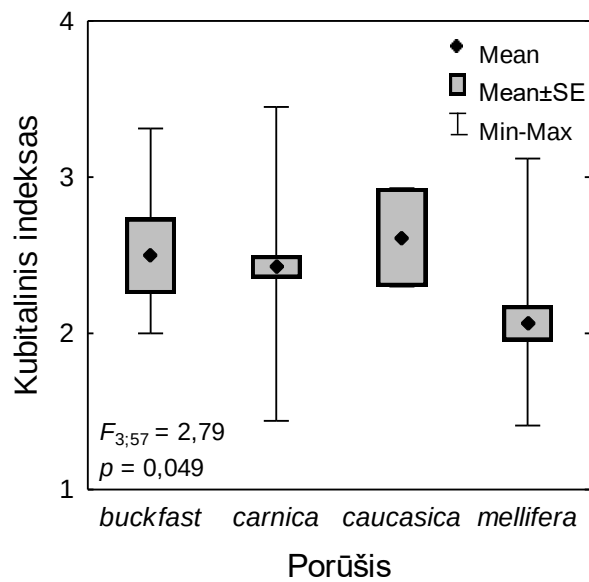
Morfometriškai ištyrus surinktą Lietuvoje veisiamų *Apis mellifera carnica*, *A. m. caucasica* ir *A. m. x buckfast* bičių medžiagą, nustatytas ženklus jų atitikimas porūšių standartams. Tačiau aptikta, kad gausiausiai veisiamos *A. m. carnica* bitės, kurių motininės linijos priklausomybė šiam porūšiui buvo

patvirtinta genetiniais tyrimais, turi pastebimą morfometrinių požymių poslinkį link vietinio *A. m. mellifera* porūšio požymių (9 pav. ir 6 lentelė). Tai patvirtina hipotezę, kad dalis Lietuvos bitynuose veisiamų bičių yra mišrios kilmės.

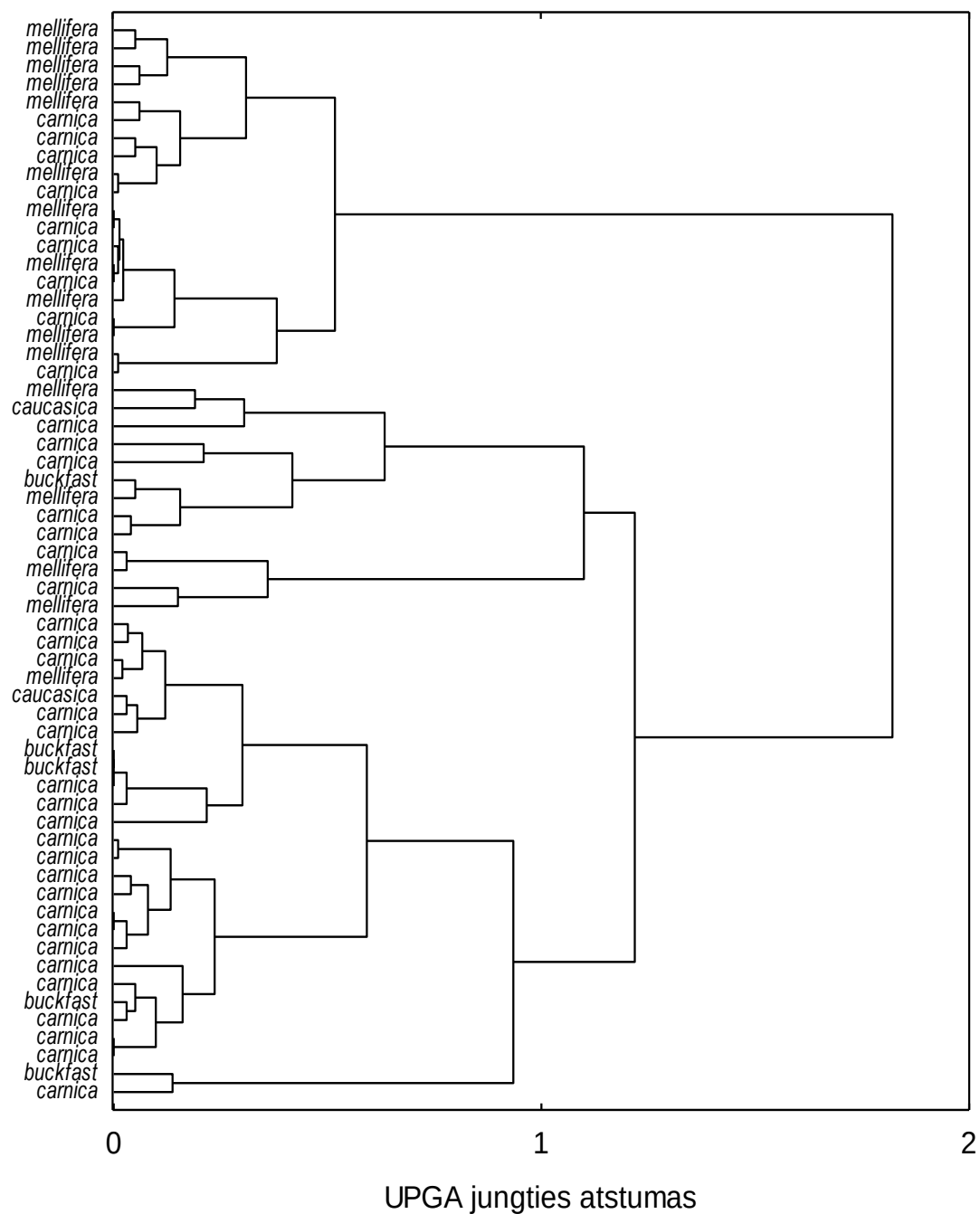
6 lentelė. Lietuvoje veisiamiems įvežtiniams ir vietiniam medunešės bitės porūšiams būdingi pagrindiniai morfometriniai požymiai ir šių požymių reikšmės ištirtose bitėse, kurių porūšis nustatytas pagal genetinius motininės linijos (mtDNR) žymenis.

	Porūšiui būdingos rodiklio ribos	Lietuvoje ištirtų bičių rodiklis	Ištirtų bičių skaičius
Kubitalinis indeksas			
<i>Apis. m. mellifera</i>	1,7 (1,3–1,9)		
<i>Apis. m. carnica</i>	2,7 (2,4–3,0)	2,42±0,07 (1,44–3,45)	38
<i>Apis. m. caucasica</i>	2,04 (1,38–3,07)	2,61±0,32 (2,30–2,93)	2
<i>Apis. m. x buckfast</i>	2,43 (1,71–2,83)	2,50±0,24 (2,00–3,31)	5
Diskoidalinis poslinkis			
<i>Apis. m. mellifera</i>	– (-1)		
<i>Apis. m. carnica</i>	+ (+1)	0,32±0,14 (-1 – 1)	37
<i>Apis. m. caucasica</i>	0 (0)	0,50±0,50 (0 – 1)	2
<i>Apis. m. x buckfast</i>	+ (+1)	0,80±0,20 (0 – 1)	5
5-to tergito šerelių ilgis			
<i>Apis. m. mellifera</i>	0,40-0,60		
<i>Apis. m. carnica</i>	0,25-0,35	0,40±0,02 (0,25–0,55)	31
<i>Apis. m. caucasica</i>	0,25-0,4	0,38±0,01 (0,37–0,38)	2
<i>Apis. m. x buckfast</i>		0,30±0,02 (0,25–0,35)	5

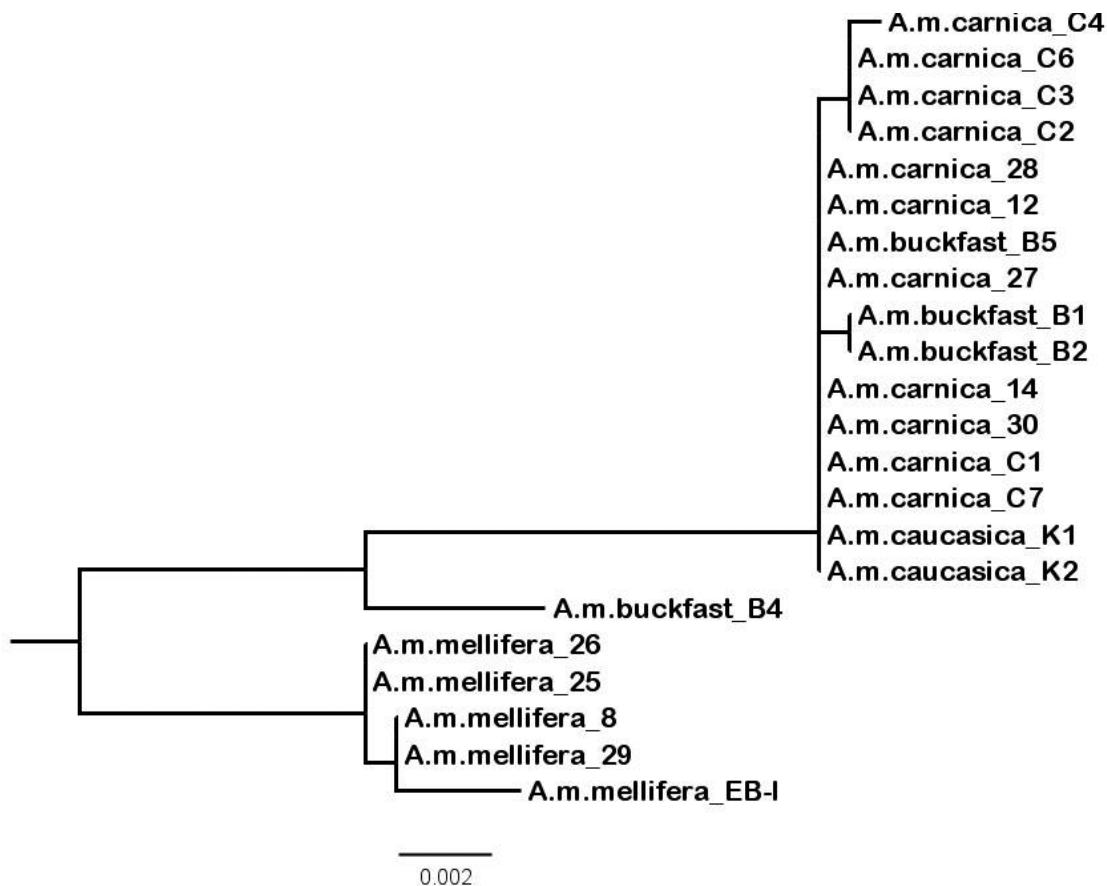
Tiek veisiamų įvežtinių *A. m. carnica*, tiek ir išlikusių vietinių *A. m. mellifera* bičių mišrią kilmę patvirtina jų morfometrinio panašumo įvertinimas klasterinės analizės pagalba (10 pav.). Nors dauguma įvežtinių bičių patenka į atskirą klasterį nuo daugumos vietinių, tačiau gerai matyti, kad dalis genetiškai vietinių bičių yra panašios į įvežtines ir patenka į jų klasterį, o dalis genetiškai įvežtinių morfometriškai panašios į vietines.



9 pav. Ištirtų bičių porūšius charakterizuojantys morfometriniai požymiai: kubitalinis indeksas, diskoidalinis poslinkis ir 5-to tergito plaukelių ilgis. Bičių porūšiai nustatyti genetiškai pagal motininės linijos (mtDNR) žymenis.



10 pav. Ištirtų bičių morfometrinis panašumas pagal tris požymius (kubitalinį indeksą, diskoidalinį poslinkį ir 5-o tergito plaukelių ilgį) pagal klasterinės analizės UPGA jungties atstumo metodą. Bičių porūšiai nustatyti genetiškai pagal motininės linijos mtDNR žymenis.



11 pav. Genetiškai ištirtų bičių filogenijos rekonstrukcija, atlikta didžiausio tikėtimumo (Maximum Likelihood) algoritmo pagalba, panaudojus mtDNR CO1-5' ir CO1-3' žymenis.

Įvežtinių porūšių genetinių tyrimų rezultatai rodo, kad dauguma pietų Europos kalnų porūšiams priklausančių (*A. m. carnica*, *A. m. caucasica*) ar iš jų išvestų (*A. m. x buckfast*) įvežtinių bičių motininė linija genetinė įvairovė, išskyrus vieną šeimą su iš Prancūzijos atvežta motina (B4), labai nedidelė (vidugrupinis atstumas $d = 0,0005 \pm 0,0003$) ir filogenetiškai labai gerai atsiskiria nuo *A. m. mellifera* porūšio bičių (11 pav.).

4.3. Vietinių *Apis mellifera mellifera* bičių paieškos genetinių tyrimų rezultatai

Genetiškai ištyrus 25 Lietuvos rajonuose surinktą medžiagą, 16 rajonų aptiktos 224 vietinio medunešės bitės porūšio, *Apis mellifera mellifera*, motininės linijos šeimos (45,3 %); 9 rajonuose aptiktos tik įvežtinėms C linijos porūšiams (*A. m. carnica*, *A. m. caucasica*, *A. m. x buckfast*) priklausančios motininė linija šeimos (7 lentelė).

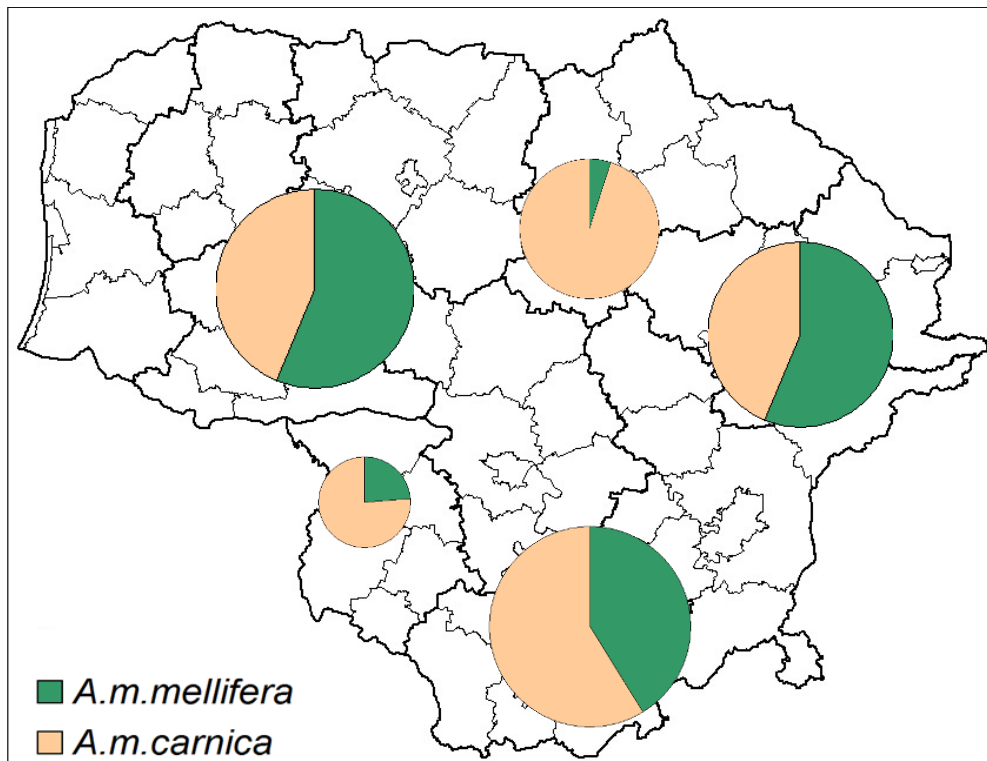
Didžiausias vietinio porūšio motininių linijų šeimų skaičius rastas Molėtų ir Varėnos (po 41 šeimą), Jurbarko (34 šeimos) ir Tauragės (25 šeimos) rajonuose. Skaičiuojant nuošimtį, didžiausia vietinių bičių dalis aptikta Kelmės (100 %, tačiau tik 2 ištirtos šeimos), Tauragės (92,6 % iš 27 šeimų), Šalčininkų (87,5 % iš 16 šeimų), Švenčionių (73,7 % iš 19 šeimų), Jurbarko (70,8 % iš 48 šeimų), Ignalinos (70 % iš 10 šeimų), Molėtų (58,6 % iš 70 šeimų), Raseinių (57,1 % iš 28 šeimų), Rokiškio (55 % iš 20 šeimų) ir Varėnos (46,1 % iš 89 šeimų) rajonuose. Įvežtiniais porūšiams priklausančių motininių linijų šeimų aptikta visuose tirtuose rajonuose, išskyrus Kelmės.

7 lentelė. Vietinio *Apis mellifera mellifera* ir įvežtinių *A. m. carnica*, *A. m. caucasica*, *A. m. x buckfast* medunešės bitės porūšių genetiškai ištirtų šeimų skaičius Lietuvos rajonuose.

Rajonas	Bičių šeimų skaičius:			Vietinių dalis, %
	Viso	Iš jų vietinės	Iš jų įvežtinės	
Alytaus	10	2	8	20,0
Anykščių	42	4	38	9,5
Biržų	4	0	4	0
Ignalinos	10	7	3	70,0
Jurbarko	48	34	13	70,8
Kaišiadorių	7	0	7	0
Kelmės	2	2	2	100
Lazdijų	13	2	11	15,4
Marijampolės	1	0	1	0
Molėtų	70	41	29	58,6
Panevėžio	28	0	28	0
Plungės	16	3	13	18,8
Radviliškio	7	0	7	0
Raseinių	28	16	12	57,1
Rokiškio	20	11	9	55,0
Šakių	16	5	11	31,25
Šalčininkų	16	14	2	87,5
Šiaulių	16	3	13	18,75
Širvintų	1	0	1	0
Švenčionių	19	14	5	73,7
Tauragės	27	25	2	92,6
Trakų	2	0	2	0
Varėnos	89	41	48	46,1
Vilniaus	1	0	1	0
Zarasų	1	0	1	0
viso:	494	224	271	45,3%

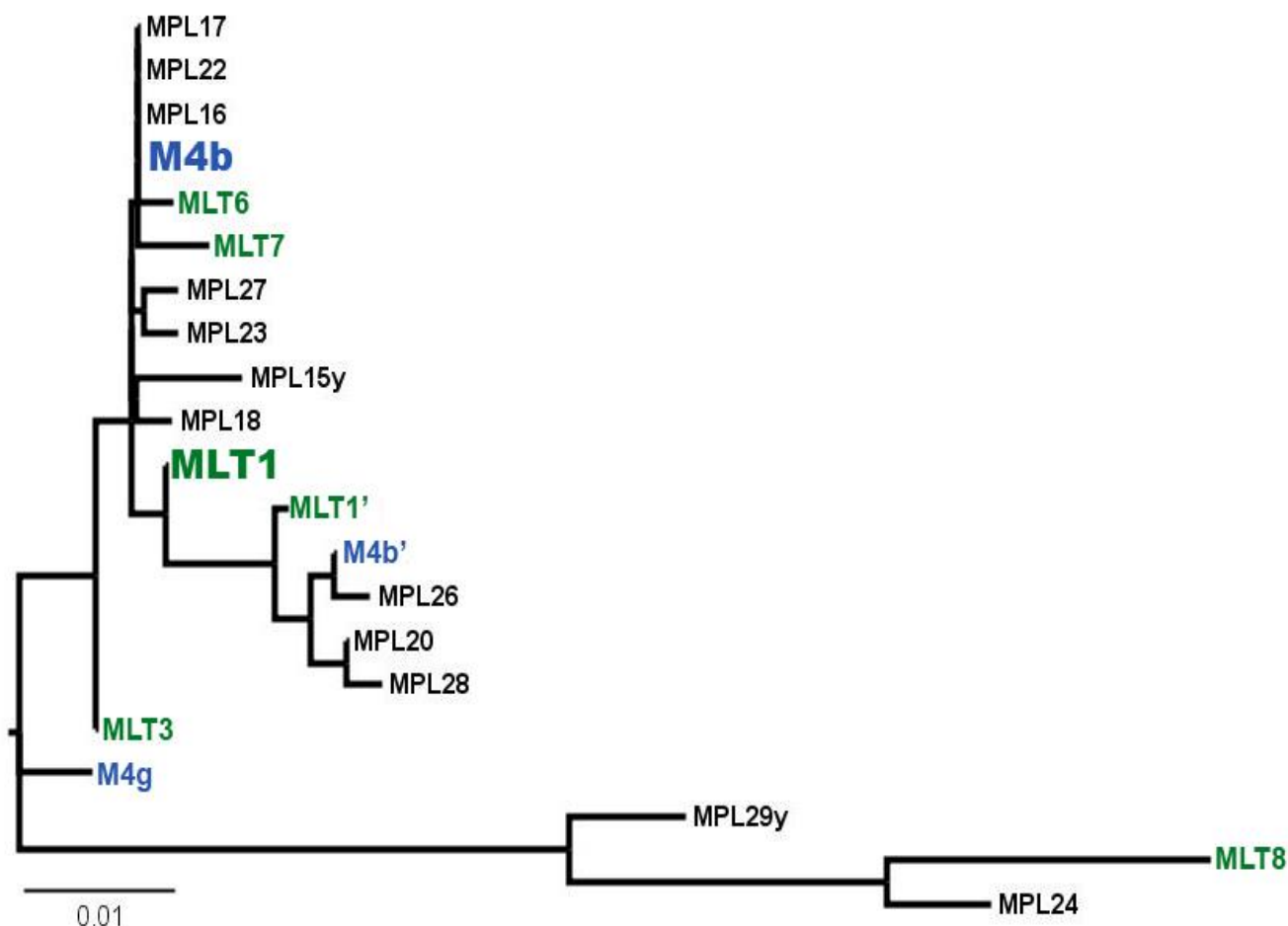
Didžiausias vietinio *A. m. mellifera* porūšio motininėms linijoms priklausančių šeimų skaičius (daugiau kaip pusė visų ištirtų šeimų) aptiktas vakarinėje Lietuvos dalyje, Karšuvos girioje buvusio

vietinių bičių draustinio teritorijoje ir aplinkinėse Žemaitijos vietovėse – Tauragės, Jurbarko, Raseinių ir Kelmės rajonuose. Taip pat daugiau nei pusė ištirtų šeimų priklausė vietinio porūšio motininėms linijoms rytinėje Lietuvos dalyje, Švenčionių, Molėtų, Ignalinos ir Rokiškio rajonuose. Dzūkijoje – Varėnos, Šalčininkų ir Lazdijų rajonuose – vietinių bičių motininės linijos irgi buvo santykinai gausios, nors ir sudarė mažiau pusės visų ištirtų šeimų. Šiaurės ir Vidurio Lietuvoje bei Suvalkijoje vyravo introdukuotų porūšių (*A. m. carnica*, *A. m. caucasica*, *A. m. x buckfast*) motininės linijos priklausančios šeimos (12 pav.).



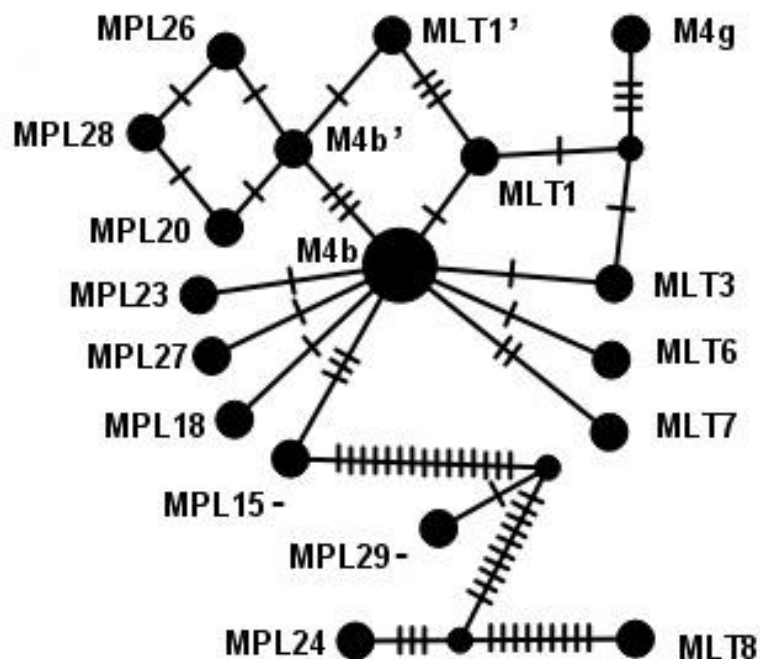
12 pav. Vietinio (*Apis mellifera mellifera*) ir introdukuotų (*A. m. carnica*, *A. m. caucasica*, *A. m. x buckfast*) medunešės bitės porūšių motininių linijų pasiskirstymas Lietuvos regionuose. Skritulinių diagramų dydis proporcingas ištirtų šeimų skaičiui.

Atlikus 180 vietinės medunešės bitės mitochondrinės DNR CO1–CO2 tarpgeninio intarpo sekoskaitą, Lietuvoje aptiktos 9 motininės linijos (haplotipai). Prie jų pridėję iš kolegų gautus papildomus nepublikuotus Baltarusijoje ir Lenkijoje atliktų genetinių tyrimų rezultatus, nustatėme mūsų ir kaimyninėse šalyse aptiktų 21 haplotipo giminingumą (13 pav.). Iš jų 4 (M4b, M4b' ir M4g) yra žinomi taip pat ir Vakarų Europoje (Rortais et al., 2011; Pinto et al., 2014). Kiti 17 nustatyti pirmą kartą; iš jų 4 haplotipai (MLT1, MLT1', MLT3, MLT6, MLT7 ir MLT8) kol kas žinomi tik iš Lietuvos; likę dar 12 aptikti tik Lenkijoje.



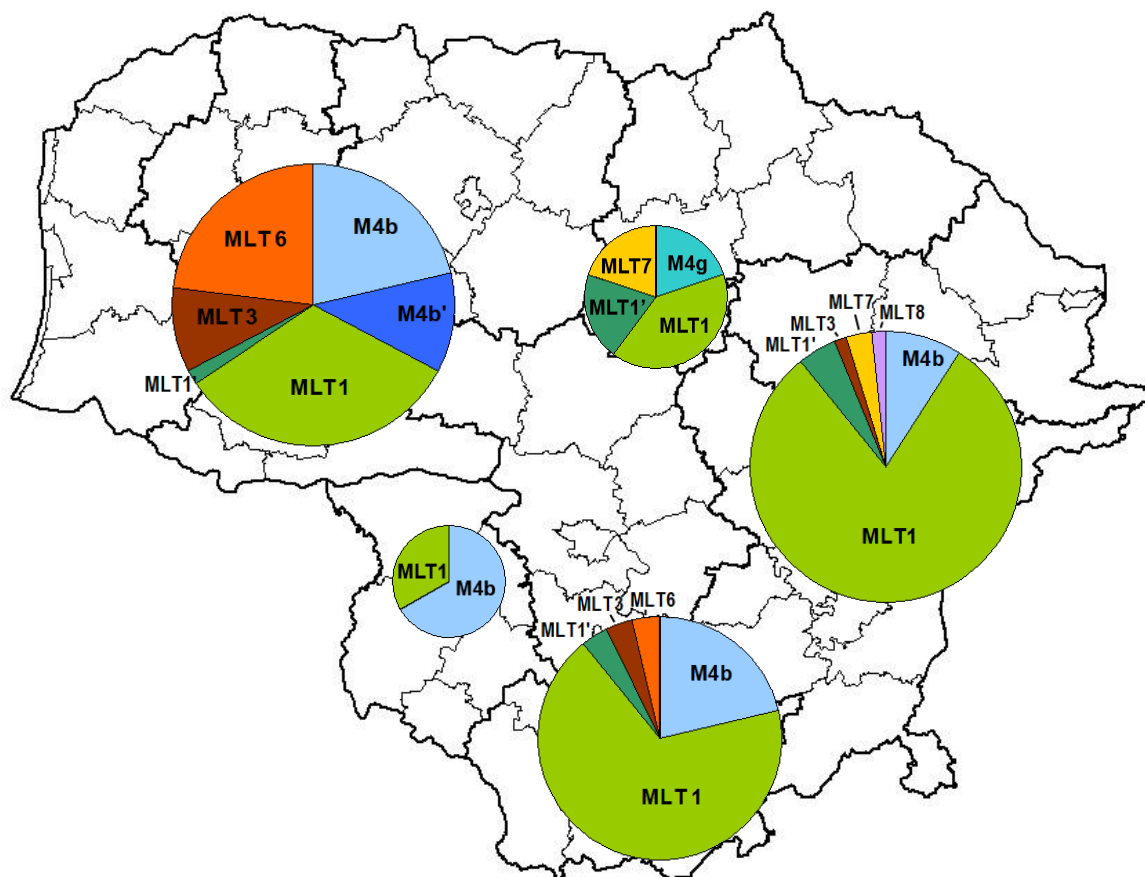
13 pav. Vietinio medunešės bitės porūšio (*Apis mellifera mellifera*) Lietuvoje ir Lenkijoje aptiktų motininės linijos haplotipų filogenetinis medis, rekonstruotas naudojant didžiausio tikėtinumo (Maximum Likelihood) algoritmą. Kol kas tik Lietuvoje žinomi haplotipai pažymėti žaliai; Lietuvoje aptikti ir Vakarų Europoje žinomi haplotipai pažymėti mėlynai. Likę haplotipai aptikti šiaurinėje Lenkijoje.

Būtina pažymėti, kad didžiausią ištirtų Lietuvos bičių motininių linijų dalį sudaro šio tyrimo metu aptiktas ir kol kas nepaskelbtas mokslinėje literatūroje haplotipas MLT1 (taip pat šio tyrimo metu aptiktas ir Baltarusijoje), kuris artimas vakarų Europoje plačiai paplitusiam haplotipui M4 ir skiriasi nuo jo 1 delecija. Įdomus ir kol kas tik Lietuvoje aptiktas net keliomis pakaitomis besiskiriantis haplotipas MLT8 (14 pav.).



14 pav. Vietinio medunešės bitės *Apis mellifera mellifera* porūšio Lietuvoje ir Lenkijoje aptiktų motininės linijos haplotipų tinklas, sudarytas pagal Medianų jungimo (Median Joining) algoritmą. Ant haplotipus jungiančių linijų esantys brūkšneliai nurodo nukleotidų pakaitų ar indelių skaičių (genetinį atstumą). *A. m. mellifera* porūšio (M) Lietuvoje aptikti haplotipai pažymėti raidėmis „LT“, o Lenkijoje rasti haplotipai pažymėti raidėmis „PL“; haplotipai M4b, M4b' ir M4g paplitę ir Vakarų Europoje.

Lietuvoje vietinių bičių (*A. m. mellifera*) motininių linijų didžiausia genetinė įvairovė pasižymi Karšuvos girios (buvusio vietinių bičių draustinio) ir aplinkinių vietovių populiacija (15 pav.). Čia aptikti net 6 skirtingi haplotipai. Du neaprašyti haplotipai (MLT3 ir MLT6) yra bendri su šiaurinės Lenkijos (Augustavo girios) bičių populiacija; šie du, taip pat haplotipas MLT1', aptikti taip pat ir rytinės Lietuvos dalies vietinių bičių populiacijose. Tačiau gausiausias šioje populiacijoje, daugiau kaip trečdalį populiacijos sudaro Lietuvai ir Baltarusijai būdingas haplotipas MLT1, kuris Lenkijoje ir Vakarų Europoje nėra aptiktas. Antra vertus, Vakarų Europai būdingi haplotipai M4b ir M4b' irgi sudaro apytikriai trečdalį Karšuvos girios vietinių bičių populiacijos.



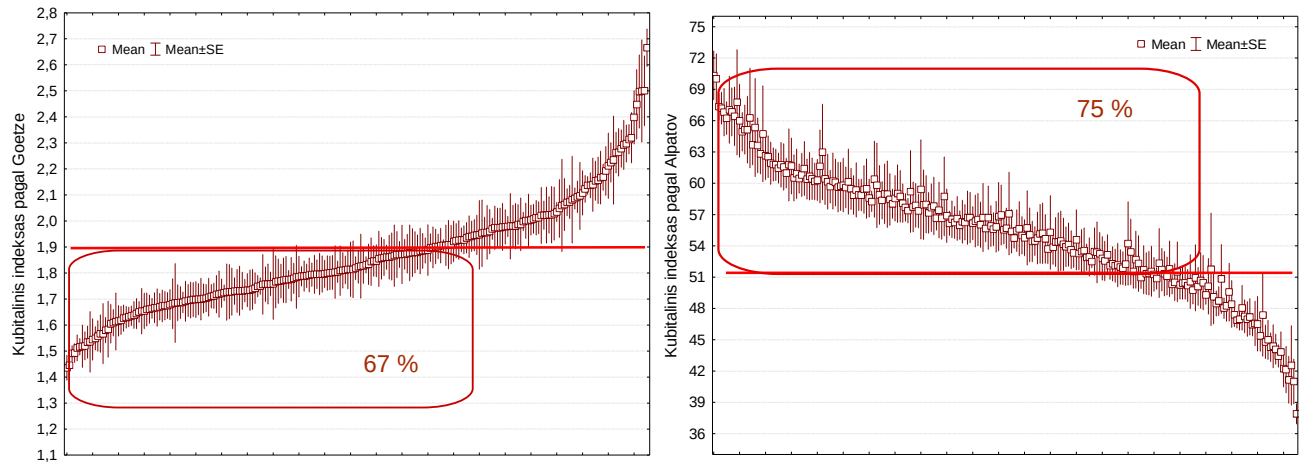
15 pav. Vietinio medunešės bitės *Apis mellifera mellifera* porūšio motininių linijų mtDNR CO1–CO2 intarpo haplotipų pasiskirstymas Lietuvos regionuose. Apskritimų, žyminčių haplotipus, dydis yra proporcingas ištirtų individų skaičiui. Į tik Lietuvoje aptiktų dar nepublikuotų haplotipų pavadinimus įtrauktos raidės LT.

Rytų Lietuvoje genetinė įvairovė kiek mažesnė, čia vyrauja Lietuvos bitėms būdingas, taip pat ir Baltarusijoje aptinkamas haplotipas MLT1; rečiau aptinkamas Vakarų Europai būdingas haplotipas M4b. Tačiau čia taip pat aptikti reti ir unikalūs, kol kas tik šioje populiacijoje žinomi haplotipai MLT7 ir MLT8.

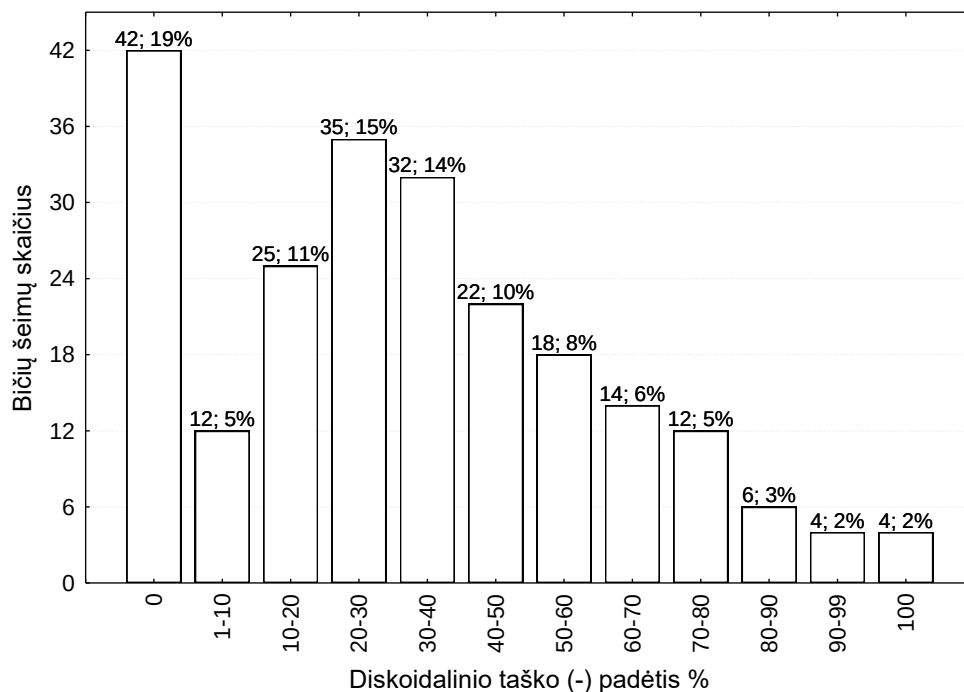
4.4. Bičių šeimų, atitinkančių *Apis mellifera mellifera* motininę liniją, morfometrinės charakteristikos

Morfometriškai tirtos tik tos bičių šeimos, kurios priklausė *Apis mellifera mellifera* porūšiui, nustatytam genetiškai pagal motininės linijos mtDNR žymenis. Šių šeimų darbininkių kubitalinis indeksas buvo nuo $1,4 \pm 0,05$ iki $2,7 \pm 0,07$ pagal Vakarų Europoje naudojamą G. Goetze (1940) metodiką arba nuo $37,9 \pm 0,97$ iki $70,3 \pm 2,34$ pagal Rytų Europoje, tame tarpe ir Lietuvoje, naudotą V. V. Alpatov (1948) metodiką. Tai rodo, kad dalis šeimų, kurių motininė linija yra *A. m. mellifera*,

neatitiko porūšiui būdingų šio indekso ribų. Tačiau 67 % tirtų bičių šeimų (150 šeimų) pagal G. Goetze (1940) metodiką arba 75 % bičių šeimų (168 šeimų) pagal V. V. Alpatov (1948) metodiką kubitalinis indeksas (16 pav.) atitiko iki 1970 m. nustatytą vietinėms bitėms būdingą rodiklį (Mizis, 1976; Straigis, 1979).



16 pav. Tirtų *Apis mellifera mellifera* porūšio bičių šeimų kubitalinis indeksas, apskaičiuotas pagal G. Goetze (1940) (kairėje) ir V. V. Alpatov (1948) (dešinėje) metodikas. Bičių porūšis nustatytas genetiškai pagal motininės linijos mtDNR žymenis. Horizontali raudona linija – ribinė požymio reikšmė. Apibrėžtoje zonoje išsidėstę taškai yra bičių šeimos, kurių kubitalinis indeksas atitinka *A. m. mellifera* porūšio ribas.

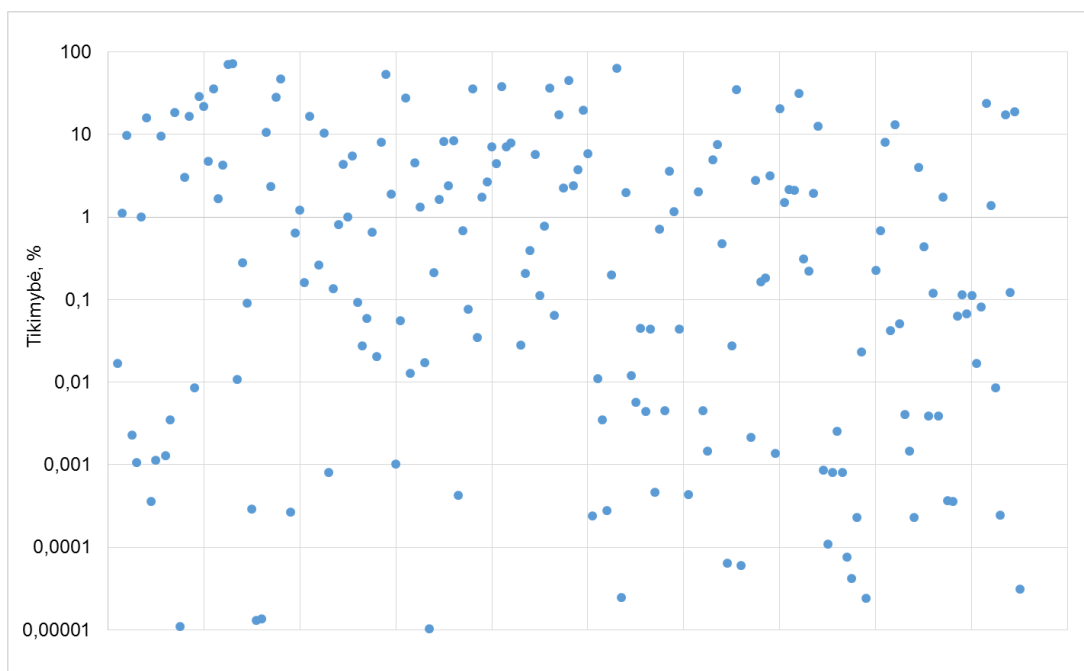


17 pav. Tirtų *Apis mellifera mellifera* porūšio bičių šeimų diskoidalinio taško neigiamos padėties histograma. Bičių porūšis nustatytas genetiškai pagal motininės linijos mtDNR žymenis.

Diskoidalinio taško padėtis tarp bičių šeimų ir tos pačios šeimos viduje tarp bičių darbininkių svyravo nuo teigiamos iki neigiamos reikšmės. Buvo aptiktos 8 bičių šeimos, kurių neigiamos diskoidalinio taško padėties dydis buvo net 90–100 % (17 pav.). Iš jų 3 bičių šeimos aptiktos Sakalinėje (Tauragės r.), 2 bičių šeimos – Musteikoje (Varėnos r.) ir po 1 bičių šeimą – Pašėšuvyje (Raseinių r.), Šiurkščiuose (Šalčininkų r.) ir Naujininkėliuose (Jurbarko r.). Šios bičių šeimos yra išlaikiusios labai ryškias vietinėms bitėms būdingas tiek kubitalinio indekso, tiek diskoidalinio taško padėties charakteristikas. 22 % bičių šeimų (50 šeimų) neigiamos diskoidalinio taško padėties dydis svyravo tarp 50 % ir 90 %, kas taip pat patenka į rodiklio ribas, aprašytas iki 1970 m. (Balžekas, Straigis, 1978; Straigis, 1979). Penkios iš šių bičių šeimų aptiktos Šiurkščiuose (Šalčininkų r.), 4 šeimos – Paviščiovyje, 3 – Naujininkėliuose, 2 – Viešvilėje, 1 – Klausučiuose (Jurbarko r.), 4 – Vaičeliuose, 3 – Šlavinoje ir 3 – Biršiuose (Molėtų r.), 4 – Bernotuose (Ignalinos r.), 3 – Puvočiuose, 2 – Musteikoje, 1 – Kabeliuose (Varėnos r.), 6 – Sakalinėje (Tauragės r.), 3 – Pašėšuvyje (Raseinių r.), po 1 šeimą Tetervinėje, Januliškyje (Švenčionių r.), Pakarniuose (Šiaulių r.), Plateliuose (Plungės r.), Lašiniuose (Anykščių r.) ir Raninėje (Šakių r.).

Apie pusę tirtų bičių šeimų (114 šeimų) turėjo mažesnę nei 50 %, tačiau didesnę nei 10 % neigiamą diskoidalinio taško padėtį. Šios bičių šeimos atitiko 1984 m. vietinių bičių draustinio teritorijoje surinktų mėginių charakteristikas, kurios, kaip teigiama, apibrėžė tuometinės Lietuvos vietinės bitės veislinius požymius (Straigis, 1987). Apie 19 % bičių šeimų (42 šeimos), turinčių *A. m. mellifera* porūšio motinos liniją, visos tirtos bitės turėjo nulinę arba teigiamą diskoidalinio taško padėtį (17 pav.).

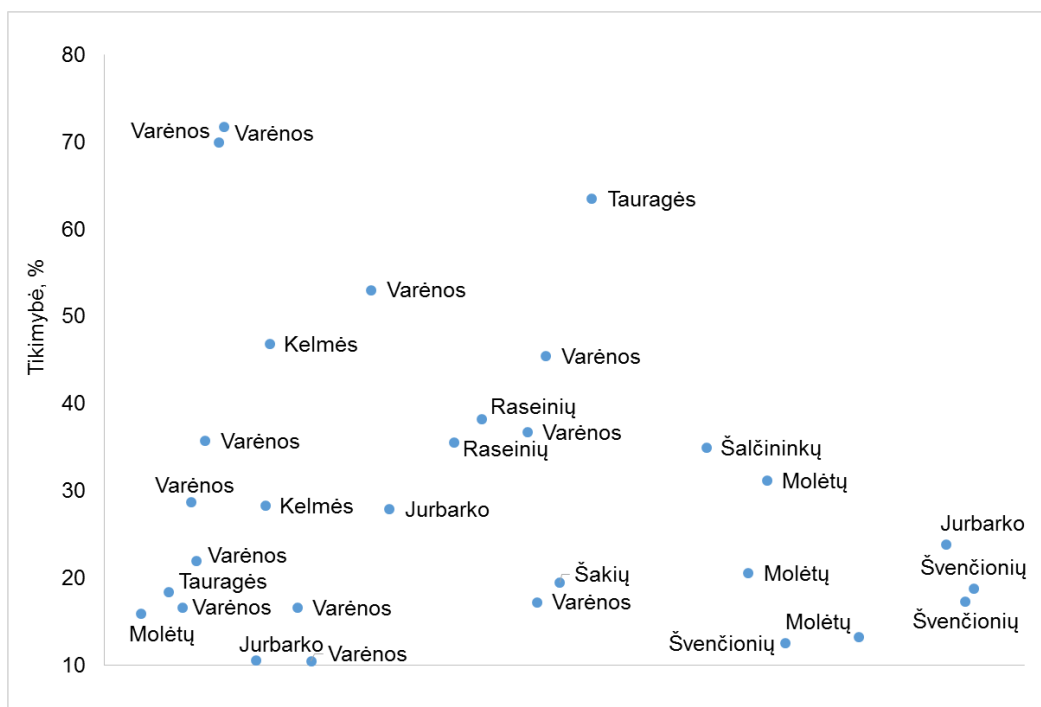
Apibendrinant galima teigti, kad apie 26 % bičių šeimų, kurių *A. m. mellifera* porūšis nustatytas genetiškai pagal motininės linijos mtDNR žymenis (arba 12 % nuo visų tirtų bičių šeimų), morfometriškai (pagal diskoidalinio taško padėtį ir kubitalinį indeksą) atitiko vietines bites, aprašytas iki 1970 m. (Straigis, 1979; Straigis, 1998), o 50 % bičių šeimų šie rodikliai atitiko 1984 m. vietinėms bitėms būdingus rodiklius (Straigis, 1987).



18 pav. Tirtų bičių šeimų atitikimas Vakarų Europos *Apis mellifera mellifera* porūšio bitėms naudojant programą *IdentiFly*.

Atlikus darbininkų priekinių sparnų geometrinę morfometrinę analizę, naudojant programą *IdentiFly* (Nawrocka et al., 2018), 85 % bičių šeimų buvo priskirta *A. m. mellifera* porūšio bitėms su didesne ar mažesne tikimybe (18 pav.). Tik 30 bičių šeimų (apie 13 %) su 10–80 % tikimybe atitiko Vakarų Europos *A. m. mellifera* porūšio standartinį mėginį (19 pav.). Didžioji dalis šių šeimų buvo aptiktos Pietų Lietuvos bitynuose (Varėnos, Jurbarko, Tauragės rajonuose). Kitų šeimų atitikimas Vakarų Europos *A. m. mellifera* porūšio standartiniam mėginiui buvo mažesnis nei 10 %. *IdentiFly* programoje naudotas standartinis mėginys yra sudarytas iš Vakarų Europos *A. m. mellifera* porūšio bičių, todėl šio porūšio Rytų Europos bitės savo morfometrinėmis charakteristikomis gali neatitikti programai kurti naudoto standarto. *IdentiFly* programos autoriai pabrėžia, kad jei priskyrimo tam tikram porūšiui tikimybė yra kelias dešimtis kartų didesnė nei priskyrimo kitiems porūšiams tikimybės, neabejotinai tirama bičių šeima yra to porūšio (Nawrocka et al., 2018).

Atsižvelgiant į gautus genetinius ir morfometrinius rezultatus, galime teigti, kad didžioji dalis aptiktų Lietuvoje vietinių bičių populiacijos skiriasi nuo Vakarų Europos *A. m. mellifera* vietinių bičių.



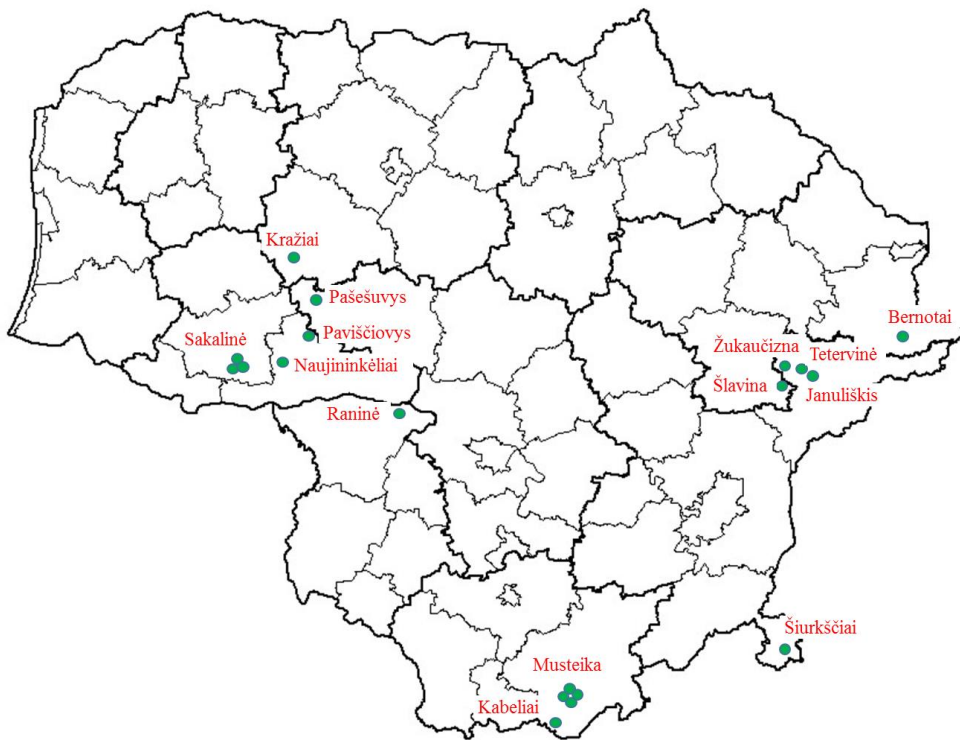
19 pav. Bičių šeimos (n = 30), 10–80 % tikimybe atitinkančios Vakarų Europos *Apis mellifera mellifera* porūšio bites. Vertinimas atliktas naudojant programą *IdentiFly*.

4.5. Atskirų bitynų aptarimas

Analizuojant atskirus tirtus bitynus, tik 10 iš 65 bitynų visų tirtų šeimų motininė linija buvo *Apis mellifera mellifera* (1 priedas), tačiau ir šiuose bitynuose mėginiai nebuvo imti iš visų bityne laikomų šeimų, o tik iš tų, kurios vizualiai arba savo elgsena buvo panašios į *A. m. mellifera* bites. Dėl to negalime teigti, kad tuose 10 bitynų laikomos tik išskirtinai vietinės bitės. Atliktas tyrimas atskleidė, kad visgi didžiojoje dalyje bitynų, kurie netaiko naujų bitininkavimo technologijų, kartu yra laikomos tiek *A. m. mellifera* motinos liniją turinčios šeimos, tiek ir C linijos bičių šeimos. Atlikta morfometrinė analizė parodė, kad dalis tirtų *A. m. mellifera* motininės linijos bičių šeimų neatitinka porūšiui būdingų morfometrinių charakteristikų (kubitalinio indekso ir diskoidalinio taško padėties rėžiu). Tai rodo ryškią įvežtinių porūšių bičių įtaką vietinio porūšio bitėms.

Galima išskirti keletą bitynų, kuriuose yra išlikęs dar nemažas skaičius vietinės bitės šeimų, kurių morfometrinės charakteristikos atitinka arba yra labai artimos *A. m. mellifera* porūšiui būdingoms charakteristikoms (20 pav.). Daugiau kaip pusė laikomų bičių šeimų, genetiškai ir morfometriškai atitinkančių *A. m. mellifera* porūšiui būdingus požymius, buvo aptikta Labanoro girioje: 3 bitynuose Švenčionių r. (Januliškyje, Tetervinėje ir Žukaučyznoje) ir 1 bityne Molėtų r. (Šlavinoje). Taip pat tirtuose 3 bitynuose Sakalinėje (Tauragės r.), buvusio vietinių bičių draustinio

teritorijoje, bičių šeimos gana gerai išlaikiusios *A. m. mellifera* porūšiui būdingus požymius. Aplinkiniuose rajonuose taip pat buvo aptikta tokių bitynų: 2 bitynai Jurbarko r. (Naujininkėliuose ir Paviščiovyje), po 1 bityną Raseinių r. (Pašešuvyje), Šakių r. (Raninėje), Kelmės r. (Kražiuose). Varėnos rajono miškingose teritorijose nustatyti 5 bitynai, kuriuose didžioji dalis tirtų bičių šeimų atitiko vietiniam porūšiui būdingus požymius: 1 bitynas – Kabeliuose, 4 bitynai – Musteikoje. Šalčininkų r. (Šiurkščiuose) ir Ignalinos r. (Bernotuose) aptikta po 1 bityną, kuriuose daugiau kaip 80 % bičių šeimų tiek genetiškai, tiek morfometriškai atitiko vietinę *A. m. mellifera* bitę.



20 pav. Bitynai, laikantys bičių šeimas genetiškai ir morfometriškai labiausiai atitinkančias *A. m. mellifera* porūšiui būdingas charakteristikas.

Apibendrinant rezultatus galima teigti, kad daugiausia bitynų, laikančių bičių šeimas genetiškai ir morfometriškai atitinkančias *A. m. mellifera* porūšiui būdingas charakteristikas, buvo miškingose Lietuvos teritorijose (Dainavos, Labanoro, Karšuvos giriose), daugiau rytinėje ir pietinėje šalies dalyje bei buvusio vietinių bičių draustinio teritorijoje ir aplinkiniuose rajonuose.

5. IŠVADOS

1. Porūšių atskyrimui geriausiai tinka genetiniai mtDNR žymenys tRNR-leu-CO2, CO1-5', CO1-3', CO2 ir CytB, kurie pasižymi dideliu kintamumu tiek tarp porūšių (t. y., tinkami vietinės bitės *Apis mellifera mellifera* porūšio atskyrimui nuo įvežtinių), tiek porūšio viduje (padeda atskirti ir charakterizuoti to paties porūšio populiacijas ar linijas). Žymenys D-loop ir sl-CSD pasižymi dar didesniu kintamumu, tad yra ypač tinkantys siekiant dar tiksliau charakterizuoti vietinio porūšio bičių Lietuvos populiacijos išlikusias motinines linijas. Šie molekuliniai žymenys galėtų būti naudojami ateityje, siekiant išsaugoti atkuriamos Lietuvos vietinių bičių populiacijos genetinę įvairovę. Kiti vertinti žymenys (ND2, ND5, 16S rRNR, ITS1, ITS2 ir 28S rRNR) vietinės populiacijos charakterizavimui ir atskyrimui nuo kitų porūšių ir to paties porūšio populiacijų (linijų) yra mažiau tinkami.

2. Vietinių *A. m. mellifera* bičių, laikytų Lietuvos bitynuose iki 1980 m., yra publikuotos 3 morfometrinės charakteristikos: liežuvėlio ilgis siekia 5,9–6,2 mm, kubitalinis indeksas lygus 51,65–64,00 % (pagal V. V. Alpatov (1948) metodiką) arba 1,81–1,90 (pagal G. Goetze (1940) metodiką), diskoidalinio taško padėtis – minusinė (apie 75,5 %). Šie rodikliai atitinka kitose Europos valstybėse aprašytus šiam porūšiui būdingus rodiklius.

3. Lietuvoje veisiamų įvežtinių bičių porūšių *A. m. carnica*, *A. m. caucasica* ir *A. m. x buckfast* morfometrinė analizė parodė šių bičių ženklų atitikimą porūšių standartams, tačiau gausiausiai veisiamos *A. m. carnica* bitės turi pastebimą morfometrinių požymių poslinkį link vietinio *A. m. mellifera* porūšio požymių. Genetinės analizės metu nustatyta, kad įvežtinių porūšių bičių motininių linijų genetinė įvairovė (išskyrus 1 *A. m. x buckfast* bičių šeimą) labai nedidelė ir filogenetiškai itin gerai atsiskiria nuo *A. m. mellifera* porūšio bičių.

4. Lietuvos natūralioje medunešės bitės populiacijoje, išlikusioje bitynuose, kuriuose bitininkaujama tradiciškai – gaudant spiečius ir nekeičiant motinų – ženkli dalis (45,3 %) motininių linijų priklauso vietinio medunešės bitės porūšio *A. m. mellifera* genofondui.

5. Vietinių motininių linijų dalis pasiskirsčiusi netolygiai. Daugiausia vietinių bičių genofondo išliko Karšuvos girios bičių populiacijoje (72,4 %) ir Labanoro-Molėtų populiacijoje (53,8 %). Ne mažiau nei 60 % vietinių bičių motininės linijos šeimų aptikta Ignalinos, Jurbarko, Kelmės, Tauragės, Šalčininkų ir Švenčionių rajonų bitynuose su laisvai besikryžminančiomis medunešėmis bitėmis.

6. Lietuvos laisvai besikryžminančių vietinių medunešių bičių populiacijai būdinga išlikusi pakankamai didelė genetinė įvairovė: aptikti 9 mtDNR CO1–CO2 intarpo haplotipai, iš kurių 6 nauji, iki šiol neaprašyti; 3 iš jų kol kas aptikti tik Lietuvos teritorijoje.

7. Didžiausia genetinė įvairovė (6 skirtingi motininių linijų CO1–CO2 intarpo haplotipai) aptikta Karšuvos girioje, kurioje buvo įsteigtas vietinių bičių draustinis, ir aplinkinėse teritorijose: Tauragės, Jurbarko, Raseinių rajonuose. Nustatyta, kad šiame regione gausiau aptinkamas Vakarų Europai būdingas haplotipas M4b, taip pat paplitęs ir Lenkijoje. Rytinės Lietuvos dalies vietinės medunešės bitės genetiškai skiriasi nuo Karšuvos girios bičių – Labanoro ir Dainavos giriose vyrauja kitas, iki šiol neaprašytas haplotipas, preliminariai pavadintas MLT1, kuris aptiktas ir Baltarusijoje, tačiau nerastas Vakarų Europoje ir Lenkijoje.

8. MLT1 haplotipas sudaro didžiąją Lietuvos laisvai besikryžminančių vietinių medunešių bičių populiacijos dalį (58 %). Jis galėtų būti pagrindu Lietuvos vietinių bičių populiacijos atkūrimui. Kiti retesni unikalūs Lietuvoje aptikti motininių linijų haplotipai (preliminariai pavadinti MLT3, MLT6, MLT7 ir MLT8) aptikti Karšuvos girios ir Molėtų rajono (Kamastos kraštovaizdžio draustinio) vietinių bičių populiacijose. Šie molekuliniai žymenys galėtų būti naudojami, ateityje išsaugant atkuriamos Lietuvos vietinių bičių populiacijos genetinę įvairovę.

9. Lietuvos laisvai besikryžminančių vietinių medunešių bičių populiacijoje aptikta 26 % bičių šeimų, kurių kubitalinis indeksas ir diskoidalinio taško minusinė padėtis visiškai atitiko iki 1970 m. nustatytą vietinėms bitėms būdingų rodiklių ribas. Apie 50 % bičių šeimų šie rodikliai atitiko 1984 m. vietinėms bitėms būdingus rodiklius.

10. Bičių darbininkių priekinių sparnų geometrinė morfometrinė analizė parodė, kad tik apie 13 % bičių šeimų atitiko Vakarų Europos *A. m. mellifera* porūšio standartinį mėginį, t. y., didžioji dalis vietinės bitės populiacijos Lietuvoje savo morfometrinėmis charakteristikomis skiriasi nuo Vakarų Europos vietinių bičių.

11. Daugiausia bitynų, laikančių bičių šeimas, kurios genetiškai ir morfometriškai atitinka arba yra labai artimos *A. m. mellifera* porūšio charakteristikoms, aptikti miškingose Lietuvos teritorijose (Dainavos, Labanoro, Karšuvos giriose), daugiau rytinėje ir pietinėje šalies dalyje bei buvusio vietinių bičių draustinio teritorijoje ir aplinkiniuose rajonuose: 5 bitynai – Varėnos r. (1 – Kabeliuose ir 4 – Musteikoje), 3 bitynai – Švenčionių r. (Januliškyje, Tetervinėje ir Žukaučyzoje), 3 bitynai – Tauragės r. (Sakalinėje), 2 bitynai – Jurbarko r. (Naujininkėliuose ir Paviščiovyje), po 1 bityną – Raseinių (Pašešuvyje), Šakių (Raninėje), Kelmės (Kražiuose), Šalčininkų (Šiurkščiuose), Ignalinos (Bernotuose) ir Molėtų (Šlavinoje) rajonuose.

12. Išlikusi Lietuvos vietinio porūšio medunešės bitės populiacija savo išlikusia santykinai didele genetinė įvairove, kurią didžiąja dalimi lemia ne introdukcija iš kitų populiacijų, o bičių plitimo po ledynmečio paleogeografinė istorija, yra vertinga kaip unikalus resursas selekciniam darbui ateityje.

6. REKOMENDACIJOS VIETINĖS *APIS MELLIFERA MELLIFERA* BITĖS IŠSAUGOJIMUI

Mūsų studija atskleidė, kad Lietuvos natūralioje medunešės bitės populiacijoje, išlikusioje bitynuose, kuriuose bitininkaujama tradiciškai, gaudant spiečius ir nekeičiant motinų, dar yra apie 45 % išlikusių motininių linijų, priklausančių vietinio medunešės bitės porūšio (*Apis mellifera mellifera*) genofondui, o iš jų 26 % bičių šeimų (Labanoro, Dainavos (Gudų) ir Karšuvos giriose) visiškai atitinka morfometrines charakteristikas, kurios buvo būdingos vietinėms bitėms iki 1970 metų. Visgi, dėl intensyviai vystomos bitininkystės, naujų bitininkavimo technologijų, vis daugiau įvežamų kitų produktyvesnių porūšių bičių, kyla grėsmė vietinės populiacijos išlikimui ir esamos bioįvairovės sunaikinimui. Vietinių bičių šeimos išsibarstę po atskirus bitynus, skirtingose vietovėse ir regionuose, dauguma jų turi nepageidaujamų požymių (agresyvumas, gausūs ir vėlyvi perai ir pan.), kurie atsirado dėl kryžminimosi su įvežtinėmis bitėmis. Dėl šių priežasčių dalis bitininkų pasiryžę keisti tokių šeimų motinas įvežtinėmis, o tai reiškia, kad vis daugiau vietinės bitės genofondo bus sunaikinama.

Norint išlaikyti vietinės bitės (*Apis mellifera mellifera*) populiacijos esamą genetinę įvairovę, ją stabilizuoti, būtina imtis priemonių.

Galimi du vietinės bitės populiacijos atkūrimo ir išsaugojimo scenarijai:

- 1) įsteigiant draustinį tinkamiausiose vietinio porūšio bitėms miškingose vietovėse (Karšuvos, Labanoro ar Dainavos giriose), kur šios bitės populiacijos apsauga būtų reglamentuoti teisės aktais;
- 2) pavienių ar grupės bitininkų iniciatyva įkuriant atskirus bitynus ar bitynų grupes, kuriuose atlikus bičių šeimų atitikimo vietinei bitei tyrimus, būtų bitininkams sudaromos galimybės bitės išlaikymui.

Rekomendaciniai sprendimai vietinės bitės populiacijos išlaikymui:

1. Bitininkų bendruomenės informavimas apie dabartinę vietinės bitės populiacijos būklę, jos svarbą ir kylančias grėsmes, *A. m. mellifera* porūšio bičių ypatybes ir privalumus, lyginant su atvežtiniais porūšiais.

2. Bitininkų bendruomenės apklausa, siekiant išsiaiškinti norinčius prisidėti prie vietinės bitės išsaugojimo, atrankos ir galbūt atkūrimo, atvežtinių bičių pakeitimą vietinėmis tose Lietuvos vietovėse ir gamtinėje aplinkoje, kur vietinės yra pranašesnės.

3. Subūrimas bitininkų iniciatyvinės grupės, kuri leis tarpusavyje dalintis informacija, keistis genetinė medžiaga.

4. Vietinę bitę nusprendusių laikyti bitininkų bityne turėtų būti atlikti visų bičių šeimų, taip pat ir aplinkinių bitynų (2,5 km spinduliu) genetiniai ir morfometriniai tyrimai. Esant galimybei, bitininkams turėtų būti skiriama parama iš bitininkystės rėmimo ar genetinių išteklių išsaugojimo programų genetiniams ir morfometriniais tyrimams atlikti.

5. Norintiems vykdyti atranką vietinės bitės požymių raiškos ir kitų savybių gerinimo kryptimi, aplink vietinių bičių bityną reikalinga 2,5 km spindulio buferinė zona, kurioje turėtų būti suregistruoti visi kiti bitynai ir atlikti laikomų bičių šeimų morfometriniai bei genetiniai tyrimai. Šios zonos bitynuose aptikus įvežtinių porūšių (C linijos) motinines linijas, bitininkai turėtų būti skatinami jas pakeisti į motinas, kilusias iš morfometriniais ir genetiniais požymiais geriausiai atitinkančių vietinę bitę šeimų. Buferinėje apsaugos zonoje turėtų būti maksimaliai ribojamas kitų porūšių bičių šeimų įvežimas motinų poravimosi metu. Pačiame bityne geriausiai vietinio porūšio bitės genetinius ir morfometrinius požymius atitinkančiose šeimose turėtų būti neribojamas tranų auginimas.

6. Bitininkų švietimas parengiant informacinius leidinius, rengiant seminarus, kuriuose vietinės bites norintys laikyti bitininkai galėtų mokytis vietinių *A. m. mellifera* bičių šeimų priežiūros ir galėtų patys vykdyti šeimų atranką pagal bičių morfologinius ir biologinius požymius. Kadangi į bityno teritoriją gali atskristi spiečiai, tranai iš bitynų esančių už buferinės zonos ribų, todėl bitininkai turėtų būti apmokomi kaip pastebėti kitų porūšių požymius šeimose (bičių pilvelio narelių spalvą, medaus dengimą, elgseną ir kitus *A. m. mellifera* būdingus požymius) ir skatinami atlikti šių šeimų genetinius tyrimus. Nustačius, kad šeimos motininė linija nepriklauso *A. m. mellifera* porūšiui, joje motina turi būti keičiama, o jei šeima turi maišytų požymių, jai turėtų būti neleidžiama auginti tranų, jie turi būti šalinami dar perų stadijoje, 3-4 kartus per sezoną. Tokiu būdu būtų siekama, kad aplink bityną gyventų tik vietinio porūšio bičių motinėlių ir vyrautų vietinio porūšio tranai.

7. Siekiant išlaikyti *A. m. mellifera* porūšio vietinių bičių populiaciją Lietuvoje, būtina skatinti bitininkus vykdyti jų atranką atsižvelgiant ir į biologines savybes, atsparumą ligoms, gerinant šių bičių produktyvumą ir mažinant spietlumą. Toliau vykdant atranką būtina atsižvelgti ir į jų higieninės elgsenos požymius.

8. Įvertinti sąlygų steigtis sertifikuotiems bitynams, veisiantiems vietinės bitės motinas, galimybes bei parengti sertifikavimo taisykles. Skatinti tokių sertifikuotų ir pagal nustatytas taisykles prižiūrimų vietinės bitės motinėlių veislynų steigimą, skiriant paramą už kiekvieną bičių šeimą.

9. Siekiant išvengti įvaisos, genų dreifo ir šeimų silpnėjimo, svarbu skatinti genetinės įvairovės išsaugojimą sertifikuotuose vietinės bitės bitynuose, pvz. skiriant nedidelę papildomą paramą už genetinę įvairovę pagal bityne laikomų šeimų CO1-CO2 intarpo, D-loop, sl-CSD ir kt. žymenų haplotipų skaičių.

10. Toliau vykdyti vietinių bičių genetinius tyrimus, siekiant įvertinti nevietinių bičių tėvinių linijų genų introgresiją vietinių pagal motinos liniją bičių šeimose ir parengti šeimų-mišrūnių nustatymo sertifikuotuose vietinės bitės bitynuose tikslesnę metodiką.

11. Ateityje skatinti specifinių vietinių bičių produktų (pvz. spygliuočių lipčiaus medaus) patekimą į rinką ir parengti sertifikavimo nuostatus tiekiantiems tokius produktus bitynams, kaip sertifikavimo sąlygą nurodant bičių motinų genetinę ir morfometrinę kontrolę.

PADĖKA

Dėkojame visiems bitininkams maloniai sutikusiems bendradarbiauti, aktyviai skambinusiems ir padėjusiems rinkti mėginius, taip pat dr. Algirdui Amšiejui už suteiktą galimybę palyginti vietines Lietuvos bites su Baltarusijos bitėmis ir habil. dr. Andrzej Oleksa už galimybę palyginti Lietuvos vietinių bičių genų sekas su Lenkijos vietinių bičių sekomis.

7. LITERATŪROS SĄRAŠAS

Adomaitis J. 2015. Lietuviškos bitės – tik prisiminimuose. „Kaimo laikraštis“ Nr. 52, 2015 m. gruodžio 23 – 2016 m. sausio 1 d.

Alpatov V.V. 1948. Porody medonosnoi pchely. Moskovskoje Obscestvo Ispytatielej Prirody, Moskva, pp. 168.

Balžekas J. A. 1990. Vietinių bičių išlaikymas. Lietuvos Žemės ūkio ministerija, Vilnius.

Balžekas J. A., Straigis J. 1978. Research on Lithuanian honey bee. Liet. Žemd. Moks. Tyr. Inst. Darbai 22: 60-66.

Bandelt H., Forster P., Röhl A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution. 16 (1): 37–48.

Borsuk G., Olszewski K. 2010. Morphometric traits of buckfast and caucasian bees. Journal of Apicultural Science, 54: 43-48.

Bouga M., Alaux C., Bienkowska M., Büchler R., Carreck N.L., Cauia E., Chlebo R., Dahle B., Dall'Olio R., De la Rúa P., Gregorc A., Ivanova E., Kence A., Kence M., Kezic N., Kiprijanovska H., Kozmus P., Kryger P., Le Conte Y., Lodesani M., Murilhas A.M., Siceanu A., Soland G., Uzunov A., Wilde J. 2011. A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping. Journal of Apicultural Research, 50: 51-84.

Cooper B.A. 1986. The honey bees of the British Isles. British Isles Bee Breeders Association; Derby, UK. 158 pp.

Cornuet J. M., Garnery L. 1991. Mitochondrial DNA variability in honeybees and its phylogeographic implications. Apidologie 22: 627.

Cushman D. A. 2007. Dave Cushman's Beekeeping Website. <http://www.dave-cushman.net/>

De la Rúa P., Galián J., Serrano J., Moritz R.F.A. 2001. Genetic structure and distinctness of *Apis mellifera* L. populations from the Canary Islands, Mol. Ecol. 10: 1733–1742.

De la Rúa P., Jaffe R., Dall'Olio R., Muñoz I., Serrano J. 2009. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. Apidologie 40: 263–284.

Filistowicz A., Martyniuk E. 2013. Animal genetic resources in Poland. The 1st International Scientific Conference Biotechnology of Farm Animals. Slovak Journal of Animal Science, 46: 121-126.

Garnery L., Solignac M., Celebrano G., Cornuet J.-M. 1993. A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. Experientia 49: 1016-1021.

Goetze G. 1940. Die beste Biene. Liedloft, Loth u. Michaelis, Leipzig.

Jensen A.B., Palmer K.A., Boomsma J.J., Pedersen B.V. 2005a. Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe, Mol. Ecol. 14: 93–106.

Jensen A.B., Palmer K.A., Chaline N., Raine N.E., Tofilski A., Martin S.J., Pedersen B.V., Boomsma J.J., Ratnieks F.L.W. 2005b. Quantifying honey bee mating range and isolation in semi-isolated valleys by DNA microsatellite paternity analysis. Conservation Genetics, 6: 527–537.

Madras-Majewska B., Skonieczna Ł. 2016. Ocena przynależności rasowej pszczół, pochodzących z pasiek usytuowanych na terenie puszczy Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Białymstoku. Wiadomości Zootechniczne, 54: 68-75.

Meixner M.D., Worobik M., Wilde J., Fuchs S., Koeniger N. 2007. *Apis mellifera mellifera* in eastern Europe – morphometric variation and determination of its range limits. Apidologie 38: 191-197.

Mizis A. P. 1976. External morphological characters of the Lithuanian honeybee and their correlative variability. Proc, Int. Symp. on Bee Genetics, Selection and Reproduction; Moscow, 153-156.

Nawrocka A., Kandemir İ., Fuchs S., Tofilski A. 2017. Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages. Apidologie 49(2): 172–184.

Oleksa A., Chybicki I., Tofilski A., Burczyk J. 2011. Nuclear and mitochondrial patterns of introgression into native dark bees (*Apis mellifera mellifera*) in Poland. Journal of Apicultural Research, 50: 116–129.

Pinto M. A., Henriques D., Chávez-Galarza J., Kryger P., Garnery L., van der Zee R., Dahle B., Soland-Reckeweg G., de la Rúa P., Dall’Olio R., Carreck N. L., Spencer Johnston J. 2014. Genetic integrity of the Dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) from protected populations: a genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data. Journal of Apicultural Research. 53 (2): 269–278.

Rortais A., Arnold G., Alburaki M., Legout H., Garnery L. 2011. Review of the DraI COI–COII test for the conservation of the black honeybee (*Apis mellifera mellifera*). Conservation Genetics Resources. 3 (2): 383–391.

Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J. C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S. E., Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP v6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets. Molecular Biology and Evolution. 34: 3299–3302.

Ruottinen L., Berg P., Kantanen J., Kristensen T.N., Præbel A. 2014. Status and Conservation of the Nordic Brown Bee: Final report. Published by the Nordic Genetic Resource Center. <https://www.nordgen.org>.

Ruttner F. 1988. Biogeography and Taxonomy of Honeybees, Springer Verlag, Berlin.

Ruttner F., Milner E., Dews J. E. 1990. The Dark European Honey Bee *Apis mellifera mellifera* Linnaeus 1758. British Isles Bee Breeders Association, p. 52.

Shemetkov M. F., Smirnova N. I., Kochevoj M. M. 1983. Sovety pchelovodu. "Uradzhaj", Minsk.

Straigis J. 1979. Rasinis Lietuvos TSR medunešių bičių tipiškumas. Acta entomologica Lituanica, 7 151-160.

Straigis J. 1987. APIS. Bitininkystės mokslinio būrelio mokslinis darbas. Žemės ūkio akademija.

Straigis J. 1998. Akademiko Jono Kriščiūno darbas bitininkystės labui. Augalininkystės ir bitininkystės dabartis ir ateitis. Mokslinių straipsnių rinkinys. P. 668-672.

Straigis J. 2002. Mėgėjiškoji bitininkystė. Margi raštai, Vilnius.

Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics. 12 (3) 585–595.

Thompson C. E. 2012. The health and status of the feral honeybee (*Apis mellifera* sp) and *Apis mellifera mellifera* population of the UK. The University of Leeds.

Woyke J. 1998. Differences in Body Colour Expression Between European and Asian Honeybees. Asian Bees and Beekeeping, Proceedings of Fourth Asian Apicultural Association International Conference, Katmandu, March 23-28, 1998, p. 20-23.

SUDERINTA:

(Tyrimų priežiūros komisijos pirmininkas)

(Vardas, Pavardė)

(Data)

8. PRIEDAI

1 priedas. Lietuvos bitynuose tirtų bičių šeimų genetinės ir morfometrinės analizės suvestinė.

*Morfometriškai atitinka *A. m. mellifera* – bičių šeimos, kurių kubitalinis indeksas atitiko iki 1970 metų aprašyto vietinėms bitėms būdingo rodiklio ribas ir diskoidalinio taško poslinkio dydis buvo ne mažesnis nei 20 %.

Bityno kodas	Rajonas	Gyvenvietė	Viso ištirta	Bičių šeimų skaičius		
				iš jų C linija pagal mtDNR	iš jų M linija pagal mtDNR	*morfometriškai atitinka <i>A. m. mellifera</i>
M	Alytaus	Davaniškės	2	2	0	0
ASS	Alytaus	Melnytėlė	3	2	1	0
DT	Alytaus	Užupiai	5	4	1	0
DL	Anykščių	Inkūnai	6	6	0	0
DJ	Anykščių	Lašiniai	9	7	2	1
LM	Anykščių	Lašiniai	7	6	1	1
MM	Anykščių	Mičionys	15	15	1	0
RR	Anykščių		6	6	0	0
DD1	Biržų		2	2	0	0
VLP	Biržų		1	1	0	0
VLŠ	Biržų		1	1	0	0
LBC	Ignalinos	Bernotai	7	0	7	6
VFIG	Ignalinos	Izabelinė	1	1	0	0
BMST	Ignalinos	Stripeikiai	2	2	0	0
BS05	Jurbarko	Klausučiai	17	2	15	7
MG	Jurbarko	Naujininkėliai	10	3	7	6
IB	Jurbarko	Paviščiovis	9	1	8	8
KGV	Jurbarko	Viešvilė	12	7	5	4
ŽŠ	Kaišiadorių	Kruonis	7	7	0	0
VŠ	Kelmės	Kražiai	2	0	2	2
AM	Lazdijų	Ūdiniai	3	3	0	0
ZIL1	Lazdijų	Žilvičiai	10	8	2	0
AV	Marijampolės	Marijampolė	1	1	0	0
EB	Molėtų	Biršiai	10	5	5	3
Apa	Molėtų	Šlavina	12	3	9	7
JG01	Molėtų	Vaičeliai	47	20	27	14
LAK	Molėtų	Lakaja	1	1	0	0
MAR	Panevėžio	Margiai	1	1	0	0
JS	Panevėžio		27	27	0	0
PLU	Plungės	Plateliai	7	6	1	0

AP	Radviliškio	Diktariškiai	7	7	0	0
VG	Raseinių	Pašešuvys	28	12	16	11
TR	Rokiškio	Treškūnai	20	9	11	5
VMJ	Šakių	Raninė	16	11	5	4
HP	Šalčininkų	Šiurkščiai	16	2	14	14
VAD	Šiaulių	Daržiškės	4	4	0	0
AG	Šiaulių	Pakarniai	6	3	3	2
AA	Šiaulių	Paliesiai	4	4	0	0
RB	Šiaulių	Žiogai	1	1	0	0
SS	Širvintų	Šventakalnis	1	1	0	0
JA	Švenčionių	Januliškis	4	2	2	2
KG	Švenčionių	Januliškis	2	1	1	0
SG	Švenčionių	Tetervinė	8	1	7	4
MZ	Švenčionių	Žukaučyzna	5	1	4	4
Taur	Tauragės	Girgždai	1	0	1	1
AP	Tauragės	Sakalinė	13	0	13	10
JT	Tauragės	Sakalinė	8	0	8	5
RD	Tauragės	Sakalinė	5	2	3	3
AKA	Trakų	Aukštadvaris	2	2	0	0
CES	Varėnos	Česukai	14	12	2	0
KAB	Varėnos	Kabeliai	9	0	9	7
KAT	Varėnos	Katra	2	1	1	1
JJM	Varėnos	Maceliai	5	4	1	1
KJ	Varėnos	Marcinkonys	5	4	1	1
RA	Varėnos	Margionys	4	3	1	1
VMC	Varėnos	Masališkės	6	6	0	0
KK	Varėnos	Musteika	1	1	0	0
MUS	Varėnos	Musteika	14	5	9	7
MusMM	Varėnos	Musteika	1	0	1	1
MusMS	Varėnos	Musteika	2	1	1	0
MusVR	Varėnos	Musteika	7	0	7	5
RZ	Varėnos	Musteika	1	0	1	1
JJP	Varėnos	Pamerkys	2	2	0	0
PUV	Varėnos	Puvočiai	16	9	7	5

2 priedas. Bičių šeimų, pagal mtDNR priklausančių *A. m. mellifera* porūšiui, morfometrinių analizės duomenys.

Kodas	Rajonas	Gyvenvietė	IdentiFly identifikuotas porūšis	Tikimybė	Vid. kubitalinis indeksas Goetze	Vid. kubitalinis indeksas Alpatov	Diskoidal. taškas (-) %
AG01	Šiaulių	Pakarniai	mellifera	0,0172186	1,814	56,799	10,00
AG03	Šiaulių	Pakarniai	ligustica	0,305833	2,234	47,385	0,00
AG04	Šiaulių	Pakarniai	mellifera	1,0328E-05	1,616	62,631	70,00
AP01	Tauragės	Sakalinė	mellifera	5,90046	1,734	58,552	41,70
AP01a	Molėtų	Šlavina	mellifera	0,182968	2,034	49,296	10,00
AP02	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,00024034	1,809	56,703	10,00
AP02a	Molėtų	Šlavina	mellifera	3,18328	1,792	56,624	41,70
AP03a	Molėtų	Šlavina	mellifera	0,00136152	1,630	61,802	83,30
AP04	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,011054	1,974	51,714	8,30
AP04a	Molėtų	Šlavina	mellifera	0,00039734	2,263	44,802	0,00
AP05	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,00351414	1,867	55,196	60,00
AP06a	Molėtų	Šlavina	mellifera	20,5229	1,707	59,359	75,00
AP08a	Molėtų	Šlavina	mellifera	1,50411	1,742	58,092	25,00
AP09a	Molėtų	Šlavina	mellifera	2,15425	1,789	56,245	30,00
AP10	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,00027791	1,674	60,434	58,30
AP10a	Molėtų	Šlavina	mellifera	2,13148	1,801	56,519	33,30
AP12a	Molėtų	Šlavina	mellifera	31,1525	1,924	52,554	60,00
AP13	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,198177	1,702	59,463	91,70
AP16	Tauragės	Sakalinė	mellifera	63,4773	1,650	60,969	8,30
AP18	Tauragės	Sakalinė	mellifera	2,461E-05	1,670	60,402	80,00
AP21	Tauragės	Sakalinė	mellifera	1,97326	2,022	49,773	20,00
AP22	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,0120505	1,796	56,257	16,70
APK20	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,00575147	2,096	49,561	33,30
APK-d	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,0445394	1,947	54,238	66,70
APK-sp	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,00438331	2,072	48,478	0,00
ASS2	Alytaus	Melnytėlė	Buckfast	0,00020874	2,500	41,010	0,00
BS05	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	0,0108838	1,998	50,321	44,40
BS06	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	0,279161	1,728	59,804	20,00
BS08	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	0,01974841	2,012	50,459	0,00
BS10	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	0,0915126	1,768	57,983	33,30
BS106	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	0,00028804	1,613	64,742	0,00
BS13	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	1,2992E-05	2,137	46,959	0,00
BS14	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	4,1693E-06	2,060	51,752	25,00
BS15	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	0,00991926	2,002	51,512	83,30
BS189	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	2,6222E-06	1,872	55,294	0,00
BS20	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	1,3563E-05	1,660	60,508	0,00
BS3-1	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	3,1465E-06	2,264	44,992	16,70
BS3-2	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	10,5779	1,794	55,989	12,50
BS-m	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	2,32991	1,567	66,255	25,00

BS-x	Jurbarko	Klausučiai	mellifera	5,9276E-05	1,977	51,267	14,30
CESn4	Varėnos	Česukai	mellifera	1,1697E-05	2,448	42,139	0,00
CESs1	Varėnos	Česukai	mellifera	0,00347523	2,008	50,438	12,50
DJ11	Anykščių	Lašiniai	mellifera	0,01194129	2,320	43,826	30,00
DJ12	Anykščių	Lašiniai	mellifera	1,8339E-06	1,786	56,893	11,10
DT7	Alytaus	Užupiai	mellifera	2,4079E-05	2,666	37,904	0,00
EB08	Molėtų	Biršiai	mellifera	15,8866	1,685	62,989	40,00
EB20	Molėtų	Biršiai	mellifera	0,00036119	2,314	43,448	0,00
EB25	Molėtų	Biršiai	mellifera	0,0011358	1,812	55,602	50,00
EB26	Molėtų	Biršiai	mellifera	9,64705	1,826	57,089	70,00
EB29	Molėtų	Biršiai	mellifera	0,0012926	2,212	46,529	50,00
HP02	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	2,03867	1,519	67,050	75,00
HP04	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	0,00446639	1,584	65,336	37,50
HP05	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	0,00146737	1,534	66,413	50,00
HP06	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	4,98768	1,775	57,827	42,90
HP07	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	7,61465	1,544	65,997	75,00
HP08a	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	0,476832	1,758	59,413	37,50
HP08b	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	6,3541E-05	1,535	67,754	25,00
HP13	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	0,0276607	1,491	67,326	83,30
HP15	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	34,9441	1,445	70,003	20,00
HP17	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	5,9569E-05	1,492	67,196	33,30
HP18	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	7,8932E-06	1,718	59,406	42,90
HP19	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	0,00215087	1,664	60,443	100,00
HP21	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	2,80747	1,549	64,936	25,00
HP24	Šalčininkų	Šiurkščiai	mellifera	0,163208	1,711	58,888	50,00
IB02	Jurbarko	Paviščiovio	mellifera	7,1552	1,732	58,447	25,00
IB08	Jurbarko	Paviščiovio	mellifera	7,94462	1,775	56,631	85,70
IB09	Jurbarko	Paviščiovio	mellifera	2,452E-07	1,728	58,884	50,00
IB13	Jurbarko	Paviščiovio	mellifera	0,0283537	1,776	57,431	20,00
IB16	Jurbarko	Paviščiovio	Buckfast	9,3927E-08	1,846	55,005	43,80
IB18	Jurbarko	Paviščiovio	mellifera	0,208464	1,567	65,142	70,00
IB22	Jurbarko	Paviščiovio	mellifera	0,393039	1,727	60,387	25,00
IB23	Jurbarko	Paviščiovio	mellifera	5,70447	1,687	59,674	75,00
JA02	Švenčionių	Januliškis	mellifera	1,1001E-05	1,757	57,725	60,00
JA04	Švenčionių	Januliškis	mellifera	3,03778	1,897	53,277	28,60
JG02	Molėtų	Vaičiai	mellifera	3,2734E-09	2,063	49,100	0,00
JG03	Molėtų	Vaičiai	mellifera	0,227291	1,796	56,700	50,00
JG04	Molėtų	Vaičiai	mellifera	0,677334	1,941	51,974	40,00
JG07	Molėtų	Vaičiai	Buckfast	0,0844021	2,500	42,545	10,00
JG09	Molėtų	Vaičiai	mellifera	9,7183E-05	1,635	61,449	0,00
JG10	Molėtų	Vaičiai	mellifera	8,0266	1,731	58,982	0,00
JG11	Molėtų	Vaičiai	mellifera	0,0419526	1,580	63,688	50,00
JG14	Molėtų	Vaičiai	mellifera	13,2258	1,857	55,057	33,30
JG15	Molėtų	Vaičiai	mellifera	0,0513788	1,618	62,546	66,70
JG17	Molėtų	Vaičiai	Buckfast	0,0009588	1,847	54,781	8,30

JG25	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,00404449	1,675	60,181	0,00
JG27	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,00145982	2,012	50,203	33,30
JG28	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,00023183	1,686	60,152	40,00
JG29	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	4,0205	1,987	51,102	16,70
JG31	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	9,6744E-05	1,928	52,282	0,00
JG33	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,433318	1,886	53,333	0,00
JG35	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,00387768	1,902	52,909	8,30
JG39	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,118365	1,956	52,676	0,00
JG40	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,00385726	2,123	47,405	0,00
JG47	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	1,74804	1,654	61,652	83,30
JG48	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,00036926	2,225	45,391	0,00
JG49	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,00035933	2,023	50,112	33,30
JG50	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,0636127	1,945	51,850	20,00
JG51	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,115348	1,692	60,214	20,00
JG52	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,0675099	1,558	65,144	41,70
JG53	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,112822	1,719	59,479	40,00
JG54	Molėtų	Vaičeliai	mellifera	0,0168592	2,003	50,264	30,00
JJM28	Varėnos	Maceliai	mellifera	0,643919	1,749	57,684	38,70
JT01	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,0443565	1,877	54,366	0,00
JT03	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,00046166	1,959	52,303	50,00
JT06	Tauragės	Sakalinė	Buckfast	5,5115E-07	1,843	55,640	25,00
JT08	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,717877	1,788	56,545	33,30
JT09	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,00450461	2,154	47,241	0,00
JT10	Tauragės	Sakalinė	mellifera	3,61513	1,724	58,262	12,50
JT14	Tauragės	Sakalinė	mellifera	1,17091	1,686	60,424	75,00
JT16	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,043888	1,828	55,399	0,00
KAB05	Varėnos	Kabeliai	mellifera	16,6449	2,023	50,936	0,00
KAB14	Varėnos	Kabeliai	mellifera	0,00846159	1,860	54,423	30,00
KAB17	Varėnos	Kabeliai	mellifera	28,6662	1,870	54,666	0,00
KAB19	Varėnos	Kabeliai	mellifera	21,9903	1,699	59,606	8,30
KAB20	Varėnos	Kabeliai	mellifera	4,7436	1,639	61,762	8,30
KAB32	Varėnos	Kabeliai	mellifera	35,7326	1,732	58,948	37,50
KAB33	Varėnos	Kabeliai	mellifera	1,67262	1,730	58,365	75,00
KAB40	Varėnos	Kabeliai	mellifera	4,27333	1,833	55,463	25,00
KAB41	Varėnos	Kabeliai	mellifera	69,9583	1,814	55,835	25,00
KAT02	Varėnos	Katra	mellifera	71,7179	1,722	58,579	40,00
KG02	Švenčionių	Januliškis	mellifera	3,2351E-08	2,048	50,124	10,00
KGV02	Jurbarko	Viešvilė	mellifera	0,0815538	1,794	56,316	25,00
KGV06	Jurbarko	Viešvilė	mellifera	23,8153	1,874	54,367	50,00
KGV08	Jurbarko	Viešvilė	mellifera	1,37886	1,970	50,954	70,00
KGV-y	Jurbarko	Viešvilė	mellifera	0,00859036	1,772	57,652	33,30
KGV-r	Jurbarko	Viešvilė	ligustica	0,0281508	2,156	46,986	20,00
KJ05	Varėnos	Marcinkonys	mellifera	1,22381	1,758	57,337	33,30
LBC-01	Ignalinos	Bernotai	mellifera	1,2732E-06	1,974	51,347	10,00
LBC-02	Ignalinos	Bernotai	mellifera	0,0169688	1,824	55,685	50,00

LBC-03	Ignalinos	Bernotai	mellifera	1,12515	1,953	53,422	41,70
LBC-04	Ignalinos	Bernotai	mellifera	9,82217	1,854	55,727	50,00
LBC-05	Ignalinos	Bernotai	mellifera	0,00227069	2,082	50,827	50,00
LBC-06	Ignalinos	Bernotai	mellifera	0,00106721	1,832	54,746	40,00
LBC-07	Ignalinos	Bernotai	mellifera	1,00076	1,797	56,171	50,00
LM02	Anykščių	Lašiniai	mellifera	0,00026925	1,980	51,330	60,00
MG01	Jurbarko	Naujininkėliai	mellifera	0,00102607	1,905	52,935	50,00
MG02	Jurbarko	Naujininkėliai	mellifera	0,0551839	1,699	60,159	60,00
MG09	Jurbarko	Naujininkėliai	mellifera	27,9174	1,818	55,554	11,10
MG17	Jurbarko	Naujininkėliai	mellifera	0,0127401	1,631	61,759	71,40
MG19	Jurbarko	Naujininkėliai	mellifera	4,55433	1,979	50,874	22,20
MG23	Jurbarko	Naujininkėliai	mellifera	1,32125	1,605	63,633	91,70
MG-x	Jurbarko	Naujininkėliai	carnica	0,02159081	2,498	41,166	0,00
MM05	Anykščių	Mičionys	mellifera	8,3666E-13	2,021	50,579	22,20
MUS01	Varėnos	Musteika	mellifera	16,5539	2,024	50,693	10,00
MUS02	Varėnos	Musteika	mellifera	7,7102E-08	1,682	61,613	100,00
MUS03	Varėnos	Musteika	mellifera	0,260077	1,667	61,416	35,70
MUS04	Varėnos	Musteika	mellifera	10,4882	1,609	62,811	25,00
MUS05	Varėnos	Musteika	mellifera	0,00080133	1,750	57,377	91,70
MUS06	Varėnos	Musteika	mellifera	0,134452	1,737	58,748	66,70
MUS07	Varėnos	Musteika	mellifera	0,811807	1,673	60,680	41,70
MUS08	Varėnos	Musteika	mellifera	4,36733	1,974	51,371	0,00
MUS10	Varėnos	Musteika	mellifera	0,994677	1,512	66,809	30,00
MusMM01	Varėnos	Musteika	mellifera	5,54779	1,520	66,844	7,10
MusMS02	Varėnos	Musteika	mellifera	0,00234267	1,810	55,904	0,00
MusVR01	Varėnos	Musteika	mellifera	0,0925663	2,093	48,258	0,00
MusVR03	Varėnos	Musteika	mellifera	0,0272574	1,666	60,795	25,00
MusVR04	Varėnos	Musteika	mellifera	0,0587235	1,909	53,374	0,00
MusVR05	Varėnos	Musteika	mellifera	0,657811	1,516	66,244	40,00
MusVR06	Varėnos	Musteika	mellifera	0,0204276	1,884	54,120	25,00
MusVR07	Varėnos	Musteika	mellifera	8,13689	1,796	56,703	16,70
MusVR08	Varėnos	Musteika	mellifera	53,0067	1,814	56,956	66,70
MZ02	Švenčionių	Žukaučyzna	mellifera	17,2923	1,785	58,750	25,00
MZ04	Švenčionių	Žukaučyzna	mellifera	0,121985	1,766	57,944	12,50
MZ06	Švenčionių	Žukaučyzna	mellifera	18,7766	1,787	56,162	20,00
MZ07	Švenčionių	Žukaučyzna	mellifera	3,1241E-05	1,758	57,883	16,70
PLU-33	Plungės	Plateliai	mellifera	6,4149E-06	2,108	48,432	50,00
PUV06	Varėnos	Puvočiai	mellifera	0,111567	1,732	58,036	30,00
PUV08	Varėnos	Puvočiai	mellifera	0,783697	1,977	51,565	0,00
PUV09	Varėnos	Puvočiai	mellifera	36,7074	1,898	53,464	60,00
PUV10	Varėnos	Puvočiai	mellifera	0,0648516	1,436	70,334	0,00
PUV11	Varėnos	Puvočiai	mellifera	17,2136	1,643	61,556	70,00
PUV13	Varėnos	Puvočiai	mellifera	2,23659	1,734	59,002	66,70
PUV20	Varėnos	Puvočiai	mellifera	45,4068	1,805	55,679	10,00
RA04	Varėnos	Margionys	mellifera	0,161416	1,926	53,153	33,30

RD04	Tauragės	Sakalinė	mellifera	1,9469E-06	1,800	56,382	100,00
RD06	Tauragės	Sakalinė	mellifera	0,00043773	1,712	58,873	41,70
RDm	Tauragės	Sakalinė	mellifera	9,6846E-08	1,935	52,099	90,00
RZ1	Varėnos	Musteika	mellifera	1,89104	1,880	53,914	16,70
SG01	Švenčionių	Tetervinė	mellifera	0,308335	2,292	44,376	8,30
SG02	Švenčionių	Tetervinė	mellifera	0,219107	1,626	61,923	50,00
SG03	Švenčionių	Tetervinė	mellifera	1,92313	1,921	52,797	37,50
SG04	Švenčionių	Tetervinė	mellifera	12,5473	1,803	56,712	10,00
SG05	Švenčionių	Tetervinė	mellifera	0,00085517	2,028	50,480	37,50
SG06	Švenčionių	Tetervinė	mellifera	0,00010799	2,001	50,517	40,00
SG-A	Švenčionių	Tetervinė	mellifera	0,00081372	1,863	55,154	30,00
Taur3	Tauragės	Girgždai	mellifera	18,3955	1,679	60,315	25,00
TR-03	Rokiškio	Treškūnai	mellifera	0,00254475	1,888	54,576	33,30
TR-04	Rokiškio	Treškūnai	mellifera	0,00081281	1,756	59,208	10,00
TR-07	Rokiškio	Treškūnai	ligustica	3,0255E-05	1,653	61,758	0,00
TR-10	Rokiškio	Treškūnai	Buckfast	0,0209491	2,086	48,029	0,00
TR-11	Rokiškio	Treškūnai	ligustica	0,00013653	2,398	42,222	0,00
TR-12	Rokiškio	Treškūnai	ligustica	5,7958E-09	1,703	58,875	0,00
TR-15	Rokiškio	Treškūnai	ligustica	0,00378674	1,939	52,162	25,00
TR-17	Rokiškio	Treškūnai	mellifera	7,6065E-05	1,956	51,549	0,00
TR-18	Rokiškio	Treškūnai	mellifera	4,1545E-05	1,861	54,752	0,00
TR-20	Rokiškio	Treškūnai	mellifera	0,00023069	1,696	59,632	12,50
TR-21	Rokiškio	Treškūnai	mellifera	0,0232558	1,661	60,902	40,00
VG01	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	0,213788	1,879	54,150	20,00
VG02	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	1,62029	2,278	44,283	0,00
VG04	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	8,30871	1,909	53,248	100,00
VG06	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	2,40454	1,872	53,869	40,00
VG12	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	8,48263	1,987	51,797	8,30
VG13	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	0,00042216	1,906	52,494	66,70
VG14	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	0,682482	1,980	52,352	60,00
VG15	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	0,0756535	1,906	53,463	25,00
VG16	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	35,5272	1,885	53,630	10,00
VG19	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	0,0346401	1,946	52,248	50,00
VG23	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	1,74192	2,139	48,063	35,70
VG25	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	2,65175	1,769	57,165	20,00
VG28	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	7,02736	2,073	48,707	8,30
VG29	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	7,8638E-07	2,192	46,570	33,30
VG30	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	4,42556	1,902	53,552	35,70
VG34 (32)	Raseinių	Pašešuvys	mellifera	38,2137	2,167	47,193	21,40
VMJ12	Šakių	Raninė	Buckfast	8,0526E-05	1,779	56,655	0,00
VMJ13	Šakių	Raninė	mellifera	2,40466	1,698	59,700	40,00
VMJ17-2	Šakių	Raninė	mellifera	3,72075	1,802	56,034	62,50
VMJ4-1	Šakių	Raninė	mellifera	1,6024E-05	1,871	53,706	37,50
VMJsp	Šakių	Raninė	mellifera	19,5209	1,860	54,465	31,80
VŠ10	Kelmės	Kražiai	mellifera	28,2575	1,694	60,070	42,90

VŠ16	Kelmės	Kražiai	mellifera	46,7994	1,698	59,824	10,00
ZIL2	Lazdijų	Žilvičiai	ligustica	8,5387E-07	2,137	46,887	37,50
ZIL4	Lazdijų	Žilvičiai	mellifera	0,00024391	1,927	52,100	0,00

3 priedas. Mokslinės publikacijos ir viešinimas

MOKSLINIS STRAIPSNIS

Budrys E., Skrodenytė-Arbačiauskienė V., Orlovskytė S., Blažytė-Čereškienė L. Morphometric and genetic characterization of Lithuanian honey bee (*Apis mellifera mellifera*) population. Journal of Apicultural Research. Rengiamas.

PROJEKTO REZULTATŲ VIEŠINIMAS

1. Blažytė-Čereškienė L. 2018. Vidurio Europos tamsioji medų nešanti bitė, *Apis mellifera mellifera* – vietinė Lietuvos bitė, kurią turėtume išsaugoti. Lietuvos bitininkas. Nr. 1 p. 24-27
2. Blažytė-Čereškienė L. 2018. Vidurio Europos tamsioji bitė (*Apis mellifera mellifera*) – vietinė Lietuvos bitė: situacija šiandien. Paskaita/seminaras. 11-oji tarptautinė miško, medžioklės ir gyvulininkystės technologijų paroda „Sprendimų ratas 2018“, rugsėjo 27-29 d., Aleksandro Stulginskio universitetas, Kaunas.
3. Blažytė-Čereškienė L. 2019. Vietinė Lietuvos bitė (*Apis mellifera mellifera*): situacija šiandien. Paskaita/seminaras. 2019 m., sausio 26 d., Ignalinos r. bitininkų draugija “Austėja”, Ignalina.
4. Blažytė-Čereškienė L. 2019. Vietinė Lietuvos bitė (*Apis mellifera mellifera*): situacija šiandien. Paskaita/seminaras. 2019 m., vasario 23 d., Vilniaus bitininkų susivienijimas, Vilnius.
5. Blažytė-Čereškienė L. 2019. Vidurio Europos tamsioji bitė, *Apis mellifera mellifera*: išsaugojimo patirtis kitose šalyse. Lietuvos bitininkas. Nr. 96 p. 16-20.